

【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22年4月15日(2010.4.15)

【公表番号】特表2009-538125(P2009-538125A)

【公表日】平成21年11月5日(2009.11.5)

【年通号数】公開・登録公報2009-044

【出願番号】特願2009-511576(P2009-511576)

【国際特許分類】

C 12 Q 1/68 (2006.01)

C 12 N 15/09 (2006.01)

【F I】

C 12 Q 1/68 Z N A A

C 12 N 15/00 A

【手続補正書】

【提出日】平成22年2月23日(2010.2.23)

【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】

試料中のマイコプラズマ・ジェニタリウム核酸の検出方法であって：

(i) 配列番号1のフラグメントを含む核酸配列を増幅させる工程であって、該配列番号1のフラグメントが、配列番号1の少なくとも25個連続したヌクレオチドである、工程、および

(ii) 該増幅した核酸配列を検出する工程、
を含む、方法。

【請求項2】

前記増幅工程が、前記試料とフォワードオリゴヌクレオチドプライマーおよびリバースオリゴヌクレオチドプライマーとを接触させる工程を含み、該プライマーが、マイコプラズマ・ジェニタリウム核酸中の標的部位と、前記配列番号1のフラグメントを含む前記核酸配列の増幅を促進するのに適切な条件下で結合する、請求項1に記載の方法。

【請求項3】

前記フォワードオリゴヌクレオチドプライマーおよびリバースオリゴヌクレオチドプライマーが、少なくとも5個のヌクレオチド長、好ましくは少なくとも10個のヌクレオチド長、より好ましくは少なくとも20個のヌクレオチド長であり、そして、好ましくは50個以下のヌクレオチド長、より好ましくは40個以下のヌクレオチド長、最も好ましくは30個以下のヌクレオチド長である、請求項2に記載の方法。

【請求項4】

前記検出工程が、

(i) 前記増幅した核酸配列とプローブとを接触させる工程であって、該プローブが、該増幅した核酸配列またはその相補体内の標的部位と結合する、工程；および

(ii) 該プローブと該増幅した核酸配列との結合を検出する工程、
を含む、請求項1から3のいずれかに記載の方法。

【請求項5】

前記プローブ標的部位が、

(a) 配列番号1またはその相補体のヌクレオチド残基50～100から；

(b) 配列番号 1 またはその相補体のヌクレオチド残基 1 から、ヌクレオチド残基 4 4 7、4 4 0、4 2 0、4 0 0、3 5 0、3 0 0、2 5 0、2 0 0、1 5 0、1 0 0 または 5 0 まで；または

(c) 配列番号 1 またはその相補体のヌクレオチド残基 1 0、1 5、2 5、5 0、7 5、1 0 0、1 5 0、2 0 0、2 5 0、3 0 0、3 5 0 または 4 0 0 から、配列番号 1 またはその相補体のヌクレオチド残基 4 4 7 まで；

(d) 配列番号 1 またはその相補体のヌクレオチド残基 1 0、1 5 または 2 5 から、ヌクレオチド 5 0、1 0 0 または 1 5 0 まで；

(e) 配列番号 1 またはその相補体のヌクレオチド残基 5 0、7 5 または 1 0 0 から、ヌクレオチド 1 5 0、2 0 0 または 2 5 0 まで；

(f) 配列番号 1 またはその相補体のヌクレオチド残基 1 5 0 または 2 0 0 から、ヌクレオチド 3 0 0 または 3 5 0 まで；

(g) 配列番号 1 またはその相補体のヌクレオチド 2 5 0 または 3 0 0 から、ヌクレオチド 3 5 0 または 4 0 0 まで、

に位置する、請求項4に記載の方法。

【請求項 6】

試料中のマイコプラズマ・ジェニタリウム核酸を検出する方法であって：

(i) 該試料とオリゴヌクレオチドプローブとを接触させる工程であって、該プローブが、配列番号 1 またはその相補体内の標的部位と結合する、工程；および

(i i) 該プローブと該標的部位との結合を検出する工程、
を含み、該標的部位が、

(a) 配列番号 1 またはその相補体のヌクレオチド残基 5 0 ~ 1 0 0 から；

(b) 配列番号 1 またはその相補体のヌクレオチド残基 1 から、ヌクレオチド残基 4 4 7、4 4 0、4 2 0、4 0 0、3 5 0、3 0 0、2 5 0、2 0 0、1 5 0、1 0 0 または 5 0 まで；または

(c) 配列番号 1 またはその相補体のヌクレオチド残基 1 0、1 5、2 5、5 0、7 5、1 0 0、1 5 0、2 0 0、2 5 0、3 0 0、3 5 0 または 4 0 0 から、配列番号 1 またはその相補体のヌクレオチド残基 4 4 7 まで；

(d) 配列番号 1 またはその相補体のヌクレオチド残基 1 0、1 5 または 2 5 から、ヌクレオチド 5 0、1 0 0 または 1 5 0 まで；

(e) 配列番号 1 またはその相補体のヌクレオチド残基 5 0、7 5 または 1 0 0 から、ヌクレオチド 1 5 0、2 0 0 または 2 5 0 まで；

(f) 配列番号 1 またはその相補体のヌクレオチド残基 1 5 0 または 2 0 0 から、ヌクレオチド 3 0 0 または 3 5 0 まで；

(g) 配列番号 1 またはその相補体のヌクレオチド 2 5 0 または 3 0 0 から、ヌクレオチド 3 5 0 または 4 0 0 まで、

に位置する、

方法。

【請求項 7】

前記プローブが、配列番号 1 と相補的な核酸鎖のヌクレオチド残基 5 0 から 1 0 0 までの、好ましくは配列番号 1 と相補的な核酸鎖のヌクレオチド残基 6 0 から 8 5 までの、より好ましくは配列番号 1 と相補的な核酸鎖のヌクレオチド 6 6 から 8 2 までの標的部位と結合する、請求項5または6に記載の方法。

【請求項 8】

前記プローブが、少なくとも 1 5 個のヌクレオチド長であり、そして 5 0 個までのヌクレオチド長、好ましくは 4 0 個までのヌクレオチド長、より好ましくは 3 0 個までのヌクレオチド長である、請求項4から7のいずれかに記載の方法。

【請求項 9】

前記プローブが、配列番号 3 の核酸配列、または少なくとも 1 5 個のヌクレオチドを有するそのフラグメント、またはそれと少なくとも 7 5 % の配列同一性を有するその変異体

を含む（および好ましくはからなる）、請求項8に記載の方法。

【請求項 1 0】

目的の試料中のマイコプラズマ・ジェニタリウム病原体負荷のインビトロでの定量方法であって、

(a) 該目的の試料で、請求項 1 から9のいずれかに記載の方法を実施する工程；および

(b) 所定の既知のマイコプラズマ・ジェニタリウム病原体負荷の試験試料で、請求項 1 から9のいずれかに記載の方法を実施する工程；および

(c) 該目的の試料から検出されたシグナルを、該試験試料から検出されたシグナルと比較する工程；

を含み、そしてそれによって、該目的の試料中のマイコプラズマ・ジェニタリウム病原体負荷を定量する、

方法。

【請求項 1 1】

薬物治療期間の経過にわたる薬物効果のインビトロでの決定方法であって、

(a) 該薬物治療期間内または前の最初の時点に得た第 1 の試料で、請求項 1 から9のいずれかに記載の方法を実施する工程；

(b) 該薬物治療期間内の 1 以上の後の時点の試料で、請求項 1 から9のいずれかに記載の方法を実施する工程；および

(c) 該第 1 の試料から検出されたシグナルを、該 1 以上の後の試料から検出されたシグナルと比較する工程；

を含み、そしてそれによって、該薬物治療期間の経過にわたる薬物効果を決定する、方法。

【請求項 1 2】

マイコプラズマ・ジェニタリウムの薬物に対する耐性の発達のインビトロでの検出および／またはモニタリング方法であって、

(a) 該マイコプラズマ・ジェニタリウムの該薬物への曝露の間またはその前の最初の時点に得た第 1 の試料で、請求項 1 から9のいずれかに記載の方法を実施する工程；

(b) 該マイコプラズマ・ジェニタリウムの該薬物への曝露後の 1 以上の後の時点の試料で、請求項 1 から9のいずれかに記載の方法を実施する工程；および

(c) 該第 1 の試料から検出されたシグナルを、該 1 以上の後の試料から検出されたシグナルと比較する工程；

を含み、該シグナルの減少がないことまたは該シグナルの増加が、該マイコプラズマ・ジェニタリウムが該薬物に対する耐性を発達させたことを示す、

方法。

【請求項 1 3】

前記いずれかの請求項に記載の方法で用いるオリゴヌクレオチドプローブであって、1 5 から 2 5 ヌクレオチド長であり、そして、

(a) 配列番号 1 またはその相補体のヌクレオチド残基 5 0 ~ 1 0 0 から；

(b) 配列番号 1 またはその相補体のヌクレオチド残基 1 から、ヌクレオチド残基 4 4 7 、 4 4 0 、 4 2 0 、 4 0 0 、 3 5 0 、 3 0 0 、 2 5 0 、 2 0 0 、 1 5 0 、 1 0 0 または 5 0 まで；

(c) 配列番号 1 またはその相補体のヌクレオチド残基 1 0 、 1 5 、 2 5 、 5 0 、 7 5 、 1 0 0 、 1 5 0 、 2 0 0 、 2 5 0 、 3 0 0 、 3 5 0 または 4 0 0 から、配列番号 1 またはその相補体のヌクレオチド残基 4 4 7 まで；

(d) 配列番号 1 またはその相補体のヌクレオチド残基 1 0 、 1 5 または 2 5 から、ヌクレオチド 5 0 、 1 0 0 または 1 5 0 まで；

(e) 配列番号 1 またはその相補体のヌクレオチド残基 5 0 、 7 5 または 1 0 0 から、ヌクレオチド 1 5 0 、 2 0 0 または 2 5 0 まで；

(f) 配列番号 1 またはその相補体のヌクレオチド残基 1 5 0 または 2 0 0 から、ヌク

レオチド 300 または 350 まで；

(g) 配列番号 1 またはその相補体のヌクレオチド 250 または 300 から、ヌクレオチド 350 または 400 まで、

に位置する標的配列と結合する、プローブ。

【請求項 14】

請求項 1 から 12 のいずれかに記載の方法で用いるオリゴヌクレオチドプローブであって、

(a) 該プローブが、配列番号 3 の核酸配列、またはそれと少なくとも 95 % の配列同一性を有するその変異体を含むか；または

(b) 該プローブが、配列番号 3 の核酸配列、または少なくとも 15 個連続したヌクレオチドを有するそのフラグメント、またはそれと少なくとも 75 % の配列同一性を有するその変異体からなる、

プローブ。

【請求項 15】

請求項 1 から 12 のいずれかに記載の方法で用いるフォワードプライマーであって、該フォワードプライマーが、15 ~ 60 ヌクレオチド長であり、そして、マイコプラズマ・ジェニタリウムアクセッション番号 NC_000908 の完全ゲノムを参照して、配列番号 1 と相補的な核酸鎖のヌクレオチド -80 から +450 の間に位置する標的部位と結合する、フォワードプライマー。

【請求項 16】

請求項 1 から 12 のいずれかに記載の方法で用いるフォワードプライマーであって、該フォワードプライマーが、

(a) マイコプラズマ・ジェニタリウムアクセッション番号 NC_000908 の完全ゲノムを参照して、配列番号 1 と相補的な核酸鎖のヌクレオチド -80 から -10 まで；

(b) 配列番号 1 と相補的な核酸鎖のヌクレオチド 25 から 100 まで；または

(c) マイコプラズマ・ジェニタリウムアクセッション番号 NC_000908 の完全ゲノムを参照して、配列番号 1 と相補的な核酸鎖のヌクレオチド 151 から +450 まで、の間に位置する標的部位と結合する、フォワードプライマー。

【請求項 17】

請求項 1 から 12 のいずれかに記載の方法で用いるフォワードプライマーであって、該フォワードプライマーが、

(a) 配列番号 9、10、11、12、14、15、16、17、18、19 または 31、またはそのフラグメント、またはそれと少なくとも 75 % の配列同一性を有するその変異体；

(b) 配列番号 4 または 8、または少なくとも 20 個連続したそのヌクレオチドを有するそのフラグメント、またはそれと少なくとも 75 % の配列同一性を有するその変異体；

(c) 配列番号 13、または少なくとも 30 個連続したそのヌクレオチドを有するそのフラグメント、またはそれと少なくとも 75 % の配列同一性を有するその変異体、から選択される核酸配列を含む、フォワードプライマー。

【請求項 18】

請求項 1 から 12 のいずれかに記載の方法で用いるリバースプライマーであって、該リバースプライマーが、15 ~ 60 ヌクレオチド長であり、そして、

(a) マイコプラズマ・ジェニタリウムアクセッション番号 NC_000908 の完全ゲノムを参照して、配列番号 1 のヌクレオチド残基 -5 から 247 まで；または

(b) マイコプラズマ・ジェニタリウムアクセッション番号 NC_000908 の完全ゲノムを参照して、配列番号 1 のヌクレオチド残基 298 から +525 まで、の間に位置する標的部位と結合する、リバースプライマー。

【請求項 19】

請求項 1 から 12 のいずれかに記載の方法で用いるリバースプライマーであって、該リバースプライマーが、

(a) マイコプラズマ・ジェニタリウムアクセッション番号NC_000908の完全ゲノムを参照して、配列番号1のヌクレオチド残基-5から197まで；または

(b) マイコプラズマ・ジェニタリウムアクセッション番号NC_000908の完全ゲノムを参照して、配列番号1のヌクレオチド残基298から+525まで、の間に位置する標的部位と結合する、リバースプライマー。

【請求項20】

請求項1から12のいずれかに記載の方法で用いるリバースプライマーであって、該リバースプライマーが、

(a) 配列番号20、21、22、23、24、26、27、29または30、またはそのフラグメント、またはそれと少なくとも75%の配列同一性を有するその変異体；

(b) 配列番号25、または少なくとも30個連続したそのヌクレオチドを有するそのフラグメント、またはそれと少なくとも75%の配列同一性を有するその変異体；または

(c) 配列番号5、または少なくとも20個連続したそのヌクレオチドを有するそのフラグメント、またはそれと少なくとも75%の配列同一性を有するその変異体、から選択される核酸配列を含む、リバースプライマー。

【請求項21】

請求項15から17のいずれかに記載のフォワードプライマーおよび請求項18から20のいずれかに記載のリバースプライマーを含む、1対のオリゴヌクレオチドプライマー対。

【請求項22】

請求項13または14に記載のプローブを含む、マイコプラズマ・ジェニタリウム核酸の検出のためのキット。

【請求項23】

請求項15から17のいずれかに記載のフォワードプライマー、および／または請求項18から20のいずれかに記載のリバースプライマーをさらに含む、請求項22に記載のキット。