

【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12月13日 (2012.12.13)

【公開番号】特開2010-4879(P2010-4879A)

【公開日】平成22年1月14日 (2010.1.14)

【年通号数】公開・登録公報2010-002

【出願番号】特願2009-129478(P2009-129478)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

C 1 2 Q 1/06 (2006.01)

C 1 2 Q 1/68 (2006.01)

G 0 1 N 33/53 (2006.01)

【F I】

C 1 2 N 15/00 Z N A A

C 1 2 Q 1/06

C 1 2 Q 1/68 A

G 0 1 N 33/53 M

【手続補正書】

【提出日】平成24年10月25日 (2012.10.25)

【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】

下記 (g) ~ (l) のいずれかの塩基配列で表される核酸を用いてネオサルトリア (Neosartorya) 属に属する菌類及び / 又はアスペルギルス フミガタス (Aspergillus fumigatus) の同定を行うことを特徴とするネオサルトリア (Neosartorya) 属に属する菌類及び / 又はアスペルギルス フミガタス (Aspergillus fumigatus) の検出方法。

(g) 配列番号 7 に記載の塩基配列若しくはその相補配列、又は当該塩基配列若しくはその相補配列において 1 若しくは数個の塩基が欠失、置換若しくは付加されておりかつネオサルトリア属に属する菌類及び / 又はアスペルギルス フミガタスの検出に使用できる塩基配列

(h) 配列番号 8 に記載の塩基配列若しくはその相補配列、又は当該塩基配列若しくはその相補配列において 1 若しくは数個の塩基が欠失、置換若しくは付加されておりかつネオサルトリア属に属する菌類及び / 又はアスペルギルス フミガタスの検出に使用できる塩基配列

(i) 配列番号 9 に記載の塩基配列若しくはその相補配列、又は当該塩基配列若しくはその相補配列において 1 若しくは数個の塩基が欠失、置換若しくは付加されておりかつネオサルトリア属に属する菌類及び / 又はアスペルギルス フミガタスの検出に使用できる塩基配列

(j) 配列番号 10 に記載の塩基配列若しくはその相補配列、又は当該塩基配列若しくはその相補配列において 1 若しくは数個の塩基が欠失、置換若しくは付加されておりかつネオサルトリア属に属する菌類及び / 又はアスペルギルス フミガタスの検出に使用できる塩基配列

(k) 配列番号 11 に記載の塩基配列若しくはその相補配列、又は当該塩基配列若しくは

その相補配列において１若しくは数個の塩基が欠失、置換若しくは付加されておりかつネオサルトリア属に属する菌類及び／又はアスペルギルス フミガタスの検出に使用できる塩基配列

(１) 配列番号１２に記載の塩基配列若しくはその相補配列、又は当該塩基配列若しくはその相補配列において１若しくは数個の塩基が欠失、置換若しくは付加されておりかつネオサルトリア属に属する菌類及び／又はアスペルギルス フミガタスの検出に使用できる塩基配列

【請求項２】

同定を行うために、前記(ｇ)～(ｌ)のいずれかの塩基配列で表される核酸中の一部又は全部の領域からなる核酸を遺伝子増幅し、増幅産物の有無を確認することを特徴とする請求項１記載のネオサルトリア(Neosartorya)属に属する菌類及び／又はアスペルギルス フミガタス(Aspergillus fumigatus)の検出方法。

【請求項３】

前記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記載のネオサルトリア(Neosartorya)属に属する菌類及び／又はアスペルギルス フミガタス(Aspergillus fumigatus)の検出方法。

【請求項４】

前記(ｇ)～(ｌ)のいずれかの塩基配列で表される核酸中の領域であって、下記(１)～(４)の４つの条件を満たす領域にハイブリダイズすることができるオリゴヌクレオチドを、核酸プライマーとして用いて遺伝子増幅反応を行うことを特徴とする請求項３記載の検出方法。

(１) ネオサルトリア(Neosartorya)属に属する菌類及び／又はアスペルギルス フミガタス(Aspergillus fumigatus)に固有の遺伝子の塩基配列が１０塩基前後連続して現れる領域を含む

(２) オリゴヌクレオチドのGC含量が３０％～８０％となる

(３) オリゴヌクレオチドの自己アニールの可能性が低い

(４) オリゴヌクレオチドのTm値が５５～６５となる

【請求項５】

同定を行うために、前記(ｇ)～(ｌ)のいずれかの塩基配列で表される核酸とストリンジェントな条件下でハイブリダイズする検出用オリゴヌクレオチドを標識化し、得られた検出用オリゴヌクレオチドを検査対象物より抽出した核酸とストリンジェントな条件下でハイブリダイズさせ、ハイブリダイズした検出用オリゴヌクレオチドの標識を測定することを特徴とする請求項１記載のネオサルトリア(Neosartorya)属に属する菌類及び／又はアスペルギルス フミガタス(Aspergillus fumigatus)の検出方法。

【請求項６】

下記(ａ)～(ｆ)のオリゴヌクレオチドからなる群より選ばれる少なくとも１種を検出用オリゴヌクレオチドとして用いることを特徴とする請求項２～５のいずれか１項記載のネオサルトリア(Neosartorya)属に属する菌類及び／又はアスペルギルス フミガタス(Aspergillus fumigatus)の検出方法。

(ａ) 配列番号１に記載の塩基配列若しくはその相補配列、又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

(ｂ) 配列番号２に記載の塩基配列若しくはその相補配列、又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

(ｃ) 配列番号３に記載の塩基配列若しくはその相補配列、又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 に記載の塩基配列若しくはその相補配列、又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

(e) 配列番号 5 に記載の塩基配列若しくはその相補配列、又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 に記載の塩基配列若しくはその相補配列、又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 7】

前記検出用オリゴヌクレオチドを核酸プローブ又は核酸プライマーとして用いることを特徴とする請求項 6 記載のネオサルトリア (Neosartorya) 属に属する菌類及び / 又はアスペルギルス フミガタス (Aspergillus fumigatus) の検出方法。

【請求項 8】

前記 (a) 及び (b) のオリゴヌクレオチド並びに / 又は前記 (c) 及び (d) のオリゴヌクレオチドを核酸プライマー対として用いることを特徴とする請求項 6 記載のネオサルトリア (Neosartorya) 属に属する菌類及びアスペルギルス フミガタス (Aspergillus fumigatus) の検出方法。

【請求項 9】

前記 (e) 及び (f) のオリゴヌクレオチドを核酸プライマー対として用いることを特徴とする請求項 6 記載のアスペルギルス フミガタス (Aspergillus fumigatus) の検出方法。

【請求項 10】

さらに下記 (ア) 及び / 又は (イ) を用いることによりネオサルトリア (Neosartorya) 属に属する菌類かアスペルギルス フミガタス (Aspergillus fumigatus) かを識別する請求項 8 に記載の検出方法。

(ア) 発育可能温度帯の違いを用いてネオサルトリア (Neosartorya) 属に属する菌類か、アスペルギルス フミガタス (Aspergillus fumigatus) かを検出する方法。

(イ) 前記 (e) 及び (f) のオリゴヌクレオチドを核酸プライマー対として用いることを特徴とするアスペルギルス フミガタス (Aspergillus fumigatus) を検出する方法。

【請求項 11】

同定を行うために、被検菌の チューブリン遺伝子領域の塩基配列を決定し、該領域の塩基配列中に前記 (g) ~ (l) のいずれか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 記載のネオサルトリア (Neosartorya) 属に属する菌類及び / 又はアスペルギルス フミガタス (Aspergillus fumigatus) の検出方法。

【請求項 12】

下記 (a') 及び (b') のオリゴヌクレオチド又は下記 (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ることを特徴とするネオサルトリア (Neosartorya) 属に属する菌類及びアスペルギルス フミガタス (Aspergillus fumigatus) の検出方法。

(a') 配列番号 1 に記載の塩基配列で表されるオリゴヌクレオチド

(b') 配列番号 2 に記載の塩基配列で表されるオリゴヌクレオチド

(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

(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

【請求項 13】

さらに下記 (ア) 及び / 又は (イ') を用いることによりネオサルトリア (Neosartorya)

r t o r y a) 属に属する菌類かアスペルギルス 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) かを識別する請求項 1 2 記載の検出方法。

(ア) 発育可能温度帯の違いを用いてネオサルトリア (N e o s a r t o r y a) 属に属する菌類アスペルギルス 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) かを検出する方法。

(イ') 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ることを特徴とするアスペルギルス 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) を検出する方法。

(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

(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

【請求項 1 4】

ネオサルトリア (N e o s a r t o r y a) 属に属する菌類及び / 又はアスペルギルス 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) の検出に用いるための、下記 (g) ~ (l) のいずれかの塩基配列で表される DNA。

(g) 配列番号 7 に記載の塩基配列若しくはその相補配列、又は当該塩基配列若しくはその相補配列において 1 若しくは数個の塩基が欠失、置換若しくは付加されておりかつネオサルトリア属に属する菌類及び / 又はアスペルギルス フミガタスの検出に使用できる塩基配列

(h) 配列番号 8 に記載の塩基配列若しくはその相補配列、又は当該塩基配列若しくはその相補配列において 1 若しくは数個の塩基が欠失、置換若しくは付加されておりかつネオサルトリア属に属する菌類及び / 又はアスペルギルス フミガタスの検出に使用できる塩基配列

(i) 配列番号 9 に記載の塩基配列若しくはその相補配列、又は当該塩基配列若しくはその相補配列において 1 若しくは数個の塩基が欠失、置換若しくは付加されておりかつネオサルトリア属に属する菌類及び / 又はアスペルギルス フミガタスの検出に使用できる塩基配列

(j) 配列番号 1 0 に記載の塩基配列若しくはその相補配列、又は当該塩基配列若しくはその相補配列において 1 若しくは数個の塩基が欠失、置換若しくは付加されておりかつネオサルトリア属に属する菌類及び / 又はアスペルギルス フミガタスの検出に使用できる塩基配列

(k) 配列番号 1 1 に記載の塩基配列若しくはその相補配列、又は当該塩基配列若しくはその相補配列において 1 若しくは数個の塩基が欠失、置換若しくは付加されておりかつネオサルトリア属に属する菌類及び / 又はアスペルギルス フミガタスの検出に使用できる塩基配列

(l) 配列番号 1 2 に記載の塩基配列若しくはその相補配列、又は当該塩基配列若しくはその相補配列において 1 若しくは数個の塩基が欠失、置換若しくは付加されておりかつネオサルトリア属に属する菌類及び / 又はアスペルギルス フミガタスの検出に使用できる塩基配列

【請求項 1 5】

下記 (g) ~ (l) のいずれか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、ネオサルトリア (N e o s a r t o r y a) 属に属する菌類及び / 又はアスペルギルス 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) 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ネオサルトリア (N e o s a r t o r y a) 属に属する菌類及び / 又はアスペルギルス 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) の検出用オリゴヌクレオチド。

(g) 配列番号 7 に記載の塩基配列若しくはその相補配列、又は当該塩基配列若しくはその相補配列において 1 若しくは数個の塩基が欠失、置換若しくは付加されておりかつネオサルトリア属に属する菌類及び / 又はアスペルギルス フミガタスの検出に使用できる塩基配列

(h) 配列番号 8 に記載の塩基配列若しくはその相補配列、又は当該塩基配列若しくはそ

の相補配列において１若しくは数個の塩基が欠失、置換若しくは付加されておりかつネオサルトリア属に属する菌類及び／又はアスペルギルス フミガタスの検出に使用できる塩基配列

(i) 配列番号 9 に記載の塩基配列若しくはその相補配列、又は当該塩基配列若しくはその相補配列において１若しくは数個の塩基が欠失、置換若しくは付加されておりかつネオサルトリア属に属する菌類及び／又はアスペルギルス フミガタスの検出に使用できる塩基配列

(j) 配列番号 10 に記載の塩基配列若しくはその相補配列、又は当該塩基配列若しくはその相補配列において１若しくは数個の塩基が欠失、置換若しくは付加されておりかつネオサルトリア属に属する菌類及び／又はアスペルギルス フミガタスの検出に使用できる塩基配列

(k) 配列番号 11 に記載の塩基配列若しくはその相補配列、又は当該塩基配列若しくはその相補配列において１若しくは数個の塩基が欠失、置換若しくは付加されておりかつネオサルトリア属に属する菌類及び／又はアスペルギルス フミガタスの検出に使用できる塩基配列

(l) 配列番号 12 に記載の塩基配列若しくはその相補配列、又は当該塩基配列若しくはその相補配列において１若しくは数個の塩基が欠失、置換若しくは付加されておりかつネオサルトリア属に属する菌類及び／又はアスペルギルス フミガタスの検出に使用できる塩基配列

【請求項 16】

前記検出用オリゴヌクレオチドが、前記 (g) ~ (l) のいずれかの塩基配列で表される核酸中の領域であって、下記 (1) ~ (4) の４つの条件を満たす領域にハイブリダイズすることができるオリゴヌクレオチドであることを特徴とする請求項 15 記載のネオサルトリア (Neosartorya) 属に属する菌類及び／又はアスペルギルス フミガタス (Aspergillus fumigatus) 検出用オリゴヌクレオチド。

(1) ネオサルトリア (Neosartorya) 属に属する菌類及び／又はアスペルギルス フミガタス (Aspergillus fumigatus) に固有の遺伝子の塩基配列が 10 塩基前後連続して現れる領域を含む

(2) オリゴヌクレオチドの GC 含量が 30 % ~ 80 % となる

(3) オリゴヌクレオチドの自己アニールの可能性が低い

(4) オリゴヌクレオチドの Tm 値が 55 ~ 65 となる

【請求項 17】

前記検出用オリゴヌクレオチドが、配列番号 1 ~ 6 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、又は当該塩基配列若しくはその相補配列に対して 70 % 以上の相同性を有しかつ核酸プローブ又は核酸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であることを特徴とする請求項 15 又は 16 記載のネオサルトリア (Neosartorya) 属に属する菌類及び／又はアスペルギルス フミガタス (Aspergillus fumigatus) の検出用オリゴヌクレオチド。

【請求項 18】

下記 (a) 及び (b) 又は下記 (c) 及び (d) で示されたネオサルトリア (Neosartorya) 属に属する菌類及びアスペルギルス フミガタス (Aspergillus fumigatus) 検出用オリゴヌクレオチド対。

(a) 配列番号 1 に記載の塩基配列若しくはその相補配列、又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

(b) 配列番号 2 に記載の塩基配列若しくはその相補配列、又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

(c) 配列番号 3 に記載の塩基配列若しくはその相補配列、又は当該塩基配列若しくはそ

の相補配列に対して70%以上の同一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に記載の塩基配列若しくはその相補配列、又は当該塩基配列若しくはその相補配列に対して70%以上の同一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19】

下記(e)及び(f)で示されたアスペルギルス フミガタス(Aspergillus fumigatus)検出用オリゴヌクレオチド対。

(e) 配列番号5に記載の塩基配列若しくはその相補配列、又は当該塩基配列若しくはその相補配列に対して70%以上の同一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に記載の塩基配列若しくはその相補配列、又は当該塩基配列若しくはその相補配列に対して70%以上の同一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20】

下記(a)及び(b)のオリゴヌクレオチド並びに/又は下記(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含むネオサルトリア(Neosartorya)属に属する菌類及びアスペルギルス フミガタス(Aspergillus fumigatus)検出用キット。

(a) 配列番号1に記載の塩基配列若しくはその相補配列、又は当該塩基配列若しくはその相補配列に対して70%以上の同一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

(b) 配列番号2に記載の塩基配列若しくはその相補配列、又は当該塩基配列若しくはその相補配列に対して70%以上の同一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

(c) 配列番号3に記載の塩基配列若しくはその相補配列、又は当該塩基配列若しくはその相補配列に対して70%以上の同一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に記載の塩基配列若しくはその相補配列、又は当該塩基配列若しくはその相補配列に対して70%以上の同一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21】

さらに下記(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含む請求項20記載の検出用キット。

(e) 配列番号5に記載の塩基配列若しくはその相補配列、又は当該塩基配列若しくはその相補配列に対して70%以上の同一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に記載の塩基配列若しくはその相補配列、又は当該塩基配列若しくはその相補配列に対して70%以上の同一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(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含むアスペルギルス フミガタス(Aspergillus fumigatus)検出用キット。

(e) 配列番号5に記載の塩基配列若しくはその相補配列、又は当該塩基配列若しくはその相補配列に対して70%以上の同一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に記載の塩基配列若しくはその相補配列、又は当該塩基配列若しくはその相補配列に対して70%以上の同一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