

【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 1 2 N 15/09 (2006.01)

C 1 2 Q 1/68 (2006.01)

C 1 2 Q 1/02 (2006.01)

【F I】

C 1 2 N 15/00 Z N A A

C 1 2 Q 1/68 A

C 1 2 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 (Aspergillus udagawae) 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 - 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 (PCR) 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 (Aspergillus lentulus) 及び / 又はアスペルギルス フミシネマタス (Aspergillus fumisynnematus) 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 (Aspergillus udagawae) 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 Loop mediated isothermal amplification (LAMP) 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 (Aspergillus lentulus) 及び / 又はアスペルギルス フミシネマタス (Aspergillus fumisynnematus) 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 (Aspergillus udagawae) 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 (Aspergillus fumigatus) 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 (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 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 (Aspergillus fumigatus) 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 (Aspergillus lentulus) 及び / 又はアスペルギルス フミシネマタス (Aspergillus fumisynnematus) 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 (Aspergillus udagawae) 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 (Aspergillus fumigatus) 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 (Aspergillus fumigatus) 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 (Aspergillus fumigatus) 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 (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か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か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 (Aspergillus udagawae) 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か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か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 21 または 22 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 21 記載のオリゴヌクレオチド対及び / 又は請求項 22 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 (Aspergillus fumigatus) 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 (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。

- (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 25 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 25 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 27 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 27 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 - チュープ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 F3、F2 及び F1 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 B3c、B2c 及び B1c を選択し、

前記 F3、F2 及び F1 の相補的塩基配列を、それぞれ F3c、F2c 及び F1c とし、前記 B3c、B2c 及び B1c に相補的な塩基配列を、それぞれ B3、B2 及び B1 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 B2 領域を 3' 側に有し、前記 B1c 領域を 5' 側に有する塩基配列
- (b) 前記 B3 領域を有する塩基配列
- (c) 前記 F2 領域を 3' 側に有し、前記 F1c 領域を 5' 側に有する塩基配列
- (d) 前記 F3 領域を有する塩基配列
- (e) 前記 B1 領域と前記 B2 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 F1 領域と前記 F2 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 25、26、27 若しくは 28 記載のプライマーセットまたは請求項 29 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。