【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6年11月15日(2024.11.15)

【公開番号】特開2024-116383(P2024-116383A)
【公開日】令和6年8月27日(2024.8.27)
【年通号数】公開公報(特許)2024-160
【出願番号】特願2024-97981(P2024-97981)
【国際特許分類】
Ｃ１２Ｑ　1/6888(2018.01)
Ｃ１２Ｑ　1/6865(2018.01)
Ｃ１２Ｑ　1/686(2018.01)
Ｃ１２Ｑ　1/6851(2018.01)
【ＦＩ】
Ｃ１２Ｑ　1/6888　　ＺＺＮＡ
Ｃ１２Ｑ　1/6865　　Ｚ
Ｃ１２Ｑ　1/686　　Ｚ
Ｃ１２Ｑ　1/6851　　Ｚ
Ｃ１２Ｑ　1/6888　　Ｚ

【手続補正書】
【提出日】令和6年11月7日(2024.11.7)
【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】
ヒトサイトメガロウイルス（ＣＭＶ）ＵＬ５６遺伝子配列に由来する核酸の標的領域を増幅するためのキットであって、
（ａ）標的捕捉オリゴマー（ＴＣＯ）および第１のプロモータープライマーを含む標的捕捉試薬であって、前記第１のプロモータープライマーが、標的ハイブリダイズ配列の５’末端に連結したＲＮＡポリメラーゼプロモーター配列を含み、前記標的ハイブリダイズ配列が、２５～４０ヌクレオチド長であり、配列番号２９、３１、または４７を含む、標的捕捉試薬；
（ｂ）非プロモータープライマーを含む増幅試薬であって、前記非プロモータープライマーが、標的ハイブリダイズ配列を含み、前記標的ハイブリダイズ配列が、１９～３１ヌクレオチド長であり、配列番号１０、１１、１３、１４、１５、１６、１７、１８、または１９を含む、増幅試薬；および
（ｃ）第２のプロモータープライマーおよびプローブオリゴマーを含むプロモーター試薬であって、第２のプロモータープライマーが、標的ハイブリダイズ配列の５’末端に連結したＲＮＡポリメラーゼプロモーター配列を含み、前記標的ハイブリダイズ配列が、２５～４０ヌクレオチド長であり、配列番号２９、３１、または４７を含み、前記プローブオリゴマーが、検出可能な標識を含む、プロモーター試薬
を含む、キット。
【請求項２】
前記ＲＮＡポリメラーゼプロモーター配列が、Ｔ７　ＲＮＡポリメラーゼプロモーター配列である、請求項１に記載のキット。
【請求項３】

前記Ｔ７　ＲＮＡポリメラーゼプロモーター配列が、配列番号７８のヌクレオチド配列を含む、請求項２に記載のキット。
【請求項４】
前記第１のプロモータープライマー、前記第２のプロモータープライマー、または前記第１および第２のプロモータープライマーが、配列番号２８、３０、または４６の核酸塩基配列を含む、請求項３に記載のキット。
【請求項５】
前記プローブオリゴマーが、
（ａ）蛍光分子を含む検出可能な標識であって、前記蛍光分子が、前記プローブオリゴマーの５’または３’末端に結合している、検出可能な標識、または
（ｂ）前記プローブオリゴマーの５’末端の４～５個の核酸塩基に相補的である、前記プローブオリゴマーの３’末端の４～５個の核酸塩基であって、
（ｉ）蛍光分子が、前記プローブオリゴマーの５’末端に結合し、クエンチャーが、前記プローブオリゴマーの３’末端に結合するか、または
（ｉｉ）蛍光分子が、前記プローブオリゴマーの３’末端に結合し、クエンチャーが、前記プローブオリゴマーの５’末端に結合する、
核酸塩基
を含有する、請求項１～４のいずれか一項に記載のキット。
【請求項６】
前記プローブオリゴマーが、配列番号８１にハイブリダイズする２４～３５個の連続核酸塩基を含む、請求項１～５のいずれか一項に記載のキット。
【請求項７】
前記プローブオリゴマーが、配列番号２１、５１、または５７を含む、請求項１～５のいずれか一項に記載のキット。
【請求項８】
前記プローブオリゴマーが、配列番号２０、５２、または５６の核酸塩基配列を含む、請求項７に記載のキット。
【請求項９】
前記第１のプロモータープライマー、前記非プロモータープライマー、および前記第２のプロモータープライマー、ならびに前記プローブオリゴマーのうちの１つまたは複数が、２’－Ｏ－メチル修飾ヌクレオチド、２’－フルオロ修飾ヌクレオチド、および５’－メチルシトシンからなる群から独立に選択される１つまたは複数の修飾ヌクレオチドを含む、請求項１～８のいずれか一項に記載のキット。
【請求項１０】
（ａ）前記標的捕捉試薬が、ディスプレーサーオリゴマーをさらに含み、前記ディスプレーサーオリゴマーが、ブロックされていても、ブロックされていなくともよく；および／または
（ｂ）前記増幅試薬が、ヘルパーオリゴマーをさらに含み、前記ヘルパーオリゴマーが、ブロックされていても、ブロックされていなくともよい、
請求項１～９のいずれか一項に記載のキット。
【請求項１１】
前記ディスプレーサーオリゴマーが、存在する場合、２１～２７核酸塩基長であり、配列番号６、１２、２５、３３、３５、３７、または４１を含み、前記ヘルパーオリゴマーが、存在する場合、１９～３１ヌクレオチド長であり、配列番号１０、１４、１５、１７、１８、または１９を含む、請求項１０に記載のキット。
【請求項１２】
前記ＴＣＯが、２０～３０ヌクレオチド長である標的特異的ヌクレオチド配列および前記ＴＣＯの単離を可能にする部分を含む、請求項１～１１のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１３】
前記標的特異的ヌクレオチド配列が、配列番号４３または配列番号４５を含む、請求項

１～１２のいずれか一項に記載のキット。
【請求項１４】
前記ＴＣＯが、ポリＡヌクレオチド配列または（ｄＴ）$_{3}$（ｄＡ）$_{30}$を含む、請求項１～１３のいずれか一項に記載のキット。
【請求項１５】
前記ＴＣＯが、配列番号４２または配列番号４４のヌクレオチド配列を含む、請求項１４に記載のキット。
【請求項１６】
前記標的捕捉試薬が、２つの異なるＴＣＯを含む、請求項１～１５のいずれか一項に記載のキット。
【請求項１７】
前記２つの異なるＴＣＯが、配列番号４２のヌクレオチド配列を含む第１のＴＣＯおよび配列番号４４のヌクレオチド配列を含む第２のＴＣＯを含む、請求項１６に記載のキット。
【請求項１８】
前記増幅試薬および／または前記プロモーター試薬が、凍結乾燥ペレットとして提供される、請求項１～１７のいずれか一項に記載のキット。
【請求項１９】
標的捕捉洗浄溶液、標的エンハンサー試薬、酵素試薬、凍結乾燥酵素試薬、酵素試薬再構成溶液、増幅試薬再構成溶液、プロモーター試薬再構成溶液、ＣＭＶ陽性対照核酸、陰性対照核酸、試料輸送培地、逆転写酵素、ＲＮＡポリメラーゼ、ｄＮＴＰ、ＮＴＰ、緩衝液、陽性および／または陰性対照試料、配列番号５０を含む内部対照プロモータープライマー、配列番号６３を含む内部対照プライマー、および配列番号８８を含む内部プローブオリゴマー、配列番号４９を含む内部対照ＴＣＯ、ならびに使用説明書のうちの１つまたは複数をさらに含む、請求項１～１８のいずれか一項に記載のキット。
【請求項２０】
試料中のヒトサイトメガロウイルス（ＣＭＶ）ＵＬ５６遺伝子配列に由来する核酸の標的領域を増幅および／または検出するための方法であって、前記方法が、
（ａ）前記ＣＭＶ　ＵＬ５６遺伝子配列を含有する、または含有することが疑われる前記試料を、請求項１～１９のいずれか一項に記載のキットと接触させることと、
（ｂ）前記ＣＭＶ　ＵＬ５６遺伝子配列が前記試料に存在する場合、前記試料を、前記標的領域を増幅するのに十分な条件に曝露し、それにより、増幅産物を生成することと、
（ｃ）前記増幅産物の存在または不在を検出することおよび／または定量化することと
を含む、方法。
【請求項２１】
前記増幅することが、二相性転写媒介増幅を含む、請求項２０に記載の方法。
【請求項２２】
検出することおよび／または定量化することが、リアルタイムで分析される、請求項２０または２１に記載の方法。
【請求項２３】
試料中のヒトサイトメガロウイルス（ＣＭＶ）ＵＬ５６遺伝子標的核酸配列を定量化する方法であって、
（ａ）前記試料を、請求項１～１９のいずれか一項に記載の標的捕捉試薬と、前記ＣＭＶ　ＵＬ５６遺伝子標的核酸配列への前記ＴＣＯおよび第１のプロモータープライマーのハイブリダイゼーションを可能にする条件下で接触させ、それにより、前記ＴＣＯおよび前記第１のプロモータープライマーにハイブリダイズした標的核酸配列を含む前増幅ハイブリッドを生成することと、
（ｂ）固体支持体への標的捕捉、それに続く洗浄によって前記前増幅ハイブリッドを単離して、ステップ（ａ）で前記ＣＭＶ　ＵＬ５６遺伝子標的核酸配列にハイブリダイズしなかった前記第１のプロモータープライマーのいずれも除去することと、

（ｃ）ステップ（ｂ）の単離された前記前増幅ハイブリッドを、請求項１～１５のいずれか一項に記載の増幅試薬と組み合わせて、そして第１相の増幅を実施することであって、前記第１相の増幅が、ステップ（ｂ）において単離された前記前増幅ハイブリッドの前記ＣＭＶ　ＵＬ５６遺伝子標的核酸配列の少なくとも一部分の線形増幅は支持するが、指数関数的増幅は支持しない等温の転写関連増幅反応を含み、それにより、第１の増幅産物を含む反応混合物を形成し、前記第１の増幅産物が、前記第１相の増幅中の核酸合成の鋳型ではなく、前記第１の増幅産物が、前記ＣＭＶ　ＵＬ５６遺伝子標的核酸配列の前記少なくとも一部分を含む、ことと、

（ｄ）ステップ（ｃ）の前記第１の増幅産物を、請求項１～１５のいずれか一項に記載のプロモーター試薬と組み合わせて、第２相の増幅反応混合物を形成し、そして第２相の増幅を実施し、前記第２相の増幅が、等温の転写関連増幅反応を含み、前記第２相の増幅が、前記第１の増幅産物の指数関数的増幅をもたらし、それにより、第２の増幅産物を合成することと、

（ｅ）一定の時間間隔で前記プローブオリゴマーを用いて、前記第２相の増幅反応混合物中の前記第２の増幅産物の合成を検出することと、

（ｆ）ステップ（ｅ）の結果を使用して、前記試料中の前記標的核酸配列を定量化することと

を含む、方法。

【請求項２４】

（ａ）前記固体支持体が、固定化捕捉プローブおよび磁気的に引き付け可能な粒子を含み、

（ｂ）前記第１相および第２相の等温転写関連増幅反応の各々が、ＲＮＡポリメラーゼおよび逆転写酵素を含み、前記逆転写酵素が、内因性ＲＮａｓｅＨ活性を含み、

（ｃ）ステップ（ｃ）の前記第１の増幅産物が、前記試料中の前記標的核酸配列と同じ極性を有するｃＤＮＡ分子であり、ステップ（ｄ）の前記第２の増幅産物が、ＲＮＡ分子である、

請求項２３に記載の方法。