

【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1年6月20日(2019.6.20)

【公開番号】特開2019-68818(P2019-68818A)

【公開日】令和1年5月9日(2019.5.9)

【年通号数】公開・登録公報2019-017

【出願番号】特願2018-229068(P2018-229068)

【国際特許分類】

C 12 Q 1/24 (2006.01)

C 12 Q 1/04 (2006.01)

【F I】

C 12 Q 1/24

C 12 Q 1/04

【手続補正書】

【提出日】令和1年5月13日(2019.5.13)

【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】

細胞膜又はカプシドがコレステロールを含有しない目的微生物、並びに

- 細胞膜がコレステロールを含有する非標的細胞、及び
- コレステロールを含有するエンベロープを有するウイルス、及び
- コレステロールを含有するマイコプラズマ、及び
- 目的微生物及び／又は非標的細胞のデブリ

からなる群から選択される非標的要素

を含むか又は含む可能性のある液体生体試料中の目的微生物の選択的単離のための方法であって、

a) コレステロールを含有する細胞膜、及び／又はコレステロールを含有するウイルスエンベロープ、及び／又はコレステロールを含有するマイコプラズマの膜を不安定化するために、液体生体試料をサポニン製剤と接触させる工程、

b) 非標的細胞を特異的に溶解するために非標的細胞の浸透圧衝撃を実施する工程、

c) 試料中の溶液に溶解した非標的要素由来の遊離核酸(DNA及び／又はRNA)を溶解することができる少なくとも一の酵素の溶液を添加し、目的微生物が選択的に得られることを可能にする工程、

d) 試料中の溶液に溶解しない目的微生物を沈殿させ、溶解しない目的微生物を含有するペレットの接着を可能とするための薬剤を添加する工程、

を含み、

前記薬剤は、グリコーゲン、核酸、グリコーゲンと核酸との混合物、グリコーゲンとポリエチレングリコール(PEG)との混合物、核酸とPEGとの混合物、及びグリコーゲンと核酸とPEGとの混合物からなる群から選択される化学物質を含む、方法。

【請求項2】

サポニンが等濃度で、試料と少なくとも同量かそれより多い量であることを特徴とする、請求項1に記載の単離方法。

【請求項3】

サポニンの最終濃度が0.02%超及び20%以下であることを特徴とする、請求項1

に記載の単離方法。

【請求項 4】

サポニンがトリテルペノイドからなることを特徴とする、請求項 1 に記載の単離方法。

【請求項 5】

遊離核酸を溶解することができる酵素が、次いで、

E D T A 及び / 又は E G T A 及び / 又は D T T 及び / 又は - メルカプトエタノール及び / 又は D E P C 、及び / 又はグアニジンを添加することにより化学的に、且つ / 或いは

ドデシル硫酸ナトリウム (S D S) 等の界面活性剤の存在下又は非存在下で、40 から 100 の間に温度を上昇させることにより物理的に、

不活化されることを特徴とする、請求項 1 から 4 の何れか一項に記載の単離方法。

【請求項 6】

請求項 1 から 5 の何れか一項に記載の方法であって、前記方法の間、

p H が 5 を下回れば、塩基性

p H が 10 を上回れば、酸性

の溶液を添加することにより、p H が 5 から 10 の範囲に維持され、

そのため p H が前記範囲にあることを特徴とする、方法。

【請求項 7】

請求項 1 から 5 の何れか一項に記載の方法であって、前記方法の間、

p H が 6 を下回れば、塩基性

p H が 9 を上回れば、酸性

の溶液を添加することにより、p H が 6 から 9 の範囲に維持され、

そのため p H が前記範囲にあることを特徴とする、方法。

【請求項 8】

液体生体試料中の目的微生物の単離又は目的微生物の核酸の単離のための、サポニン製剤の使用；遊離核酸 (D N A 及び / 又は R N A) を溶解することができる少なくとも一の酵素の溶液の使用；及び溶解しない目的微生物を沈殿させ、溶解しない目的微生物を含有するペレットの接着を可能とするための薬剤の使用であって、

前記薬剤は、グリコーゲン、核酸、グリコーゲンと核酸との混合物、グリコーゲンとポリエチレングリコール (P E G) との混合物、核酸と P E G との混合物、及びグリコーゲンと核酸と P E G との混合物からなる群から選択される化学物質を含む、使用。

【請求項 9】

サポニン製剤中のサポニンの濃度が 0.02 % 超及び 4 % 以下である、請求項 8 に記載の使用。

【請求項 10】

検出限界が 1 C F U / m L 以下である、請求項 8 に記載の使用。

【請求項 11】

検出限界が 0.5 C F U / m L より低い、請求項 8 に記載の使用。

【請求項 12】

0.02 % 超及び 20 % 以下の最終濃度をもたらすサポニン製剤、及び / 又は 0.1 から 20 % の濃度の溶解しない目的微生物を沈殿させ、溶解しない目的微生物を含有するペレットの接着を可能とするための薬剤、及び / 又は 500 から 20000 酵素単位を含有する遊離核酸 (D N A 及び / 又は R N A) を溶解することができる酵素を使用することを特徴とする、請求項 8 に記載の使用。

【請求項 13】

目的微生物を含有するペレットの接着性を向上させることにより生体試料中の目的微生物を沈殿させるための、グリコーゲン、核酸、グリコーゲンと核酸との混合物、グリコーゲンとポリエチレングリコール (P E G) との混合物、核酸と P E G との混合物、及びグリコーゲンと核酸と P E G との混合物からなる群から選択される化学物質の使用。

【請求項 14】

前記試料が、予めサポニンと接触させられている、請求項 1 3 に記載の使用。

【請求項 1 5】

目的微生物、非標的細胞、並びに、エンベロープウイルス、マイコプラズマ及び／又は目的微生物及び／若しくは非標的細胞のデブリを含むか又は含む可能性のある液体生体試料中の、目的微生物を単離するため並びに／或いは目的微生物の核酸を単離するための診断キットであって、

(a) 容器と

(b) 少なくとも一のサポニン製剤と、

(c) 試料中の溶液に溶解しない目的微生物を沈殿させ、溶解しない目的微生物を含有するペレットの接着を可能とするための少なくとも一の薬剤を含み、前記少なくとも一の薬剤がグリコーゲン、核酸、グリコーゲンと核酸との混合物、グリコーゲンとポリエチレングリコール(PEG)との混合物、核酸とPEGとの混合物、及びグリコーゲンと核酸とPEGとの混合物からなる群から選択される化学物質を含む、診断キット。

【請求項 1 6】

(d) 核酸を溶解することができる少なくとも一の酵素を更に含む、請求項 1 5 に記載のキット。

【請求項 1 7】

請求項 1 5 に記載のキットであって、

(d) 核酸を溶解することができる少なくとも一の酵素、又は(d ') 少なくとも一の酸性溶液及び／又は少なくとも一の塩基性溶液、並びに／或いは

(e) EDTA 及び／又はEGTA 及び／又はDTT 及び／又は - メルカプトエタノール及び／又はD E P C 及び／又はグアニジン、並びに／或いは

(f) 少なくとも一の界面活性剤又は陰イオン剤を更に含むことを特徴とする、キット。