

【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24年2月16日(2012.2.16)

【公開番号】特開2010-115122(P2010-115122A)

【公開日】平成22年5月27日(2010.5.27)

【年通号数】公開・登録公報2010-021

【出願番号】特願2008-288638(P2008-288638)

【国際特許分類】

C 12 N 15/09 (2006.01)

C 12 Q 1/68 (2006.01)

C 12 Q 1/02 (2006.01)

【F I】

C 12 N 15/00 Z N A A

C 12 Q 1/68 A

C 12 Q 1/02

【手続補正書】

【提出日】平成23年12月26日(2011.12.26)

【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】

以下の(a)または(b)に記載の塩基配列で表される核酸を用いてアスペルギルスフミガタス(*Aspergillus fumigatus*)類縁菌の同定を行うことを特徴とするアスペルギルスフミガタス(*Aspergillus fumigatus*)類縁菌の検出方法。

(a)配列番号1若しくは2に記載の-チューブリン遺伝子の部分塩基配列、又はその相補配列

(b)配列番号1若しくは2に記載の塩基配列において1若しくは数個の塩基が欠失、置換若しくは付加された塩基配列、又はその相補配列

【請求項2】

同定を行うために、前記(a)または(b)に記載の塩基配列で表される核酸中の領域を遺伝子増幅し、遺伝子増幅産物の有無を確認することを特徴とする請求項1記載のアスペルギルスフミガタス(*Aspergillus fumigatus*)類縁菌の検出方法。

【請求項3】

前記アスペルギルスフミガタス類縁菌がアスペルギルスレンタス(*Aspergillus lentulus*)、アスペルギルスフミシネマタス(*Aspergillus fumisynnematus*)及びアスペルギルスウダガワエ(*Aspergillus udagawae*)からなる群より選ばれる少なくとも1種である請求項1又は2記載の検出方法。

【請求項4】

前記アスペルギルスフミガタス類縁菌がアスペルギルスレンタス(*Aspergillus lentulus*)及び/又はアスペルギルスフミシネマタス(*Aspergillus fumisynnematus*)であって、以下の(a-1)または(b-1)に記載の塩基配列で表される核酸中の領域を遺伝子増幅し、遺伝子増幅産物の有無

を確認することを特徴とする請求項2又は3記載の検出方法。

(a - 1) 配列番号1に記載の - チュープリン遺伝子の部分塩基配列、若しくはその相補配列

(b - 1) 配列番号1に記載の塩基配列において1若しくは数個の塩基が欠失、置換若しくは付加された塩基配列、若しくはその相補配列

【請求項5】

前記アスペルギルス フミガタス類縁菌がアスペルギルス ウダガワエ (A s p e r g i l l u s u d a g a w a e) であって、以下の(a - 2)または(b - 2)に記載の塩基配列で表される核酸中の領域を遺伝子增幅し、遺伝子增幅産物の有無を確認することを特徴とする請求項2又は3記載の検出方法。

(a - 2) 配列番号2に記載の - チュープリン遺伝子の部分塩基配列、若しくはその相補配列

(b - 2) 配列番号2に記載の塩基配列において1若しくは数個の塩基が欠失、置換若しくは付加された塩基配列、若しくはその相補配列

【請求項6】

前記遺伝子増幅反応をポリメラーゼ連鎖反応 (P C R) 法によって行うことを特徴とする請求項2~5のいずれか1項に記載の検出方法。

【請求項7】

下記(c)及び(d)のオリゴヌクレオチドを核酸プライマーとして用いて増幅反応を行い、アスペルギルス レンタス (A s p e r g i l l u s l e n t u l u s) 及び/又はアスペルギルス フミシネマタス (A s p e r g i l l u s f u m i s y n n e m a t u s) を検出することを特徴とする請求項6記載の検出方法。

(c) 配列番号3に記載の塩基配列で表されるオリゴヌクレオチド、又は当該塩基配列に対して70%以上の相同性を有しかつプライマーとして使用できる塩基配列で表されるオリゴヌクレオチド

(d) 配列番号4に記載の塩基配列で表されるオリゴヌクレオチド、又は当該塩基配列に対して70%以上の相同性を有しかつプライマーとして使用できる塩基配列で表されるオリゴヌクレオチド

【請求項8】

下記(e)及び(f)のオリゴヌクレオチドを核酸プライマーとして用いて増幅反応を行い、アスペルギルス ウダガワエ (A s p e r g i l l u s u d a g a w a e) を検出することを特徴とする請求項6記載の検出方法。

(e) 配列番号5に記載の塩基配列で表されるオリゴヌクレオチド、又は当該塩基配列に対して70%以上の相同性を有しかつプライマーとして使用できる塩基配列で表されるオリゴヌクレオチド

(f) 配列番号6に記載の塩基配列で表されるオリゴヌクレオチド、又は当該塩基配列に対して70%以上の相同性を有しかつプライマーとして使用できる塩基配列で表されるオリゴヌクレオチド

【請求項9】

前記遺伝子増幅反応をL o o p m e d i a t e d i s o t h e r m a l a m p l i f i c a t i o n (L A M P) 法によって行うことを特徴とする請求項2~5のいずれか1項に記載の検出方法。

【請求項10】

下記(g)~(j)のオリゴヌクレオチドセットを核酸プライマーとして用いて増幅反応を行い、アスペルギルス レンタス (A s p e r g i l l u s l e n t u l u s) 及び/又はアスペルギルス フミシネマタス (A s p e r g i l l u s f u m i s y n n e m a t u s) を検出することを特徴とする請求項9記載の検出方法。

(g) 配列番号7に記載の塩基配列で表されるオリゴヌクレオチド

(h) 配列番号8に記載の塩基配列で表されるオリゴヌクレオチド

(i) 配列番号9に記載の塩基配列で表されるオリゴヌクレオチド

(j) 配列番号 1 0 に記載の塩基配列で表されるオリゴヌクレオチド

【請求項 1 1】

請求項 1 0 記載の検出方法であって、さらに下記 (k) 及び / 又は (l) のオリゴヌクレオチドを核酸プライマーとして用いる請求項 1 0 記載の検出方法。

(k) 配列番号 1 1 に記載の塩基配列で表されるオリゴヌクレオチド

(l) 配列番号 1 2 に記載の塩基配列で表されるオリゴヌクレオチド

【請求項 1 2】

下記 (m) ~ (p) のオリゴヌクレオチドセットを核酸プライマーとして用いて増幅反応を行い、アスペルギルス ウダガワエ (A s p e r g i l l u s u d a g a w a e) を検出することを特徴とする請求項 9 記載の検出方法。

(m) 配列番号 1 3 に記載の塩基配列で表されるオリゴヌクレオチド

(n) 配列番号 1 4 に記載の塩基配列で表されるオリゴヌクレオチド

(o) 配列番号 1 5 に記載の塩基配列で表されるオリゴヌクレオチド

(p) 配列番号 1 6 に記載の塩基配列で表されるオリゴヌクレオチド

【請求項 1 3】

請求項 1 2 記載の検出方法であって、さらに下記 (q) 及び / 又は (r) のオリゴヌクレオチドを核酸プライマーとして用いる請求項 1 2 記載の検出方法。

(q) 配列番号 1 7 に記載の塩基配列で表されるオリゴヌクレオチド

(r) 配列番号 1 8 に記載の塩基配列で表されるオリゴヌクレオチド

【請求項 1 4】

同定を行うために、被検菌の - チューブリン遺伝子の塩基配列を決定し、該遺伝子の塩基配列中に前記 (a) または (b) に記載の核酸の塩基配列が含まれるか否かを確認することを特徴とする請求項 1 記載のアスペルギルス フミガタス (A s p e r g i l l u s f u m i g a t u s) 類縁菌の検出方法。

【請求項 1 5】

前記アスペルギルス フミガタス類縁菌がアスペルギルス レンタス (A s p e r g i l l u s l e n t u l u s s)、アスペルギルス フミシネマタス (A s p e r g i l l u s f u m i s y n n e m a t u s s) 及びアスペルギルス ウダガワエ (A s p e r g i l l u s u d a g a w a e) からなる群より選ばれる少なくとも 1 種である請求項 1 4 記載の検出方法。

【請求項 1 6】

アスペルギルス フミガタス (A s p e r g i l l u s f u m i g a t u s s) 類縁菌の検出に用いるための、下記 (a) または (b) に記載の塩基配列で表される DNA。

(a) 配列番号 1 若しくは 2 に記載の - チューブリン遺伝子の部分塩基配列、又はその相補配列

(b) 配列番号 1 若しくは 2 に記載の塩基配列において 1 若しくは数個の塩基が欠失、置換若しくは付加された塩基配列、又はその相補配列

【請求項 1 7】

アスペルギルス レンタス (A s p e r g i l l u s l e n t u l u s s) 及び / 又はアスペルギルス フミシネマタス (A s p e r g i l l u s f u m i s y n n e m a t u s s) の検出に用いるための、下記 (a - 1) または (b - 1) に記載の塩基配列で表される DNA。

(a - 1) 配列番号 1 に記載の - チューブリン遺伝子の部分塩基配列、若しくはその相補配列

(b - 1) 配列番号 1 に記載の塩基配列において 1 若しくは数個の塩基が欠失、置換若しくは付加された塩基配列、若しくはその相補配列

【請求項 1 8】

アスペルギルス ウダガワエ (A s p e r g i l l u s u d a g a w a e) の検出に用いるための、下記 (a - 2) または (b - 2) に記載の塩基配列で表される DNA。

(a - 2) 配列番号 2 に記載の - チューブリン遺伝子の部分塩基配列、若しくはその相

補配列

(b - 2) 配列番号 2 に記載の塩基配列において 1 若しくは数個の塩基が欠失、置換若しくは付加された塩基配列、若しくはその相補配列

【請求項 19】

下記 (a) または (b) に記載の塩基配列で表される核酸にハイブリダイズすることができ、アスペルギルス フミガタス (A s p e r g i l l u s f u m i g a t u s) 類縁菌を特異的に検出するための核酸プローブ又は核酸プライマーとして機能し得るアスペルギルス フミガタス (A s p e r g i l l u s f u m i g a t u s) 類縁菌検出用オリゴヌクレオチド。

(a) 配列番号 1 若しくは 2 に記載の - チュープリン遺伝子の部分塩基配列、又はその相補配列

(b) 配列番号 1 若しくは 2 に記載の塩基配列において 1 若しくは数個の塩基が欠失、置換若しくは付加された塩基配列、又はその相補配列

【請求項 20】

前記検出用オリゴヌクレオチドが、配列番号 3 ~ 18 のいずれかに記載の塩基配列若しくはその相補配列で表されるオリゴヌクレオチド、または当該塩基配列若しくはその相補配列に対して 70 % 以上の相同性を有するオリゴヌクレオチドであることを特徴とする請求項 19 記載のアスペルギルス フミガタス (A s p e r g i l l u s f u m i g a t u s) 類縁菌検出用オリゴヌクレオチド。

【請求項 21】

下記の (c) 及び (d) のオリゴヌクレオチドからなるアスペルギルス レンタス (A s p e r g i l l u s l e n t u l u s) 及び / 又はアスペルギルス フミシネマタス (A s p e r g i l l u s f u m i s y n n e m a t u s) 検出用オリゴヌクレオチド対。

(c) 配列番号 3 に記載の塩基配列で表されるオリゴヌクレオチド、又は当該塩基配列に対して 70 % 以上の相同性を有しあつ検出用オリゴヌクレオチドとして使用できる塩基配列で表されるオリゴヌクレオチド

(d) 配列番号 4 に記載の塩基配列で表されるオリゴヌクレオチド、又は当該塩基配列に対して 70 % 以上の相同性を有しあつ検出用オリゴヌクレオチドとして使用できる塩基配列で表されるオリゴヌクレオチド

【請求項 22】

下記の (e) 及び (f) のオリゴヌクレオチドからなるアスペルギルス ウダガワエ (A s p e r g i l l u s u d a g a w a e) 検出用オリゴヌクレオチド対。

(e) 配列番号 5 に記載の塩基配列で表されるオリゴヌクレオチド、又は当該塩基配列に対して 70 % 以上の相同性を有しあつ検出用オリゴヌクレオチドとして使用できる塩基配列で表されるオリゴヌクレオチド

(f) 配列番号 6 に記載の塩基配列で表されるオリゴヌクレオチド、又は当該塩基配列に対して 70 % 以上の相同性を有しあつ検出用オリゴヌクレオチドとして使用できる塩基配列で表されるオリゴヌクレオチド

【請求項 23】

前記オリゴヌクレオチド対が核酸プライマー対であることを特徴とする、請求項 2_1 または 2_2 記載のオリゴヌクレオチド対。

【請求項 24】

核酸プライマー対として請求項 2_1 記載のオリゴヌクレオチド対及び / 又は請求項 2_2 記載のオリゴヌクレオチド対を含むアスペルギルス フミガタス (A s p e r g i l l u s f u m i g a t u s) 類縁菌検出用キット。

【請求項 25】

下記の (g) ~ (j) のプライマーからなるアスペルギルス レンタス (A s p e r g i l l u s l e n t u l u s) 及び / 又はアスペルギルス フミシネマタス (A s p e r g i l l u s f u m i s y n n e m a t u s) 検出用プライマーセット。

- (g) 配列番号 7 に記載の塩基配列で表されるオリゴヌクレオチドからなるプライマー
- (h) 配列番号 8 に記載の塩基配列で表されるオリゴヌクレオチドからなるプライマー
- (i) 配列番号 9 に記載の塩基配列で表されるオリゴヌクレオチドからなるプライマー
- (j) 配列番号 10 に記載の塩基配列で表されるオリゴヌクレオチドからなるプライマー

【請求項 26】

請求項 2_5 記載のプライマーセットがさらに下記 (k) 及び / 又は (l) のプライマーを含むことを特徴とする請求項 2_5 記載のアスペルギルス レンタス (*Aspergillus lentulus*) 及び / 又はアスペルギルス フミシネマタス (*Aspergillus fumisynnematus*) 検出用プライマーセット。

- (k) 配列番号 11 に記載の塩基配列で表されるオリゴヌクレオチドからなるプライマー
- (l) 配列番号 12 に記載の塩基配列で表されるオリゴヌクレオチドからなるプライマー

【請求項 27】

下記の (m) ~ (p) のプライマーからなるアスペルギルス ウダガワエ (*Aspergillus udagawae*) 検出用プライマーセット。

- (m) 配列番号 13 に記載の塩基配列で表されるオリゴヌクレオチドからなるプライマー
- (n) 配列番号 14 に記載の塩基配列で表されるオリゴヌクレオチドからなるプライマー
- (o) 配列番号 15 に記載の塩基配列で表されるオリゴヌクレオチドからなるプライマー
- (p) 配列番号 16 に記載の塩基配列で表されるオリゴヌクレオチドからなるプライマー

【請求項 28】

請求項 2_7 記載のプライマーセットがさらに下記 (q) 及び / 又は (r) のプライマーを含むことを特徴とする請求項 2_7 記載のアスペルギルス ウダガワエ (*Aspergillus udagawae*) 検出用プライマーセット。

- (q) 配列番号 17 に記載の塩基配列で表されるオリゴヌクレオチドからなるプライマー
- (r) 配列番号 18 に記載の塩基配列で表されるオリゴヌクレオチドからなるプライマー

【請求項 29】

アスペルギルス フミガタス (*Aspergillus fumigatus*) 類縁菌の - チューブリン遺伝子の塩基配列から選択される標的領域の配列の 5' 側から順に、塩基配列領域として F 3、F 2 及び F 1 を選択し、

前記標的領域の 3' 側から順に、塩基配列領域として B 3c、B 2c 及び B 1c を選択し、

前記 F 3、F 2 及び F 1 の相補的塩基配列を、それぞれ F 3c、F 2c 及び F 1c とし、前記 B 3c、B 2c 及び B 1c に相補的な塩基配列を、それぞれ B 3、B 2 及び B 1 としたとき、

以下の (a) ~ (f) のいずれかに該当する塩基配列で表されるアスペルギルス フミガタス (*Aspergillus fumigatus*) 類縁菌検出用オリゴヌクレオチド。

- (a) 前記 B 2 領域を 3' 側に有し、前記 B 1c 領域を 5' 側に有する塩基配列
- (b) 前記 B 3 領域を有する塩基配列

- (c) 前記 F 2 領域を 3' 側に有し、前記 F 1c 領域を 5' 側に有する塩基配列

- (d) 前記 F 3 領域を有する塩基配列

- (e) 前記 B 1 領域と前記 B 2 領域の間の部分と相補的な配列を有する塩基配列

- (f) 前記 F 1 領域と前記 F 2 領域の間の部分と相補的な配列を有する塩基配列

【請求項 30】

請求項 2_5、2_6、2_7 若しくは 2_8 記載のプライマーセットまたは請求項 2_9 記載のオリゴヌクレオチドと、

DNA ポリメラーゼと、

dATP、dCTP、dGTP 及び dTTP を含む dNTP と、

を含むアスペルギルス フミガタス (*Aspergillus fumigatus*) 類縁菌検出キット。