

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2014-533111

(P2014-533111A)

(43) 公表日 平成26年12月11日(2014.12.11)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
C 1 2 Q 1/68 (2006.01)	C 1 2 Q 1/68 Z N A A	4 B O 2 4
C 1 2 N 15/09 (2006.01)	C 1 2 N 15/00 A	4 B O 6 3

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 54 頁)

(21) 出願番号	特願2014-541169 (P2014-541169)	(71) 出願人	390023674 イー・アイ・デュポン・ドウ・ヌムール・ アンド・カンパニー E. I. DU PONT DE NEMO URS AND COMPANY アメリカ合衆国、デラウェア州、ウイルミ ントン、マーケット・ストリート 100 7
(86) (22) 出願日	平成24年11月7日 (2012.11.7)	(74) 代理人	100092093 弁理士 辻居 幸一
(85) 翻訳文提出日	平成26年6月23日 (2014.6.23)	(74) 代理人	100082005 弁理士 熊倉 禎男
(86) 国際出願番号	PCT/US2012/063799	(74) 代理人	100084663 弁理士 箱田 篤
(87) 国際公開番号	W02013/070662		
(87) 国際公開日	平成25年5月16日 (2013.5.16)		
(31) 優先権主張番号	61/557,469		
(32) 優先日	平成23年11月9日 (2011.11.9)		
(33) 優先権主張国	米国 (US)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 サルモネラ属の検出のための配列およびその使用

(57) 【要約】

本発明は、核酸配列の存在に基づき試料中のサルモネラ属 (Salmonella) を検出する迅速な方法、特に、PCRベースの検出方法、ならびにそれに有用なオリゴヌクレオチド分子および試薬およびキットに関する。ある実施形態において、本方法は、食物または水試料中のサルモネラ属 (Salmonella) を検出するために用いられる。本発明はさらに、本発明の方法を実施するための単離されたポリヌクレオチド、複製組成物、およびキットに関する。

【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

試料中のサルモネラ属 (*Salmonella*) の存在を検出する方法であって、前記試料は核酸を含み、

(a) 少なくとも 1 つのプライマーおよびプローブを含む反応混合物を提供するステップであって、前記プライマーは少なくとも 11ヌクレオチド長であり、前記プローブは少なくとも 14ヌクレオチド長であり、

(i) 前記プライマーは、配列番号 1 の配列またはそれと相補的な配列にストリンジエントな条件下で選択的にハイブリダイズし得る核酸配列を含み、前記プローブは、配列番号 2 の配列またはそれと相補的な配列にストリンジエントな条件下で選択的にハイブリダイズし得る核酸配列を含む；または

(ii) 前記プライマーは、配列番号 3 の核酸配列またはそれと相補的な配列にストリンジエントな条件下で選択的にハイブリダイズし得る核酸配列を含み、前記プローブは、配列番号 4 の配列またはそれと相補的な配列にストリンジエントな条件下で選択的にハイブリダイズし得る核酸配列を含む、

前記ステップと；

(b) ステップ (a) の反応混合物を使用して前記試料の前記核酸の PCR 増幅を実施するステップと；

(c) ステップ (b) の増幅を検出するステップと

を含む前記方法。

【請求項 2】

反応混合物が、(i) のプライマーおよびプローブならびに (ii) のプライマーおよびプローブの両方を含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

プライマーおよびプローブがそれぞれ、3'末端および5'末端を有し、前記プローブの3'末端が前記プライマーの5'末端に直接または間接的に結合しており、それによりプライマー-プローブ複合体を形成している、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 4】

プライマー-プローブ複合体が検出可能な標識を含む、請求項 3 に記載の方法。

【請求項 5】

配列番号 1 に選択的にハイブリダイズし得るプライマーが配列番号 40 ~ 54 からなる群から選択される核酸配列を含み、配列番号 2 に選択的にハイブリダイズし得るプローブが配列番号 6 ~ 39 からなる群から選択される核酸配列を含む、請求項 1 または 3 に記載の方法。

【請求項 6】

配列番号 3 に選択的にハイブリダイズし得るプライマーが配列番号 95 ~ 111 からなる群から選択される核酸配列を含み、配列番号 4 に選択的にハイブリダイズし得るプローブが配列番号 55 ~ 94 からなる群から選択される核酸配列を含む、請求項 1 または 3 に記載の方法。

【請求項 7】

プライマー-プローブ複合体が5'ステム配列および3'ステム配列をさらに含み、前記5'ステム配列の3'末端が前記プローブの5'末端に直接または間接的に結合しており、前記3'ステム配列の5'末端が前記プローブの3'末端に直接または間接的に結合しており、前記3'ステム配列の3'末端が前記プライマーの5'末端に直接または間接的に結合している、請求項 3 に記載の方法。

【請求項 8】

5'ステム配列が配列番号 112 ~ 119 からなる群から選択される核酸配列を含み、3'ステム配列が配列番号 120 ~ 130 からなる群から選択される核酸配列を含む、請求項 7 に記載の方法。

【請求項 9】

10

20

30

40

50

反応混合物がプローブにストリンジェントな条件下で選択的にハイブリダイズし得るクエンチャーオリゴヌクレオチドをさらに含む、請求項 1 または 3 に記載の方法。

【請求項 10】

配列番号 6 ~ 111 からなる群から選択されるポリヌクレオチド配列を含む単離されたポリヌクレオチド。

【請求項 11】

プライマー - プローブ複合体を含む単離されたポリヌクレオチドであって、前記プライマー - プローブ複合体が核酸プライマー部分および核酸プローブ部分を含み、前記プライマー部分は少なくとも 11 ヌクレオチド長であり、前記プローブ部分は少なくとも 14 ヌクレオチド長であり、前記プローブ部分の 3' 末端は前記プライマー部分の 5' 末端に直接または間接的に結合しており、

10

(i) 前記プライマー部分は配列番号 1 の配列またはそれと相補的な配列にストリンジェントな条件下で選択的にハイブリダイズし得る核酸配列を含み、前記プローブ部分は配列番号 2 の配列またはそれと相補的な配列にストリンジェントな条件下で選択的にハイブリダイズし得る核酸配列を含むか；または

(ii) 前記プライマー部分は配列番号 3 の核酸配列またはそれと相補的な配列にストリンジェントな条件下で選択的にハイブリダイズし得る核酸配列を含み、前記プローブ部分は配列番号 4 の配列またはそれと相補的な配列にストリンジェントな条件下で選択的にハイブリダイズし得る核酸配列を含む、

前記単離されたポリヌクレオチド。

20

【請求項 12】

プライマー部分が配列番号 40 ~ 54 からなる群から選択される核酸配列を含み、プローブ部分が配列番号 6 ~ 39 からなる群から選択される核酸配列を含む、請求項 11 に記載の単離されたポリヌクレオチド。

【請求項 13】

プライマー部分が配列番号 95 ~ 111 からなる群から選択される核酸配列を含み、プローブ部分が配列番号 55 ~ 94 からなる群から選択される核酸配列を含む、請求項 11 に記載の単離されたポリヌクレオチド。

【請求項 14】

プライマー - プローブ複合体が 5' ステム配列および 3' ステム配列をさらに含み、前記 5' ステム配列の 3' 末端が前記プローブ部分の 5' 末端に直接または間接的に結合しており、前記 3' ステム配列の 5' 末端が前記プローブ部分の 3' 末端に直接または間接的に結合しており、前記 3' ステム配列の 3' 末端が前記プライマー部分の 5' 末端に直接または間接的に結合している、請求項 11 に記載の単離されたポリヌクレオチド。

30

【請求項 15】

5' ステム配列が配列番号 112 ~ 119 からなる群から選択される核酸配列を含み、3' ステム配列が配列番号 120 ~ 130 からなる群から選択される核酸配列を含む、請求項 14 に記載の単離されたポリヌクレオチド。

【請求項 16】

請求項 11 に記載の単離されたポリヌクレオチドを含む、試料中のサルモネラ属 (*Salmonella*) の検出のためのキット。

40

【請求項 17】

請求項 11 に記載の単離されたポリヌクレオチドを含む試薬錠剤。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、核酸配列の存在に基づき試料中のサルモネラ属 (*Salmonella*) の迅速な検出方法、特に、PCR ベースの検出方法、ならびにそれに有用なオリゴヌクレオチド分子および試薬およびキットに関する。ある実施形態において、本方法は、食物または水試料中のサルモネラ属 (*Salmonella*) を検出するために用いられる。本発

50

明はさらに、本発明の方法を実施するための単離されたポリヌクレオチド、複製組成物、およびキットに関する。

【背景技術】

【0002】

サルモネラ属 (*Salmonella*) は、多数の疾病、例として、食中毒および腸チフスを引き起こすことが公知であるグラム陰性桿菌の属である。サルモネラ属 (*Salmonella*) 感染は、動物からヒトへ伝播され得、サルモネラ属 (*Salmonella*) により汚染された食物の摂取を介してもたらされ得る。食中毒の原因であるエンテリリディス (*enteritidis*) タイプのサルモネラ属 (*Salmonella*) が関与する感染において、その生物は、典型的には、摂取を介して消化管に入り込む。健康成人においては、サルモネラ属 (*Salmonella*) は、一般に、任意の疾患を引き起こすほど多数で摂取されるはずである。しかしながら、若年幼児においては、比較的少数の細菌の摂取が、この集団の感受性の増加に起因して疾患を引き起こすことが示されている。サルモネラ属 (*Salmonella*) 感染の過程に関して、細菌は、典型的には、感染症状が現れる前日まで潜伏する。その潜伏期後、腸炎が生じ、下痢をもたらす、それは血性であることが多い。症状は、一般に軽度であり、敗血症を伴わないが、敗血症は免疫不全の個体において生じ得る。さらに、サルモネラ髄膜炎は幼児において生じ得る。

10

【発明の概要】

【0003】

試料、例えば、食物または飲料試料中のサルモネラ属 (*Salmonella*) の検出は、一部の感染のその伝達様式および重症度のため、集団の安全性に重要である。したがって、試料中のサルモネラ属 (*Salmonella*) の迅速および正確な検出のための試験を有することが望まれる。

20

【0004】

本発明の一態様は、試料中のサルモネラ属 (*Salmonella*) の存在を検出する方法であって、前記試料は核酸を含み、(a) 少なくとも1つのプライマーおよびプローブを含む反応混合物を提供するステップであって、前記プライマーは少なくとも11ヌクレオチド長であり、前記プローブは少なくとも14ヌクレオチド長であり、(i) 前記プライマーは配列番号1の配列またはそれと相補的な配列にストリンジентな条件下で選択的にハイブリダイズし得る核酸配列を含み、前記プローブは配列番号2の配列またはそれと相補的な配列にストリンジентな条件下で選択的にハイブリダイズし得る核酸配列を含む；または(ii) 前記プライマーは配列番号3の核酸配列またはそれと相補的な配列にストリンジентな条件下で選択的にハイブリダイズし得る核酸配列を含み、前記プローブは配列番号4の配列またはそれと相補的な配列にストリンジентな条件下で選択的にハイブリダイズし得る核酸配列を含む、前記ステップと；(b) ステップ(a)の反応混合物を使用して前記試料の前記核酸のPCR増幅を実施するステップと；(c) ステップ(b)の増幅を検出するステップ、とを含む方法である。

30

【0005】

ある実施形態において、反応混合物は、(i) のプライマーおよびプローブならびに(ii) のプライマーおよびプローブの両方を含む。ある他の実施形態において、プライマーおよびプローブはそれぞれ3'末端および5'末端を有し、前記プローブの3'末端は前記プライマーの5'末端に直接または間接的に結合しており、それによりプライマー-プローブ複合体を形成する。いっそうさらなる実施形態において、プライマー-プローブ複合体は5'ステム配列および3'ステム配列をさらに含み、前記5'ステム配列の3'末端は前記プローブの5'末端に直接または間接的に結合しており、前記3'ステム配列の5'末端は前記プローブの3'末端に直接または間接的に結合しており、前記3'ステム配列の3'末端は前記プライマーの5'末端に直接または間接的に結合している。追加の実施形態において、プライマー-プローブ複合体は、検出可能な標識を含む。さらなる実施形態において、反応混合物は、前記プローブにストリンジентな条件下で選択的にハイブリダイズし得るクエンチャーオリゴヌクレオチドをさらに含む。

40

50

【0006】

ある例において、配列番号1に選択的にハイブリダイズし得るプライマーは配列番号40～54からなる群から選択される核酸配列を含み、配列番号2に選択的にハイブリダイズし得るプローブは配列番号6～39からなる群から選択される核酸配列を含む。他の例において、配列番号3に選択的にハイブリダイズし得るプライマーは配列番号95～111からなる群から選択される核酸配列を含み、前記配列番号4に選択的にハイブリダイズし得るプローブは配列番号55～94からなる群から選択される核酸配列を含む。さらなる例において、5'ステム配列は配列番号112～119からなる群から選択される核酸配列を含み、前記3'ステム配列は配列番号120～130からなる群から選択される核酸配列を含む。

10

【0007】

別の態様において、本発明は、配列番号6～111からなる群から選択されるポリヌクレオチド配列を含む単離されたポリヌクレオチドに関する。他の実施形態において、本発明はプライマー-プローブ複合体を含む単離ポリヌクレオチドであって、前記プライマー-プローブ複合体は核酸プライマー部分および核酸プローブ部分を含み、前記プライマー部分は少なくとも11ヌクレオチド長であり、前記プローブ部分は少なくとも14ヌクレオチド長であり、前記プローブ部分の3'末端は前記プライマー部分の5'末端に直接または間接的に結合しており、(i)前記プライマー部分は配列番号1の配列またはそれと相補的な配列にストリンジентな条件下で選択的にハイブリダイズし得る核酸配列を含み、前記プローブ部分は配列番号2の配列またはそれと相補的な配列にストリンジентな条件下で選択的にハイブリダイズし得る核酸配列を含む；または(ii)前記プライマー部分は配列番号3の核酸配列またはそれと相補的な配列にストリンジентな条件下で選択的にハイブリダイズし得る核酸配列を含み、前記プローブ部分は配列番号4の配列またはそれと相補的な配列にストリンジентな条件下で選択的にハイブリダイズし得る核酸配列を含む単離されたポリヌクレオチドに関する。ある例において、プライマー部分は配列番号40～54からなる群から選択される核酸配列を含み、および/またはプローブ部分は配列番号6～39からなる群から選択される核酸配列を含む。他の例において、プライマー部分は配列番号95～111からなる群から選択される核酸配列を含み、および/またはプローブ部分は配列番号55～94からなる群から選択される核酸配列を含む。

20

【0008】

追加の実施形態において、プライマー-プローブ複合体は5'ステム配列および3'ステム配列をさらに含み、前記5'ステム配列の3'末端は前記プローブ部分の5'末端に直接または間接的に結合しており、前記3'ステム配列の5'末端は前記プローブ部分の3'末端に直接または間接的に結合しており、前記3'ステム配列の3'末端は前記プライマー部分の5'末端に直接または間接的に結合している。ある例において、5'ステム配列は配列番号112～119からなる群から選択される核酸配列を含み、および/または3'ステム配列は配列番号120～130からなる群から選択される核酸配列を含む。

30

別の態様において、本発明は、試料中のサルモネラ属(*Salmonella*)の検出のための試薬錠剤またはキットに関する。

【0009】

配列の要約

配列番号1～5は、試料中のサルモネラ属(*Salmonella*)の存在を検出するために有用なサルモネラ属(*Salmonella*)ゲノムの一部のヌクレオチド配列である。ある例において、配列番号1に対するプライマーは配列番号2に対するプローブとともに使用される。他の例において、配列番号3に対するプライマーは配列番号4または5に対するプローブとともに使用される。ある他の例において、プライマーおよびプローブはプライマー-プローブ複合体を形成するように結合しており、プローブ部分の3'末端はプライマー部分の5'末端に直接または間接的に結合している。配列番号1にストリンジентな条件下で選択的にハイブリダイズし得るプライマーおよび/またはプローブは配列番号40～54を含む。配列番号2にストリンジентな条件下で選択的にハイブ

40

50

リダイズし得るプライマーおよび/またはプローブは配列番号 6 ~ 39 を含む。配列番号 3 にストリンジェントな条件下で選択的にハイブリダイズし得るプライマーおよび/またはプローブは配列番号 95 ~ 111 を含む。配列番号 4 にストリンジェントな条件下で選択的にハイブリダイズし得るプライマーおよび/またはプローブは、配列番号 55 ~ 94 を含む。

【0010】

配列番号 6 ~ 39 は、ストリンジェントな条件下で選択的にハイブリダイズさせ、最終的に配列番号 2 の配列を検出するためのプライマーまたはプローブとして使用することができるヌクレオチド配列である。

配列番号 40 ~ 54 は、ストリンジェントな条件下で選択的にハイブリダイズさせ、最終的に配列番号 1 の配列を検出するためのプライマーまたはプローブとして使用することができるヌクレオチド配列である。

配列番号 55 ~ 94 は、ストリンジェントな条件下で選択的にハイブリダイズさせ、最終的に配列番号 4 の配列を検出するためのプライマーまたはプローブとして使用することができるヌクレオチド配列である、または。

配列番号 95 ~ 111 は、ストリンジェントな条件下で選択的にハイブリダイズさせ、最終的に配列番号 3 の配列を検出するためのプライマーまたはプローブとして使用することができるヌクレオチド配列である。

【0011】

配列番号 112 ~ 119 は、例えば、好適なプローブ配列、例えば、配列番号 6 ~ 39 および 55 ~ 94 により記載されるものとともに 5' ステム配列として使用することができるヌクレオチド配列である。ある例において、5' ステム配列は、5' ステム配列の 3' 末端がプローブ配列の 5' 末端に直接または間接的に結合するようにプローブ配列に直接または間接的に結合している。

配列番号 120 ~ 130 は、例えば、好適なプローブ配列、例えば、配列番号 6 ~ 39 および 55 ~ 94 により記載されるものとともに 3' ステム配列として使用することができるヌクレオチド配列である。ある例において、3' ステム配列は、3' ステム配列の 5' 末端がプローブ配列の 3' 末端に直接または間接的に結合し、前記 3' ステム配列の 3' 末端がプライマー配列の 5' 末端に直接または間接的に結合するようにプローブ配列およびプライマー配列に直接または間接的に結合している。

配列番号 131 は、例えば、陽性対照増幅反応のための標的として有効に用いることができる合成 SV40 (「sSV40」) 配列を含むヌクレオチド配列である。ある実施形態において、この配列は、「添加」対照として使用することができ、配列番号 132 ~ 136 を使用して増幅および検出することができる。

【0012】

配列番号 132 ~ 136 は配列番号 131 の陽性対照配列を増幅および検出するために有用なヌクレオチド配列である。ある実施形態において、配列番号 132 は 5' ステム配列であり、配列番号 133 はプローブ配列であり、配列番号 134 は 3' ステム配列であり、配列番号 135 はフォワードプライマー配列であり、配列番号 136 はリバースプライマー配列である。他の実施形態において、配列番号 132 ~ 135 はステム-ループ構造を形成し得るプライマー-プローブ複合体を形成するように合わさっている。他の実施形態において、そのプライマー-プローブ複合体は配列番号 131 を増幅および検出するためにリバースプライマーとしての配列番号 136 とともにフォワードプライマー/プローブとして使用される。

【図面の簡単な説明】

【0013】

【図 1 A】プライマー-プローブ複合体のプローブ部分、プライマー部分、5' および 3' ステム配列、結合部分、ならびに検出可能な標識の例示的な組合せを示す。

【図 1 B】プライマー-プローブ複合体のプローブ部分、プライマー部分、5' および 3' ステム配列、結合部分、ならびに検出可能な標識の例示的な組合せを示す。

10

20

30

40

50

【図1C】プライマー-プローブ複合体のプローブ部分、プライマー部分、5'および3' ステム配列、結合部分、ならびに検出可能な標識の例示的な組合せを示す。

【発明を実施するための形態】

【0014】

本出願人は、本開示における全ての引用文献の全内容を具体的に取り込む。さらに、量、濃度、または他の値もしくはパラメータが、範囲、好ましい範囲、または好ましい上限値および好ましい下限値の列挙のいずれかとして挙げられる場合、範囲が別個に開示されるかにかかわらず、任意の範囲上限値または好ましい値および任意の範囲下限値または好ましい値の任意のペアから形成される全ての範囲を具体的に開示するものとして理解すべきである。数値の範囲が本明細書に引用される場合、特に記載のない限り、範囲は、その終点、ならびにその範囲内の全ての整数および分数を含むものとする。本発明の範囲は、範囲を定義する場合に引用される具体値に限定されるものではない。

10

【0015】

定義

本開示において、多数の用語および略語が使用される。以下の定義が提供される。

本明細書において使用される用語「約」または「およそ」は、所与の値または範囲の20%以内、好ましくは、10%以内、より好ましくは、5%以内を意味する。

用語「含む」は、用語「から本質的になる」および「からなる」により包含される実施形態を含むものとする。同様に、用語「から本質的になる」は、用語「からなる」により包含される実施形態を含むものとする。

20

PCRは「ポリメラーゼ連鎖反応」の略語である。

【0016】

用語「単離された」は材料について言及するものであり、通常、天然環境中でその材料に付随しまたはそれと相互作用する成分を実質的に含まない、または天然環境中でその材料に付随しまたはそれと相互作用する成分から取り出された材料、例えば、核酸分子存在している宿主細胞から精製することができる。当業者に公知の慣用の核酸精製法を使用して単離されたポリヌクレオチドを得ることができる。この用語は組換えポリヌクレオチドおよび化学合成ポリヌクレオチドも包含する。

用語「ポリヌクレオチド」、「ポリヌクレオチド配列」、「核酸配列」、「核酸断片」、および「オリゴヌクレオチド」は、本明細書において互換的に使用される。これらの用語は、ヌクレオチド配列などを包含する。ポリヌクレオチドは、合成、非天然、または変化したヌクレオチド塩基を含有してもよい一本鎖または二本鎖であるRNAまたはDNAのポリマーであり得る。DNAのポリマーの形態のポリヌクレオチドは、cDNA、ゲノムDNA、合成DNAの1つまたは複数の鎖、またはそれらの混合物からなっていてよい。

30

【0017】

用語「増幅産物」または「アンプリコン」は、プライマー指向増幅反応の間に産生される核酸断片を指す。典型的なプライマー指向増幅の方法には、ポリメラーゼ連鎖反応(PCR)、リガーゼ連鎖反応(LCR)、または鎖置換増幅(SDA)、が含まれる。PCR法が選択される場合、複製組成物は典型的には、核酸複製のための成分、例えば：デオキシヌクレオチド三リン酸、適切な配列を有する2つ(以上)のプライマーまたはプライマー-プローブ複合体、耐熱性ポリメラーゼ、緩衝液、溶質およびタンパク質を含み得る。これらの試薬および核酸の増幅におけるそれらの使用についての手順を説明する詳細は、米国特許第4,683,202号明細書(1987, Mullis, et al.)および米国特許第4,683,195号明細書(1986, Mullis, et al.)に提供されている。LCR法が選択される場合、核酸複製組成物は、例えば：耐熱性リガーゼ(例えば、テルムス・アクアチクス(Thermus aquaticus)リガーゼ)、2組の隣接オリゴヌクレオチド(それぞれの組のうち一方のメンバーは、標的鎖のそれぞれと相補的である)、Tris-HCl緩衝液、KCl、EDTA、NAD、ジチオスレイトール、およびサケ精子DNAを含み得る。例えば、Tabor et al.

40

50

, Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A., 82: 1074 - 1078 (1985) 参照。

【0018】

用語「プライマー」は、相補鎖の合成がポリメラーゼにより触媒される条件下に置かれた場合、相補鎖に沿っての核酸合成または複製の開始点として作用し得るオリゴヌクレオチド（合成または天然）を指す。プライマーは、検出可能な標識、例えば、5'末端標識をさらに含有し得る。ある実施形態において、本発明のプライマーは、8~60核酸長である。他の実施形態において、プライマーは、10~50、14~40、または20~30核酸長である。ある具体的な実施形態において、プライマーは、少なくとも10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、または30ヌクレオチド長である。

10

用語「プローブ」は、目的のポリヌクレオチドと相補的（必ずしも完全に相補的である必要はない）であり、目的のポリヌクレオチドの少なくとも一方の鎖とのハイブリダイゼーションにより二本鎖構造を形成するオリゴヌクレオチド（合成または天然）を指す。プローブまたはプライマー-プローブ複合体は、検出可能な標識をさらに含有し得る。ある実施形態において、本発明のプローブは、8~60核酸長である。他の実施形態において、プローブは、10~50、14~40、または20~30核酸長である。特定の実施形態において、プローブは、少なくとも約10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、または30ヌクレオチド長である。

20

【0019】

プローブは、独立した実体であるか、またはプライマーと複合体化もしくはそうでなければプライマーに結合してよく、例えば、プローブはその3'末端を介してプライマーの5'末端に直接または間接的に連結される。一部の例において、プローブおよびプライマーは、ヌクレオチドまたは非ヌクレオチドリンカーであってよく、非増幅性リンカーであり得るリンカー、例えば、ヘキサエチレングリコール（HEG）または18炭素リンカーを介して結合している。このような場合、これは「プライマー-プローブ複合体」と称される。このようなプライマー-プローブ複合体の一例は、参照により全体として本明細書に組み込まれる米国特許第6,326,145号明細書に見出すことができ、それは「Scorpionプローブ」または「Scorpionプライマー」と称されることが多い。典型的なプライマー-プローブ複合体において、プライマー部分は、例えば、少なくとも10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、または30ヌクレオチド長であり得る一方、プローブ部分は、例えば、少なくとも10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、または30ヌクレオチド長であり得る。

30

【0020】

本明細書において使用される用語「標識」および「検出可能な標識」は、検出することができる分子、例として、限定されるものではないが、放射性同位体、蛍光体（fluorescer）、化学発光体（chemiluminescer）、酵素、酵素基質、酵素補因子、酵素インヒビター、発色団、色素、金属イオン、金属ゾル、半導体ナノ結晶、リガンド（例えば、ビオチン、アビジン、ストレプトアビジン、またはハプテン）などを指す。検出可能な標識には、レポーターおよびクエンチャーの組合せも含まれ得る。

40

用語「レポーター」は、クエンチャーにより抑制することができる検出可能なシグナルを示し得る物質またはその一部を指す。レポーターの検出可能なシグナルは、例えば、検出可能な範囲の蛍光である。用語「クエンチャー」は、レポーターにより産生される検出可能なシグナルを抑制し、低減させ、阻害などし得る物質またはその一部を指す。

本明細書において使用される用語「クエンチング」および「蛍光エネルギー移動」は、レポーターおよびクエンチャーが接近しており、レポーターがエネルギー源により励起される場合、励起状態のエネルギーの実質的な部分は非放射的に（nonradiativ

50

e l y) クエンチャーに移動し、それは非放射的に消失しまたはレポーターのそれとは異なる発光波長において放出されるプロセスを指す。

【0021】

好ましくは、レポーターは、オリゴヌクレオチドへの、例えば、末端3'炭素または末端5'炭素への結合に好適な連結基により修飾された蛍光性有機色素から選択することができる。クエンチャーも、本発明の実施形態に応じて、有機色素（蛍光性であってもなくてもよい）から選択することができる。一般に、クエンチャーが蛍光性でありまたはレポーターからの移動されたエネルギーを非放射崩壊により単に放出するかに関わらず、クエンチャーの吸収バンドは、クエンチングを最適化するためにレポーターの蛍光発光バンドと少なくとも実質的に重複するべきである。非蛍光性クエンチャーまたはダーククエンチャーは、典型的には、励起されたレポーターからのエネルギーを吸収することにより機能するが、エネルギーを発光により放出しない。

特定のプローブに適切なレポーター-クエンチャーペアの選択は、公知の技術に従って行うことができる。蛍光性およびダーククエンチャー、ならびに例示的なレポーター-クエンチャーペアを選択することができるそれらの関連する光学特性は、例えば、Berlman, Handbook of Fluorescence Spectra of Aromatic Molecules, 2nd ed., Academic Press, New York, 1971に列挙および記載されており、この内容は参照により本明細書に組み込まれる。本発明におけるオリゴヌクレオチドに付加することができる一般的な反応基を介する共有結合のためにレポーターおよびクエンチャーを修飾する例は、例えば、Haugland, Handbook of Fluorescent Probes and Research Chemicals, Molecular Probes of Eugene, Oreg., 1992に見出すことができ、この内容は参照により本明細書に組み込まれる。

【0022】

好ましいレポーター-クエンチャーペアは、キサンテン色素、例としてフルオレセインおよびローダミン色素から選択することができる。これらの化合物の多くの好適な形態は、オリゴヌクレオチドへの結合のための結合部位としてまたは結合官能基として使用することができるフェニル基上の置換基とともに市販されている。レポーターとしての使用のための蛍光性化合物の別の好ましい群は、または位にアミノ基を有するナフチルアミンである。このようなナフチルアミノ化合物の中には、1-ジメチルアミノナフチル-5スルホネート、1-アニリノ-8-ナフタレンスルホネートおよび2-p-トルイジニル-6-ナフタレンスルホネートが含まれる。他の色素には、3-フェニル-7-イソシアナトクマリン；アクリジン、例えば、9-イソチオシアナトアクリジン；N-(p-(2-ベンゾオキサゾール)フェニル)マレイミド；ベンゾオキサジアゾール；スチルベン；ピレンなどが含まれる。

最も好ましくは、レポーターおよびクエンチャーは、フルオレセインおよびローダミン色素から選択される。これらの色素およびオリゴヌクレオチドへの結合のための適切な連結法は、当分野において周知である。

クエンチャーの好適な例は、6-カルボキシ-テトラメチル-ローダミン、4-(4-ジメチルアミノフェニルアゾ)安息香酸(DABYL)、テトラメチルローダミン(TAMRA)、それぞれがBiosearch Technologies, Inc. of Novato, Calif.から入手可能であるBHQ-0(商標)、BHQ-1(商標)、BHQ-2(商標)、およびBHQ-3(商標)、それぞれがMolecular Probes, Inc.から入手可能であるQSY-7(商標)、QSY-9(商標)、QSY-21(商標)およびQSY-35(商標)などから選択することができる。

【0023】

レポーターの好適な例は、色素、例えば、SYBRグリーン、5-カルボキシフルオレセイン(Applied Biosystems of Foster City, Calif.から入手可能な5-FAM(商標))、6-カルボキシフルオレセイン(6-F

10

20

30

40

50

AM)、テトラクロロ-6-カルボキシフルオレセイン(TET)、2,7-ジメトキシ-4,5-ジクロロ-6-カルボキシフルオレセイン(HEX)、6-カルボキシ-2',4,7,7'-テトラクロロフルオレセイン(Applied Biosystemsから入手可能な6-TET(商標))、カルボキシ-X-ローダミン(ROX)、6-カルボキシ-4',5'-ジクロロ-2',7'-ジメトキシフルオレセイン(Applied Biosystemsから入手可能な6-JOE(商標))、Molecular Probes, Inc.から入手可能なVIC(商標)色素製品、Applied Biosystemsから入手可能な入手可能なNED(商標)色素製品などから選択することができる。

【0024】

レポーターおよびクエンチャーを含有するプローブの一例は、単分子または二分子立体構造のいずれかのスコピオン(Scorpion)プローブである。単分子Scorpionにおいて、プライマー-プローブ複合体のプローブ部分は、プローブがその標的DNAから解離した場合、プローブがステム-ループ構造を形成することを可能にする、自己相補的領域によりフランキンクされている。ある実施形態において、これらは、プローブの5'末端に結合している3'末端を有する5'ステム配列、およびプローブの3'末端に結合している5'末端およびプライマーに結合している3'末端を有する3'ステム配列と称される。これらの結合は、直接的または例えばリンカーを介して間接的のいずれかであり得る。さらに、単分子Scorpionにおいて、レポーターは、典型的には、自己相補的領域の一方またはその付近において、例えば、Scorpionプローブの5'末端において結合しており、クエンチャーは、他方の自己相補的領域またはその付近において、例えば、非増幅性リンカーの5'に接して結合しており、その結果、クエンチャーは、プローブがステム-ループ構造をとっている場合、クエンチングを引き起こすために十分にレポーターに接近している。二分子Scorpionにおいて、自己相補的フランキンク領域が典型的には用いられるのではなく、むしろ別個の「ブロッキングオリゴヌクレオチド」または「クエンチングオリゴヌクレオチド」がScorpionプローブとともに用いられる。このブロッキングオリゴヌクレオチドは、プローブがその標的DNAから解離した場合、Scorpionプローブのプローブ領域へハイブリダイズし得る。さらに、二分子Scorpionにおいて、レポーターは、典型的には、Scorpionプローブのプローブ領域に、例えば、Scorpionプローブの5'末端において結合している一方、クエンチャーは、ブロッキングオリゴヌクレオチドに、例えば、ブロッキングオリゴヌクレオチドの3'末端において結合しており、その結果、クエンチャーは、プローブがその標的DNAから解離して代わりにブロッキングオリゴヌクレオチドへハイブリダイズした場合にクエンチングを引き起こすために十分なほどレポーターに接近している。

【0025】

レポーターおよびクエンチャーを含有するプローブの別の例は、5'-エキソヌクレアーゼアッセイ、例えば、TaqMan(登録商標)リアルタイムPCR技術において使用することができるプローブである。この文脈において、オリゴヌクレオチドプローブは、その5'末端に隣接する十分な数のホスホジエステル結合を有し、その結果、用いられる5'-3'ヌクレアーゼ活性が結合プローブを効率的に分解してレポーターおよびクエンチャーを分離させ得る。レポーターおよびクエンチャーを含有するプローブのさらに別の例は、Molecular Beacon型プローブであり、これは、標的配列から解離した場合、プローブがステム-ループ構造を形成することを可能にする自己相補的領域によりフランキンクされたプローブ領域を含有する。このようなプローブは、典型的には、一方の末端またはその付近において結合しているレポーターおよび他方の末端またはその付近において結合しているクエンチャーを有し、その結果、クエンチャーは、プローブが非結合形態、したがってステム-ループ形態である場合、クエンチングを引き起こすために十分にレポーターに接近している。

【0026】

10

20

30

40

50

用語「複製インヒビター部分」は、核酸鎖の複製のための鎖伸長の開始をブロックするオリゴヌクレオチドの3'末端ヒドロキシル基に結合している任意の原子、分子または化学基を指す。例には、限定されるものではないが：3'-デオキシヌクレオチド（例えば、コルジセピン）、ジデオキシヌクレオチド、ホスフェート、リガンド（例えば、ピオチンおよびジニトロフェノール）、レポーター分子（例えば、フルオレセインおよびローダミン）、炭素鎖（例えば、プロパノール）、ミスマッチヌクレオチドもしくはポリヌクレオチド、またはペプチド核酸単位が含まれる。用語「非関与」は、核酸分子の増幅についての反応におけるプローブまたはプライマーの関与の欠如を指す。具体的には、非関与プローブまたはプライマーは、DNAポリメラーゼについての基質としてもRNAポリメラーゼについての基質としても機能せずまたはDNAポリメラーゼによってもRNAポリメラーゼによっても伸長されないものである。「非関与プローブ」は、本質的にポリメラーゼにより鎖伸長され得ない。非関与プローブは、複製インヒビター部分を有しても有さなくてもよい。

【0027】

核酸分子は、核酸分子の一本鎖形態が温度および溶液イオン強度の適切な条件下で他の核酸分子にアニールし得る場合、別の核酸分子、例えば、cDNA、ゲノムDNA、またはRNAに「ハイブリダイズ可能」という。ハイブリダイゼーションおよび洗浄条件は、周知であり、例えば、Sambrook, J., Fritsch, E. F. and Maniatis, T., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 2nd ed., Cold Spring Harbor Laboratory: Cold Spring Harbor, NY (1989)、特に第11章およびその中の表11.1（参照により本明細書に完全に組み込まれる）に例示されている。温度およびイオン強度の条件がハイブリダイゼーションの「ストリンジェンシー」を決定する。相同核酸についての予備スクリーニングについて、55のT_mに対応する低ストリンジェンシーハイブリダイゼーション条件を使用することができ、例えば、5×SSC、0.1%のSDS、0.25%のミルク、およびホルムアミド無し；または30%のホルムアミド、5×SSC、0.5%のSDS。中程度のストリンジェンシーハイブリダイゼーション条件は、より高いT_m、例えば、40%のホルムアミド、5×または6×SSCに対応する。ハイブリダイゼーションは、2つの核酸が相補的配列を含有することを必要とするが、ハイブリダイゼーションのストリンジェンシーに応じて塩基間のミスマッチがあり得る。核酸をハイブリダイズさせるための適切なストリンジェンシーは、核酸の長さおよび相補性の程度、当分野において周知の変数に依存する。2つのヌクレオチド配列間の類似性または相同性の程度が高いほど、それらの配列を有する核酸のハイブリッドについてのT_mの値は大きくなる。核酸ハイブリダイゼーションの相対的安定性（より高いT_mに対応する）は、以下の順序で減少する：RNA：RNA、DNA：RNA、DNA：DNA。100ヌクレオチド長を超えるハイブリッドについて、T_mを計算するための公式が導かれた（Sambrook et al., 前掲, 9.50 - 9.51 参照）。より短い核酸、すなわち、オリゴヌクレオチドを用いるハイブリダイゼーションについて、ミスマッチの位置はより重要となり、オリゴヌクレオチドの長さはその特異性を決定する（Sambrook et al., 前掲, 11.7 - 11.8 参照）。1つの好ましい実施形態において、ハイブリダイズ可能な核酸についての長さは少なくとも約10ヌクレオチドである。より好ましくは、ハイブリダイズ可能な核酸についての最小の長さは少なくとも約11ヌクレオチド、少なくとも約12ヌクレオチド、少なくとも約13ヌクレオチド、少なくとも約14ヌクレオチド、少なくとも約15ヌクレオチド、少なくとも約16ヌクレオチド、少なくとも約17ヌクレオチド、少なくとも約18ヌクレオチド、少なくとも約19ヌクレオチド、少なくとも約20ヌクレオチド、少なくとも約21ヌクレオチド、少なくとも約22ヌクレオチド、少なくとも約23ヌクレオチド、少なくとも約24ヌクレオチド、少なくとも約25ヌクレオチド、少なくとも約26ヌクレオチド、少なくとも約27ヌクレオチド、少なくとも約28ヌクレオチド、少なくとも約29ヌクレオチド、または最も好ましくは、少なくとも約30ヌクレオチドである。さらに、当業

10

20

30

40

50

者は、温度および洗浄溶液塩濃度を因子、例えば、プローブの長さに従って必要に応じて調節することができることを認識する。

【0028】

ある実施形態において、プライマープローブは、選択的（例えば、ストリンジェントな）ハイブリダイゼーション条件下で標的核酸配列に選択的にハイブリダイズし得る。用語「選択的にハイブリダイズする」には、非標的核酸配列へのハイブリダイゼーションよりも検出可能に大きい程度（例えば、バックグラウンドと比べて少なくとも2倍）での、ストリンジェントなハイブリダイゼーション条件下での、核酸配列の規定核酸標的配列へのハイブリダイゼーションおよび非標的核酸の実質的排除への言及が含まれる。選択的にハイブリダイズする核酸配列は、典型的には、互いに少なくとも約70%の配列同一性、好ましくは、少なくとも80%の配列同一性、最も好ましくは、90%、95%、97%、99%、または100%の配列同一性を有する。

本明細書において使用される標準的な組換えDNAおよび分子クローニング技術は、当分野において周知であり、例えば、Sambrook et al.（前掲）；およびGreene Publishing Assoc. and Wiley-Interscienceにより出版されたAusubel, F.M. et al., Current Protocols in Molecular Biology (1987)により記載されている。

【0029】

オリゴヌクレオチド

1つまたは複数の標的核酸配列を検出することにより試料中のサルモネラ属（Salmonella）菌を検出する方法を開発した。ある実施形態において、本方法は、単離されたポリヌクレオチドならびに/またはプライマーおよびプローブを含む反応混合物を用い、（i）プライマーは配列番号1またはそれと相補的な配列にストリンジェントな条件下で選択的にハイブリダイズすることができ、プローブは配列番号2またはそれと相補的な配列にストリンジェントな条件下で選択的にハイブリダイズすることができ；または（ii）プライマーは配列番号3またはそれと相補的な配列にストリンジェントな条件下で選択的にハイブリダイズすることができ、プローブは配列番号4またはそれと相補的な配列にストリンジェントな条件下で選択的にハイブリダイズすることができる。一部の実施形態において、配列番号1に選択的にハイブリダイズし得るプローブは配列番号40～54を含む。他の実施形態において、配列番号2に選択的にハイブリダイズし得るプライマーは配列番号6～39を含む。さらなる実施形態において、配列番号3に選択的にハイブリダイズし得るプローブは配列番号95～111を含む。いっそうさらなる実施形態において、配列番号4に選択的にハイブリダイズし得るプライマーは配列番号55～94を含む。

【0030】

一部の実施形態において、プライマーおよびプローブは直接または間接的に結合しており、それによりプライマー-プローブ複合体を形成する。一部の例において、プライマー-プローブ複合体はプローブの3'末端をプライマーの5'末端に直接または間接的に結合させることにより形成される。本発明のこれらのプライマー-プローブ複合体は、プローブ領域の3'末端をプライマー領域の5'末端に連結する非増幅性リンカーも含有し得る。この非増幅性リンカーは相補鎖の伸長がプライマー-プローブ複合体のプローブ領域中に進行することを停止させる。このような非増幅性結合の例には、ヘキサエチレングリコール（HEG）および好ましくは、18炭素リンカーが含まれる。

本発明のプライマー-プローブ複合体は、プローブがその標的DNAから解離した場合、プライマー-プローブ複合体がステム-ループ構造を形成することを可能とする3'ステム配列および5'ステム配列を含む自己相補的領域も含有してもよく、これは、例えば、レポーターシグナルをクエンチさせるために十分に互いにレポーターおよびクエンチャーを接近させることにおいて有用であり得る。一部の実施形態において、5'ステム配列は配列番号112～119のものであり、3'ステム配列は配列番号120～130のも

のである。

【0031】

追加の実施形態において、プライマー、プローブ、またはプライマー-プローブ複合体は、検出可能な標識、例えば、5'末端標識またはレポーター-クエンチャーペアをさらに含む。一部の例において、クエンチャーオリゴヌクレオチドは、プローブまたはプライマー-プローブ複合体とともに用いることができ、そのクエンチャーオリゴヌクレオチドは、プローブがその標的DNAから解離した場合、プローブまたはプライマー-プローブ複合体のプローブ領域にハイブリダイズし得る。レポーターがプローブまたはプライマー-プローブ複合体に結合しており、クエンチャーがブロックオリゴヌクレオチドに結合している場合、これは、クエンチングを生じさせるために十分に互いにレポーターおよびクエンチャーを接近させ得る。

10

ある実施形態において、プライマーまたはプライマー-プローブ複合体は、リバープライマーとともに使用される。いっそうさらなる実施形態において、このような2つのプライマー-プローブ複合体は、一方をフォワードプライマー-プローブ複合体として、他方をリバープライマー-プローブ複合体として用いられる。プローブ部分、プライマー部分、5'および3'ステム配列、結合部分、ならびに検出可能な標識の例示的な組合せを図1A~1Cに提供する。

【0032】

これらのプライマー-プローブ複合体は、PCRにおけるその有用性に加え、他の核酸増幅法、例えば、リガーゼ連鎖反応(LCR)(Backman et al., 1989、欧州特許第0320308号明細書; Carrino et al., 1995, J. Microbiol. Methods 23:3-20); 核酸配列ベース増幅(NASBA)、(Carrino et al., 1995, 前掲); および自家持続配列複製(3SR)および「Qレプリカーゼ増幅」(Pfeffer et al., 1995 Veterinary Res. Comm. 19:375-407)にも有用であり得る。

20

さらに、本発明のオリゴヌクレオチドは、ハイブリダイゼーションプローブとして使用することもできる。DNAプローブを使用するハイブリダイゼーションは、食物、臨床および環境試料中の病原菌の検出に使用されることが多く、方法は、一般に当業者に公知である。プローブハイブリダイゼーションの感度および特異性の程度は、既に記載された増幅技術を介して達成されるものよりも低いことが一般に認識されている。

30

【0033】

アッセイ方法

選択遺伝子標的の検出、および後続の試料中のサルモネラ属(*Salmonella*)の存在の検出は、任意の好適な様式で達成することができる。好ましい方法は、プライマー指向増幅法および核酸ハイブリダイゼーション法である。これらの方法は、例えば、汚染が疑われる動物、環境、または食物供給源からの複雑なマトリックスまたは精製培養物のいずれかである試料中のサルモネラ属(*Salmonella*)を検出するために使用することができる。

本発明の好ましい実施形態は、(1)非選択的増殖培地において複合試料混合物を培養して標的細菌を活性化させること、(2)標的細菌全DNAを放出させること、ならびに(3)本発明のプライマーおよびプローブ、またはプライマー-プローブ複合体、ならびに本発明のリバープライマー、または2つのプライマー-プローブ複合体(一方はフォワードプライマーとして作用し、第2のものはリバープライマーとして作用する)を用いての、増幅プロトコルに全DNAを供することを含む。

40

【0034】

プライマー指向増幅アッセイ方法

本発明において用いることができる種々のプライマー指向核酸増幅法、例として、熱サイクル法(例えば、PCR、RT-PCR、およびLCR)、ならびに等温法および鎖置換増幅(SDA)が当分野において公知である。好ましい方法はPCRである。1つの好

50

ましい実施形態において、図1A～1Cに記載のプライマー-プローブ複合体を、標的核酸の検出、および最終的にはサルモネラ属 (*Salmonella*) の検出のためのプライマー指向核酸増幅における使用のためのプライマーとして使用することができる。

【0035】

試料調製：

本発明によるオリゴヌクレオチドおよび方法は、いかなる試料調製も必要とせず、任意の好適な臨床または環境試料を用いて直接使用することができる。より高い感度を達成するため、および時間が制限因子ではない状況において、試料を前処理し、プレ増幅濃縮を実施することが好ましい。

食物経路細菌病原体の検出についての最低業界基準は、Andrews et al., 1984, "Food Sample and Preparation of Sample Homogenate", Chapter 1 in Bacteriological Analytical Manual, 8th Edition, Revision A, Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VAに記載されるように、食物マトリックス25g中1つの病原体細胞の存在を確実に検出する方法である。このストリンジентな基準を満たすため、生化学的、標的病原体細胞の増殖を向上させて免疫学的または核酸ハイブリダイゼーション手段によるその検出を容易にするための濃縮法および培地が開発されている。典型的な濃縮手順は、標的細菌の増殖および健康を向上させ、さらには存在する任意のバックグラウンドまたは非標的微生物の増殖を阻害する培地を用いる。例えば、USDAは、病原性大腸菌 (*E. coli*) について検査すべき牛挽肉の試料の濃縮のためのプロトコルを記載している (米国食品医薬品局 (U.S. Food and Drug Administration)、Bacterial Analytical Manual)。

【0036】

種々の細菌病原体についての選択培地が開発されており、当業者は、濃縮すべき特定の生物に適切な培地を選択することを把握する。非選択的培地の全般的な議論およびレシピは、Association of Analytical Chemists, Suite 400, 2200 Wilson Blvd, Arlington, VA 22201-3301により出版および配布されたFDA Bacteriological Analytical Manual (1998)に記載されている。

選択的増殖後、複雑な混合物の試料をさらなる分析のために取り出す。このサンプリング手順は当業者に周知の種々の手段により達成することができる。好ましい実施形態において、5 μ lの濃縮培養物を取り出し、プロテアーゼを含有する200 μ lの溶解溶液に添加する。BAX (登録商標) System User's Guide, DuPont Qualicon, Inc., Wilmington, DEに記載されるとおり、溶解溶液を37 $^{\circ}$ Cにおいて20分間加熱し、次いで95 $^{\circ}$ Cにおいて10分間プロテアーゼ不活性化を行う。

【0037】

PCRアッセイ方法：

試料中の本発明の標的核酸および後続のサルモネラ属 (*Salmonella*) の存在を検出する好ましい方法は、(a)本発明のプライマーおよびプローブ、またはプライマー-プローブ複合体、例えば、図1A～1Cに記載のもの、ならびに好適なりバースプライマーを使用してPCR増幅を実施すること；および(b)増幅を検出し、それにより増幅の陽性検出が試料中のサルモネラ属 (*Salmonella*) の存在を示すことを含む。別の実施形態において、PCR増幅は、一方のプライマー-プローブ複合体がフォワードプライマーとして作用し、第2のプライマー-プローブ複合体がリバースプライマーとして作用するように十分離れたプライマー結合領域を有する本発明の2つの異なるプライマー-プローブ複合体を使用して実施される。図1A～1Cによれば、このようなフォワード作用プライマー-プローブ複合体の例には、S35C610-1、S35C610-

2、S35C610-2a、S35C610-3a、S35C610-3a、S35C610-3a、S35C610-3a、S35C610-3b、S35C610-4b、S35C610-5b、S35FAM-3a、S35Q670-2a、S35TEX1、S35TEX1a、S35TEX2、S35TEX2、S35TEX2b、S35TEX2c、S35TEX3、S35TEX3a、S35TEX3a、S35TEX-3a、およびSB35C610が含まれる一方、このようなリバー作用プライマー-プローブ複合体の例には、S761aC610-4d、S761bC610-4g、S761bC610-5g、S761C610-3、S761C610-3a、S761C610-3b、S761C610-3c、S761C610-4c、S761C610-4d、S761C610-4e、S761C610-4f、S761C610-4g、S761C610-5f、S761C610-5g、SB761C610、およびSB761C610-gが含まれる。

別の好ましい実施形態において、PCR増幅を実施する前、試料を調製するステップを実施することができる。調製ステップは、以下のプロセスの少なくとも1つを含み得る：(1)細菌濃縮、(2)試料からの細菌細胞の分離、(3)細胞溶解、および(4)全DNA抽出。

【0038】

増幅条件：

当業者は、任意の一般に許容可能なPCR条件を、本発明のオリゴヌクレオチドを使用して、核酸標的および標的サルモネラ属(*Salmonella*)菌を良好に検出するために使用することができ、試験すべき試料および他の実験室条件に応じて、PCR条件についての定型的な最適化が、最適な感度および特異性を達成するために必要であり得ることを理解する。

検出/検査/分析：

本発明の方法により産生されたプライマー指向増幅産物は種々の方法を使用して分析することができる。均質検出は、テンプレートまたはプライマーからの増幅産物の(例えば、ゲル電気泳動による)分離が必要でない、増幅産物の検出の好ましい方法を指す。均質検出は、典型的には、増幅の間またはその直後に反応混合物の蛍光のレベルを計測することにより通常達成される。さらに、検出の間または前に増幅産物の分離を含む不均質検出法を本発明において用いることができる。

【0039】

均質検出は、本発明のプライマー-プローブ複合体を使用して「リアルタイム」プライマー指向核酸増幅および検出を実施するために用いることができる(例えば、「リアルタイム」PCRおよび「リアルタイム」RT-PCR)。特に好ましい「リアルタイム」検出法は、米国特許第6,326,145号明細書に記載されるようなScorpionプローブアッセイであり、これは参照により全体として本明細書に組み込まれる。Scorpionプローブアッセイにおいて、PCR増幅は、プライマー-プローブ複合体としてScorpionプローブ(単分子または二分子のいずれか)を使用して実施され、Scorpionプローブは、レポーターの検出可能なシグナルがプライマーの伸長前にクエンチされることを可能にする適切なレポーター-クエンチャーペアを有する。伸長後、クエンチング効果は排除され、存在するシグナルの量が定量化される。増幅産物の量が増加するにつれて、検出可能なシグナルの等価な増加が観察され、したがって、存在する増幅産物の量を、計測される検出可能なシグナルの量の関数として測定することが可能となる。2つ以上のScorpionプローブが本発明のScorpionプローブアッセイにおいて用いられる場合、それぞれのプローブは、結合している同一の検出可能な標識または結合している異なる検出可能な標識を有してもよく、したがって、それぞれのプローブを他のプローブと独立して検出することが可能となる。

【0040】

別の好ましい「リアルタイム」検出法は、米国特許第5,804,375号明細書、米国特許第5,538,848号明細書、米国特許第5,487,972号明細書、および

米国特許第5,210,015号明細書に記載されるような、5'-エキソヌクレアーゼ検出法であり、これらのそれぞれは参照により全体として本明細書に組み込まれる。5'-エキソヌクレアーゼ検出アッセイにおいて増幅プライマーペアの2つのメンバーの間(intermediate to)またはその間で結合する改変プローブがPCRの間に用いられる。改変プローブは、レポーターおよびクエンチャーを有し、PCRの間にそれが標的核酸配列とハイブリダイズしたことを示すための検出可能なシグナルを生成するように設計される。レポーターおよびクエンチャーの両方がプローブ上に存在する限り、クエンチャーはレポーターが検出可能なシグナルを放出することを停止させる。しかしながら、ポリメラーゼが増幅の間プライマーを伸長するにつれて、ポリメラーゼの内因性5'-3'ヌクレアーゼ活性はプローブを分解し、クエンチャーからレポーターを分離し、検出可能なシグナルが放出されることが可能となる。一般に、増幅サイクルの間に生成される検出可能なシグナルの量は、それぞれのサイクルにおいて生成される生成物の量に比例する。

10

20

30

40

50

【0041】

クエンチングの効率はレポーターおよびクエンチャーの近さの強い関数であること、すなわち、2つの分子がより接近するほど、クエンチング効率は増加することが周知である。クエンチングはレポーターおよびクエンチャーの物理的近接に強く依存するため、レポーターおよびクエンチャーは、好ましくは、互いの数個のヌクレオチド以内に、通常、互いの30ヌクレオチド以内に、より好ましくは約6から16ヌクレオチド離れてプローブに結合している。典型的には、この分離は、レポーター-クエンチャーペアの一方のメンバーをプローブの5'末端に他方のメンバーを約6から16ヌクレオチド離れたヌクレオチドに結合することにより達成される。

さらに、2つ以上のTaqMan(登録商標)プローブ、例えば、配列番号686~696の2つ以上に対するものが本発明の5'-エキソヌクレアーゼ検出アッセイにおいて用いられる場合、それぞれのプローブは、結合している異なる検出可能な標識(例えば、レポーター-クエンチャーペア)を有してよく、したがって、それぞれのプローブが他のプローブと独立して検出されることが可能となる。

均質検出法に加えて、本発明において用いることができる種々の他の不均質検出法、例として、標準非変性ゲル電気泳動(例えば、アクリルアミドまたはアガロース)、変性剤濃度勾配ゲル電気泳動、および温度勾配ゲル電気泳動が当分野において公知である。標準非変性ゲル電気泳動は、簡易で迅速なPCR検出法であるが、全ての用途に好適ではない場合がある。

【0042】

装置類:

均質検出が用いられる場合、蛍光のレベルは、好ましくはレーザー蛍光光度計、例えば、ABI Prism Model 7500 Fast Sequence Detectorなどを使用して測定される。しかしながら、試料中の蛍光のレベルを計測するための同様の検出システムが本発明に含まれる。

【0043】

試薬およびキット:

任意の形式の任意の好適な核酸複製組成物(「複製組成物」)を使用することができる。PCR増幅のための典型的な複製組成物は、例えば、dATP、dCTP、dGTP、およびdTTP、標的的特異的プライマー、プローブ、またはプライマー-プローブ複合体および好適なポリメラーゼを含み得る。

複製組成物が液体形態である場合、当分野において公知の好適な緩衝液を使用することができる(Sambrook, J. et al., 前掲)。

あるいは、複製組成物が錠剤形態で含有される場合、典型的な錠剤化試薬、例えば、安定剤および結合剤を含めることができる。好ましい錠剤化技術は、米国特許第4,762,857号明細書および米国特許第4,678,812号明細書に記載されており、これらのそれぞれは参照により全体として本明細書に組み込まれる。

【 0 0 4 4 】

ある実施形態において、本発明の複製組成物は、少なくとも1つのプライマーおよびプローブならびに耐熱性DNAポリメラーゼを含み、プライマーは少なくとも10ヌクレオチド長であり、プローブは少なくとも10ヌクレオチド長であり、(i)プライマーは、配列番号1の配列またはそれと相補的な配列にストリンジェントな条件下で選択的にハイブリダイズし得る核酸配列を含み、プローブは、配列番号2の配列またはそれと相補的な配列にストリンジェントな条件下で選択的にハイブリダイズし得る核酸配列を含み；または(ii)プライマーは、配列番号3の核酸配列またはそれと相補的な配列にストリンジェントな条件下で選択的にハイブリダイズし得る核酸配列を含み、プローブは、配列番号4の配列またはそれと相補的な配列にストリンジェントな条件下で選択的にハイブリダイズし得る核酸配列を含む。ある具体的な実施形態において、プライマーは少なくとも11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、または30ヌクレオチド長である。さらなる実施形態において、プローブは少なくとも11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、または30ヌクレオチド長である。

10

【 0 0 4 5 】

一部の例において、プライマーおよびプローブは直接または間接的に結合しており、それによりプライマー-プローブ複合体を形成する。他の例において、プライマー-プローブ複合体は、プライマーの5'末端へのプローブの3'末端の直接または間接的結合を含む。さらなる例において、プライマー-プローブ複合体のプローブ部分は、例えば、配列番号112~119に記載の5'ステム配列、および例えば、配列番号120~130に記載の3'ステム配列によりフランキングされている。

20

一部の実施形態において、配列番号1の配列にストリンジェントな条件下で選択的にハイブリダイズし得るプライマー部分は配列番号40~54からなる群から選択される核酸配列を含む。他の実施形態において、配列番号2の配列にストリンジェントな条件下で選択的にハイブリダイズし得るプライマー部分は配列番号5~39からなる群から選択される核酸配列を含む。さらなる実施形態において、配列番号3の配列にストリンジェントな条件下で選択的にハイブリダイズし得るプライマー部分は、配列番号95~111からなる群から選択される核酸配列を含む。いっそうさらなる実施形態において、配列番号4の配列にストリンジェントな条件下で選択的にハイブリダイズし得るプライマー部分は、配列番号55~94からなる群から選択される核酸配列を含む。

30

【 0 0 4 6 】

他の具体的な実施形態において、本発明の複製組成物は、(a)図1A~1Cから選択される少なくとも1つのプライマー-プローブ複合体、および(b)耐熱性DNAポリメラーゼを含む。別の好ましい複製組成物は、(a)一方の複合体がフォワードプライマーとして作用し、他方がリバースプライマーとして作用するように異なるそれぞれの標的DNA領域に対する、図1A~1Cから選択される少なくとも2つのプライマー-プローブ複合体；および(b)耐熱性DNAポリメラーゼを含む。ある例において、フォワード作用プライマー-プローブ複合体は、S35C610-1、S35C610-2、S35C610-2a、S35C610-3a、S35C610-3a、S35C610-3a、S35C610-3b、S35C610-4b、S35C610-5b、S35FAM-3a、S35Q670-2a、S35TEX1、S35TEX1a、S35TEX2、S35TEX2、S35TEX2b、S35TEX2c、S35TEX3、S35TEX3a、S35TEX3a、S35TEX-3a、およびSB35C610からなる群から選択される一方、リバース作用プライマー-プローブ複合体は、S761aC610-4d、S761bC610-4g、S761bC610-5g、S761C610-3、S761C610-3a、S761C610-3b、S761C610-3c、S761C610-4c、S761C610-4d、S761C610-4e、S761C610-4f、S761C610-4g、S761C610-5f、S761C610-5g、SB

40

50

761C610、およびSB761C610-gからなる群から選択される。ある例において、複製組成物は、プライマー-プローブ複合体のプローブ部分に結合し、そのシグナルをクエンチし得る好適なクエンチャーオリゴヌクレオチドをさらに含む。

【0047】

本発明の好ましいキットは、上記の複製組成物のいずれか1つを含む。本発明の好ましい錠剤は、上記の複製組成物のいずれか1つを含む。より好ましくは、本発明のキットは、上記の好ましい錠剤を含む。

ある場合において、内部陽性対照を反応に含めることができる。内部陽性対照は、対照鋳型核酸(例えば、DNAまたはRNA)、対照プライマー、および対照核酸プローブを含み得る。PCR反応内に含有される内部陽性対照の利点は、既に記載されており(米国特許第6,312,930号明細書およびPCT出願国際公開第97/11197号パンフレット;これらのそれぞれは、参照により全体として本明細書に組み込まれる)、以下を含む:(i)対照は、単一のプライマーを使用して増幅することができ;(ii)対照増幅産物の量は、試料中に含有される任意の標的DNAまたはRNAから独立しており;(iii)対照DNAは、手動および自動試験手順の両方における使用容易性および高度の再現性のために他の増幅試薬とともに錠剤化することができ;(iv)対照は、均質検出について、すなわち、反応物質から産物DNAを分離することなく使用することができ;(v)内部対照は、反応中の他の潜在的な増幅産物とは異なる融解プロファイル、および/または標的に対する核酸プローブ上の検出可能な標識とは異なる対照核酸上の検出可能な標識を有する。

10

20

【0048】

対照DNAは、プライマー指向増幅反応において増幅を可能にするための適切なサイズおよび塩基組成のものである。対照鋳型DNA配列は任意の好適な源から得ることができるが、標的増幅産物の増幅を可能にする同一条件下で再現性良く増幅されなければならない。

【0049】

好ましい対照配列には、例えば、SV40DNAに対する対照プライマーおよびプローブが含まれる。

対照反応は増幅反応の確認に有用である。対照DNAの増幅は試験される試料と同一の反応管内で起こり、したがって試料が標的陰性である場合、すなわち、標的増幅産物が産生されない場合に良好な増幅反応の指標となる。増幅反応の有意な確認を達成するため、対照DNA鋳型の好適な数のコピーをそれぞれの増幅反応に含めなければならない。

30

一部の例において、追加の陰性対照複製組成物を含めることが有用であり得る。陰性対照複製組成物は複製組成物と同一の試薬を含有するが、ポリメラーゼを含まない。このような対照の主な機能は、本方法が蛍光検出手段を用いる場合に均質形式での擬似バックグラウンド蛍光をモニタリングすることである。

複製組成物は、それらが標的DNAまたは対照DNAを増幅するために使用されるように設計されるかどうかに応じて変更することができる。標的DNAを増幅する複製組成物(試験複製組成物)は、(i)ポリメラーゼ(一般に耐熱性)、(ii)標的DNAにハイブリダイズし得るプライマーペアおよび(iii)増幅反応の進行に必要な緩衝液を含み得る。対照DNAを増幅する複製組成物(陽性対照または陽性複製組成物)は、(i)ポリメラーゼ(一般に耐熱性);(ii)対照DNA;(iii)対照DNAにハイブリダイズし得る少なくとも1つのプライマー;および(iv)増幅反応の進行に必要な緩衝液を含み得る。さらに、標的DNAまたは対照DNA増幅のいずれかのための複製組成物は、好ましくは検出可能な標識を有する核酸プローブを含有し得る。

40

【0050】

実施例

本発明を下記の実施例においてさらに定義する。これらの実施例は、本発明の好ましい実施形態を示す一方、説明のためにのみ提供されることを理解すべきである。

【実施例1】

50

【0051】

Scorpion (登録商標) アッセイを介する個々の標的の包含性 / 排他性の決定

生物の試料を分析して本発明の多数の Scorpion (登録商標) プローブの包含性および排他性を確立した。包含性については、独立した真正サルモネラ属 (Salmonella) 単離物を使用した。排他性については、密接に関連する非標的生物を使用してこのアッセイにより標的生物と他の非標的生物とが区別されることを確保した。

【0052】

DNA 溶解物調製

試験材料は、BHI 培地中で 37 °C において増殖させた標的および非標的生物の一晚増殖純粋培養物とした。純粋培養物は、およそ 1×10^9 cfu/ml の細胞密度に一晚増殖させた。排他性については、一晚培養物の 1 : 10 希釈物を試験した。包含性については、一晚培養物を TSB 中におよそ 1 : 10,000 に希釈した。5 μ l の試験すべき材料を、200 μ l の BAX (登録商標) 溶解試薬 (DuPont Qualicon, Wilmington, DE) に添加した。混合物を 37 °C において 20 分間インキュベートし、次いでさらに 95 °C において 10 分間インキュベートし、最後に 5 °C に冷却した。

10

【0053】

PCR 条件

30 μ l の DNA 溶解物を使用して凍結乾燥 PCR 反応成分を水和し、DNA 溶解物 / PCR 反応成分混合物を得た。PCR 反応成分は、GoTaq DNA Polymerase (Promega, Madison, WI)、デオキシヌクレオチド (Roche Diagnostics, Indianapolis, IN)、BSA、および surfactants (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO) を含有する特注試薬の形態であった。さらに、表 1 に列挙されるプライマーおよび Scorpion (登録商標) プローブを提供される量で含めた。この表が示すとおり、これらの Scorpion (登録商標) プローブのそれぞれは、その構造が 5' 蛍光末端標識、5' ステム配列、プローブ配列、3' ステム配列、内部クエンチャー、18 炭素非増幅性リンカー、およびプライマー配列、を (5' - 3' の順序で) 含むように、単分子 Scorpion (登録商標) として設計した。

20

【0054】

表1. 包含性/排他性試験に使用されるプライマーおよびプローブ

スクレオチド名	標的	反応当りの量	5' 末端 標識	5' システム 配列番号	プローブ 配列番号	3' システム 配列番号	内部標識/リンカー	プライマー 配列番号
フォワード Scorpion S35C610-3a	サルモネラ属 (Salmonella)	50-150 nM	Cal Fluor Red 610	114	29	124	BHQ2 / 18 炭素リン カー	47
フォワード プライマー 35	サルモネラ属 (Salmonella)	250-350 nM						47
リバース Scorpion S761C610-4d	サルモネラ属 (Salmonella)	50-150 nM	Cal Fluor Red 610	116	90	127	BHQ2 / 18 炭素リン カー	111
リバース Scorpion S761C610-5g	サルモネラ属 (Salmonella)	50-150 nM	Cal Fluor Red 610	117	93	128	BHQ2 / 18 炭素リン カー	102
リバース プライマー 761	サルモネラ属 (Salmonella)	250-350 nM						111
フォワード Scorpion S4219EC560- 3b	陽性対照 (sSV40)	10-50 nM	Cal Fluor Orange 560	132	133	134	BHQ1 / 18 炭素リン カー	135
フォワード プライマー 4219E	陽性対照 (sSV40)	30-60 nM						135
リバース プライマー 4313E	陽性対照 (sSV40)	70-125 nM						136

10

20

30

40

50

増幅および試験は、BAX（登録商標）Q7装置（DuPont Qualicon, Wilmington, DE）上で実施した。熱サイクリング条件は、以下のとおり：95 °Cにおいて2分間、次いで95 °C 10秒間および70 °C 50秒間の46サイクルであり、それぞれのサイクルにおける70 °Cの工程の間に蛍光シグナルを捕捉した。

【0056】

結果

表2～3から把握することができるとおり、Scorpion（登録商標）プローブを使用して、本発明の方法は、種々の標的を適切に検出することができ、例として、標的生物と非標的生物とを弁別した。

【0057】

表2. 包含性結果

DuPont Qualicon ID #	推定 ID	ID 種	BAX® System 結果
584	チフス菌 (Salmonella typhi)	チフス菌 (Salmonella typhi)	陽性
585	チフス菌 (Salmonella typhi)	チフス菌 (Salmonella typhi)	陽性
586	ネズミチフス菌 (Salmonella typhimurium)	ネズミチフス菌 (Salmonella typhimurium)	陽性
706	腸炎菌 (Salmonella enteritidis)	腸炎菌 (Salmonella enteritidis)	陽性
707	サルモネラ・ニューポート (Salmonella newport)	サルモネラ・ニューポート (Salmonella newport)	陽性
725	アリゾナ菌 (Salmonella arizonae)	アリゾナ菌 (Salmonella arizonae)	陽性
726	アリゾナ菌 (Salmonella arizonae)	アリゾナ菌 (Salmonella arizonae)	陽性
737	腸炎菌 (Salmonella enteritidis)	腸炎菌 (Salmonella enteritidis)	陽性
738	サルモネラ・ビルコウ (Salmonella virchow)	サルモネラ・ビルコウ (Salmonella virchow)	陽性
739	サルモネラ・スタンレー (Salmonella stanley)	サルモネラ・スタンレー (Salmonella stanley)	陽性
741	家禽チフス菌 (Salmonella gallinarum)	家禽チフス菌 (Salmonella gallinarum)	陽性
917	ブタコレラ菌 (Salmonella choleraesuis)	ブタコレラ菌 (Salmonella choleraesuis)	陽性
918	パラチフス A 菌 (Salmonella paratyphi A)	パラチフス菌 (Salmonella paratyphi)	陽性
919	パラチフス A 菌 (Salmonella paratyphi A)	パラチフス菌 (Salmonella paratyphi)	陽性
964	サルモネラ・ブレデネイ (Salmonella bredeney)	サルモネラ・ブレデネイ (Salmonella bredeney)	陽性
966	サルモネラ・ナポリ (Salmonella napoli)	サルモネラ・ナポリ (Salmonella napoli)	陽性
1084	ネズミチフス菌 (Salmonella typhimurium)	ネズミチフス菌 (Salmonella typhimurium)	陽性
1084	ネズミチフス菌 (Salmonella typhimurium)	ネズミチフス菌 (Salmonella typhimurium)	陽性
1085	サルモネラ・ビンザ (Salmonella binza)	サルモネラ・ビンザ (Salmonella binza)	陽性
1248	サルモネラ・パナマ (Salmonella panama)	サルモネラ・パナマ (Salmonella panama)	陽性

1251	サルモネラ・ケドゥゴウ (Salmonella kedougou)	サルモネラ・ケドゥゴウ (Salmonella kedougou)	陽性
1255	サルモネラ・モンテビデオ (Salmonella montevideo)	サルモネラ・モンテビデオ (Salmonella montevideo)	陽性
1261	サルモネラ・ニューポート (Salmonella newport)	サルモネラ・ニューポート (Salmonella newport)	陽性
1329	サルモネラ・ブラエンデルプ (Salmonella braenderup)	サルモネラ・ブラエンデルプ (Salmonella braenderup)	陽性
1331	サルモネラ・ベルタ (Salmonella berta)	サルモネラ・ベルタ (Salmonella berta)	陽性
1332	サルモネラ・アナツム (Salmonella anatum)	サルモネラ・アナツム (Salmonella anatum)	陽性
1333	サルモネラ・スタンレー (Salmonella stanley)	サルモネラ・スタンレー (Salmonella stanley)	陽性
1334	サルモネラ・アナツム (Salmonella anatum)	サルモネラ・アナツム (Salmonella anatum)	陽性
1335	サルモネラ・アゴナ (Salmonella agona)	サルモネラ・アゴナ (Salmonella agona)	陽性
1336	トンブソン菌 (Salmonella thompson)	トンブソン菌 (Salmonella thompson)	陽性
1337	サルモネラ・ブラエンデルプ (Salmonella braenderup)	サルモネラ・ブラエンデルプ (Salmonella braenderup)	陽性
1338	サルモネラ・ブランデンブルク (Salmonella brandenburg)	サルモネラ・ブランデンブルク (Salmonella brandenburg)	陽性
1339	トンブソン菌 (Salmonella thompson)	トンブソン菌 (Salmonella thompson)	陽性
1343	サルモネラ・ブロックレイ (Salmonella blockley)	サルモネラ・ハールト (Salmonella haardt)	陽性
1352	サルモネラ・アゴナ (Salmonella agona)	サルモネラ・アゴナ (Salmonella agona)	陽性
1356	サルモネラ・ブレデネイ (Salmonella bredeney)	サルモネラ・ブレデネイ (Salmonella bredeney)	陽性

1372	サルモネラ・セイントポール(Salmonella saintpaul)	サルモネラ・セイントポール(Salmonella saintpaul)	陽性
1424	サルモネラ・マンチエスター(Salmonella manchester)	サルモネラ・マンチエスター(Salmonella manchester)	陽性
1429	ネズミチフス菌(Salmonella typhimurium)	サルモネラ・アンプオ(Salmonella anfo)	陽性
1467	サルモネラ・イーリング(Salmonella ealing)	ネズミチフス菌(Salmonella typhimurium)	陽性
1469	サルモネラ・ナポリ(Salmonella napoli)	サルモネラ・イーリング(Salmonella ealing)	陽性
1476	サルモネラ・インディアナ(Salmonella indiana)	サルモネラ・ナポリ(Salmonella napoli)	陽性
1480	雑白痢菌(Salmonella pullorum)	サルモネラ・インディアナ(Salmonella indiana)	陽性
1482	サルモネラ・ヴェルテフレーデン(Salmonella weltevreden)	雑白痢菌(Salmonella pullorum)	陽性
1491	サルモネラ・モンテビデオ(Salmonella montevideo)	サルモネラ・ヴェルテフレーデン(Salmonella weltevreden)	陽性
1492	雑白痢菌(Salmonella pullorum)	サルモネラ・モンテビデオ(Salmonella montevideo)	陽性
1507	サルモネラ・ボビスマルビフィカンス(Salmonella bovismoribificans)	雑白痢菌(Salmonella pullorum)	陽性
1509	サルモネラ・バレイリー(Salmonella bareilly)	サルモネラ・ボビスマルビフィカンス(Salmonella bovismoribificans)	陽性
1510	サルモネラ・アメルスフオートルト(Salmonella amersfoort)	サルモネラ・バレイリー(Salmonella bareilly)	陽性
1521	サルモネラ・バークレー(Salmonella berkeley)	サルモネラ・アパエテツバ(Salmonella abaetetuba)	陽性
1523	サルモネラ・ベティオキ(Salmonella betioky)	サルモネラ・バークレー(Salmonella berkeley)	陽性
1525	サルモネラ・オースティン(Salmonella austin)	サルモネラ・ベティオキ(Salmonella betioky)	陽性
1526		サルモネラ・オースティン(Salmonella austin)	陽性

1527	サルモネラ・アトランタ (Salmonella atlanta)	サルモネラ・アトランタ (Salmonella atlanta)	陽性
1530	サルモネラ・アマゲル(サルモネラ・アマガ ー (Salmonella amager))	サルモネラ・アルテンドルフ (Salmonella altendorf)	陽性
1531	サルモネラ・アルテンドルフ (Salmonella altendorf)	サルモネラ・アルテンドルフ (Salmonella altendorf)	陽性
1535	サルモネラ・ブルックフィールド (Salmonella brookfield)	サルモネラ・ブルックフィールド (Salmonella brookfield)	陽性
1543	サルモネラ・アデレード (Salmonella adelaide)	サルモネラ・アデレード (Salmonella adelaide)	陽性
1547	サルモネラ・アバディーン (Salmonella aberdeen)	サルモネラ属 (Salmonella) 種	陽性
1548	サルモネラ・アボニ (Salmonella abony)	サルモネラ・アボニ (Salmonella abony)	陽性
1551	サルモネラ・エクタトリア (Salmonella aequatoria)	サルモネラ属 (Salmonella) 種	陽性
1552	サルモネラ・アラバマ (Salmonella alabama)	サルモネラ・アラバマ (Salmonella alabama)	陽性
1553	サルモネラ・ボール (Salmonella ball)	サルモネラ・ボール (Salmonella ball)	陽性
1554	サルモネラ・バナリア (Salmonella banalia)	サルモネラ属 (Salmonella) 種	陽性
1555	サルモネラ・ブランカスター (Salmonella brancaster)	サルモネラ・ブランカスター (Salmonella brancaster)	陽性
1556	サルモネラ・アラチュア (Salmonella alachua)	サルモネラ・アラチュア (Salmonella alachua)	陽性
1557	サルモネラ・シカゴ (Salmonella chicago)	サルモネラ・シカゴ (Salmonella chicago)	陽性
1558	サルモネラ・カナステル (Salmonella canastel)	サルモネラ属 (Salmonella) 種	陽性
1560	サルモネラ・ウエストパーク (Salmonella westpark)	サルモネラ属 (Salmonella) 種	陽性

1566	サルモネラ属 (Salmonella)	サルモネラ属 (Salmonella)	サルモネラ属 (Salmonella)	陽性
1568	サルモネラ属 (Salmonella)	サルモネラ属 (Salmonella)	アリゾナ菌 (Salmonella arizonae)	陽性
1573	サルモネラ属 (Salmonella)	サルモネラ属 (Salmonella)	アリゾナ菌 (Salmonella arizonae)	陽性
1576	サルモネラ属 (Salmonella)	サルモネラ属 (Salmonella)	アリゾナ菌 (Salmonella arizonae)	陽性
1585	サルモネラ属 (Salmonella)	サルモネラ属 (Salmonella)	アリゾナ菌 (Salmonella arizonae)	陽性
1590	サルモネラ属 (Salmonella)	サルモネラ属 (Salmonella)	サルモネラ属 (Salmonella) 3b	陽性
1592	サルモネラ属 (Salmonella)	サルモネラ属 (Salmonella)	サルモネラ属 (Salmonella) 3b	陽性
1597	サルモネラ属 (Salmonella)	サルモネラ属 (Salmonella)	サルモネラ属 (Salmonella) 3b	陽性
1598	サルモネラ属 (Salmonella)	サルモネラ属 (Salmonella)	サルモネラ属 (Salmonella) 3b	陽性
1603	サルモネラ属 (Salmonella)	サルモネラ属 (Salmonella)	サルモネラ属 (Salmonella) 3b	陽性
1608	サルモネラ・セミノル (Salmonella seminole)	サルモネラ・セミノル (Salmonella seminole)	サルモネラ・セミノル (Salmonella seminole)	陽性
1609	サルモネラ・ワッセナー (Salmonella wassenaar)	サルモネラ・ワッセナー (Salmonella wassenaar)	サルモネラ・ワッセナー (Salmonella wassenaar)	陽性
1610	サルモネラ・セミノル (Salmonella seminole)	サルモネラ・セミノル (Salmonella seminole)	サルモネラ・セミノル (Salmonella seminole)	陽性
1611	サルモネラ属 (Salmonella)	サルモネラ属 (Salmonella)	サルモネラ・カラレンディク (Salmonella kralendyk)	陽性
1613	サルモネラ・トゥインドルプ (Salmonella tuindorp)	サルモネラ (Salmonella)	サルモネラ・カラレンディク (Salmonella kralendyk)	陽性
1615	サルモネラ・カメレオン (Salmonella chameleon)	サルモネラ (Salmonella)	サルモネラ・カラレンディク (Salmonella kralendyk)	陽性
1616	サルモネラ・ホウテン (Salmonella houten)	サルモネラ (Salmonella)	サルモネラ・ホウテン (Salmonella houten)	陽性
1620	サルモネラ・カーメル (Salmonella carmel)	サルモネラ (Salmonella)	サルモネラ・カーメル (Salmonella carmel)	陽性
1621	サルモネラ・カロウ (Salmonella carrau)	サルモネラ (Salmonella carrau)	サルモネラ・カロウ (Salmonella carrau)	陽性
1623	サルモネラ・シャンペーン (Salmonella champagne)	サルモネラ (Salmonella champagne)	サルモネラ・シャンペーン (Salmonella champagne)	陽性

1624	サルモネラ・チャンダンス (Salmonella chandans)	サルモネラ・チャンダンス (Salmonella chandans)	陽性
1625	サルモネラ・チェスター (Salmonella chester)	サルモネラ属 (Salmonella) 種	陽性
1628	サルモネラ・コロラド (Salmonella colorado)	サルモネラ属 (Salmonella) 種	陽性
1632	サルモネラ・クバナ (Salmonella cubana)	サルモネラ・クバナ (Salmonella cubana)	陽性
1635	サルモネラ・デイトナ (Salmonella daytona)	サルモネラ・デイトナ (Salmonella daytona)	陽性
1638	サルモネラ・ダービー (Salmonella derby)	サルモネラ・ダービー (Salmonella derby)	陽性
1641	サルモネラ・ダーバン (Salmonella durban)	サルモネラ属 (Salmonella) 種	陽性
1644	サルモネラ・イーリング (Salmonella ealing)	サルモネラ・イーリング (Salmonella ealing)	陽性
1650	サルモネラ・リビングストーン (Salmonella livingstone)	サルモネラ・リビングストーン (Salmonella livingstone)	陽性
1652	サルモネラ・ロンドン (Salmonella london)	サルモネラ・ロンドン (Salmonella london)	陽性
1653	サルモネラ・マンハッタン (Salmonella manhattan)	サルモネラ・ヨボコメ (Salmonella yovokome)	陽性
1655	サルモネラ・リーディング (Salmonella reading)	サルモネラ・リーディング (Salmonella reading)	陽性
1657	サルモネラ・サンディエゴ (Salmonella sandiego)	サルモネラ・リーディング (Salmonella reading)	陽性
1658	サルモネラ・シュワルツェンgrund (Salmonella schwarzengrund)	サルモネラ・シュワルツェンgrund (Salmonella schwarzengrund)	陽性
1659	サルモネラ・シャンガニ (Salmonella shangani)	サルモネラ・シャンガニ (Salmonella shangani)	陽性

1660	サルモネラ・スツツバル(Salmonella sundsvall)	サルモネラ・スツツバル(Salmonella sundsvall)	陽性
1661	サルモネラ・テネシー(Salmonella tennessee)	サルモネラ・テネシー(Salmonella tennessee)	陽性
1665	サルモネラ・コロンボ(Salmonella colombo)	サルモネラ・コロンボ(Salmonella colombo)	陽性
1668	サルモネラ・カリフォルニア(Salmonella californica)	サルモネラ・カリフォルニア(Salmonella californica)	陽性
1675	サルモネラ・ダレスラーム(Salmonella daressalaam)	サルモネラ・エンテリカ(Salmonella enterica)	陽性
1680	サルモネラ・デュベ(Salmonella dugbe)	サルモネラ・デュベ(Salmonella dugbe)	陽性
1684	サルモネラ・エマスタッド(Salmonella emmestad)	サルモネラ・エマスタッド(Salmonella emmestad)	陽性
1686	サルモネラ・ファイド(Salmonella fayed)	サルモネラ・ファイド(Salmonella fayed)	陽性
1687	サルモネラ・フェーラク(Salmonella ferlac)	サルモネラ・フェーラク(Salmonella ferlac)	陽性
1689	サルモネラ・ハートフォード(Salmonella hartford)	サルモネラ属(Salmonella)種	陽性
1693	サルモネラ・ジャビアナ(Salmonella javiana)	サルモネラ属(Salmonella)種	陽性
1695	サルモネラ・ヨハネスブルク(Salmonella johannesburg)	サルモネラ・ヨハネスブルク(Salmonella johannesburg)	陽性
1698	サルモネラ・マデリア(Salmonella madelia)	サルモネラ・マデリア(Salmonella madelia)	陽性
1700	サルモネラ・メレアグリデイス(Salmonella meleagridis)	サルモネラ・メレアグリデイス(Salmonella meleagridis)	陽性
1701	サルモネラ・マイアミ(Salmonella miami)	サルモネラ・マイアミ(Salmonella miami)	陽性
1703	サルモネラ・ミシシッピ(Salmonella mississippi)	サルモネラ・ミシシッピ(Salmonella mississippi)	陽性

1704	サルモネラ・ミュンヘン(Salmonella muenchen)	サルモネラ・ミュンヘン(Salmonella muenchen)	陽性
1707	サルモネラ・ニューブランズウィック (Salmonella newbrunswick)	サルモネラ・ニューブランズウィック (Salmonella newbrunswick)	陽性
1710	サルモネラ・オラニエンブルク(Salmonella oranienburg)	サルモネラ・オラニエンブルク(Salmonella oranienburg)	陽性
1711	サルモネラ・ポモナ(Salmonella pomona)	サルモネラ属(Salmonella)種	陽性
1712	サルモネラ・プレトリア(Salmonella pretoria)	サルモネラ・プレトリア(Salmonella pretoria)	陽性
1714	サルモネラ・ワッセナー(Salmonella wassenaar)	サルモネラ・ワッセナー(Salmonella wassenaar)	陽性
1773	サルモネラ・エンテリカ(Salmonella enterica)	サルモネラ・ブルックフィールド(Salmonella brookfield)	陽性
1775	サルモネラ・エンテリカ(Salmonella enterica)	ネズミチフス菌(Salmonella typhimurium)	陽性
1776	サルモネラ・エンテリカ(Salmonella enterica)	サルモネラ・カラレンディク(Salmonella kralendyk)	陽性
1777	サルモネラ・エンテリカ(Salmonella enterica)	サルモネラ・エンテリカ(Salmonella enterica)	陽性
2166	サルモネラ・アバエテツバ(Salmonella abaetetuba)	サルモネラ・アバエテツバ(Salmonella abaetetuba)	陽性
2172	サルモネラ・バレイリー(Salmonella bareilly)	サルモネラ・バレイリー(Salmonella bareilly)	陽性
2178	サルモネラ・カリフォルニア(Salmonella californica)	サルモネラ・カリフォルニア(Salmonella californica)	陽性
2180	サルモネラ・シャンペン(Salmonella champagn)	サルモネラ・シャンペン(Salmonella champagn)	陽性
2186	サルモネラ・ドライプール(Salmonella drypool)	サルモネラ・ドライプール(Salmonella drypool)	陽性

2189	サルモネラ・ギブ (Salmonella give)	サルモネラ・ギブ (Salmonella give)	陽性
2196	サルモネラ・キアンブ (Salmonella kiambu)	サルモネラ・キアンブ (Salmonella kiambu)	陽性
2199	サルモネラ・レキシントン (Salmonella lexington)	サルモネラ・レキシントン (Salmonella lexington)	陽性
2201	サルモネラ・マデリア (Salmonella madelia)	サルモネラ・マデリア (Salmonella madelia)	陽性
2204	サルモネラ・ミネソタ (Salmonella minnesota)	サルモネラ・ミネソタ (Salmonella minnesota)	陽性
2205	サルモネラ・ミシシッピ (Salmonella mississippi)	サルモネラ・ミシシッピ (Salmonella mississippi)	陽性
2215	サルモネラ・プーナ (Salmonella poona)	サルモネラ・プーナ (Salmonella poona)	陽性
2218	サルモネラ・サンディエゴ (Salmonella sandiego)	サルモネラ・サンディエゴ (Salmonella sandiego)	陽性
2229	サルモネラ・テイラル (Salmonella theilalle)	サルモネラ・オラニエンブルク (Salmonella oranienburg)	陽性
2238	サルモネラ・アーバナ (Salmonella urbana)	サルモネラ・アーバナ (Salmonella urbana)	陽性
2239	サルモネラ・ウザラモ (Salmonella uzaramo)	サルモネラ・セロ (Salmonella cerro)	陽性
2245	サルモネラ・ハバナ (Salmonella havana)	サルモネラ・ハバナ (Salmonella havana)	陽性
2263	サルモネラ・リール (Salmonella lille)	サルモネラ・リール (Salmonella lille)	陽性
2274	サルモネラ・アナツム (Salmonella anatum)	サルモネラ・アナツム (Salmonella anatum)	陽性
2283	サルモネラ・ニューブランズウィック (Salmonella newbrunswick)	サルモネラ・ニューブランズウィック (Salmonella newbrunswick)	陽性
2289	サルモネラ・ルビスロウ (Salmonella rubislaw)	サルモネラ・ルビスロウ (Salmonella rubislaw)	陽性
2290	サルモネラ・ハートフォード (Salmonella hartford)	サルモネラ・ハートフォード (Salmonella hartford)	陽性

10

20

30

40

2309	サルモネラ・マツトグロソ (<i>Salmonella maregrosso</i>)	サルモネラ属 (<i>Salmonella</i>) 種	陽性
2312	サルモネラ・コトブス (<i>Salmonella kottbus</i>)	サルモネラ・コトブス (<i>Salmonella kottbus</i>)	陽性
2313	サルモネラ・ワズワース (<i>Salmonella wandsworth</i>)	サルモネラ・ワズワース (<i>Salmonella wandsworth</i>)	陽性
2341	サルモネラ・ベリー (<i>Salmonella berry</i>)	サルモネラ・ムバンダカ (<i>Salmonella mbandaka</i>)	陽性
2343	サルモネラ・ボッケンハイム (<i>Salmonella bockenheim</i>)	サルモネラ・カラレンディク (<i>Salmonella kralendyk</i>)	陽性
2346	サルモネラ・ベトナム (<i>Salmonella vietnam</i>)	サルモネラ・ベトナム (<i>Salmonella vietnam</i>)	陽性
2349	サルモネラ・ドライプール (<i>Salmonella drypool</i>)	サルモネラ・ドライプール (<i>Salmonella drypool</i>)	陽性
2350	家禽チフス菌 (<i>Salmonella gallinarum</i>)	家禽チフス菌 (<i>Salmonella gallinarum</i>)	陽性
2352	サルモネラ・サフラ (<i>Salmonella saphra</i>)	サルモネラ・サフラ (<i>Salmonella saphra</i>)	陽性
2353	サルモネラ・クリシヤンスタッド (<i>Salmonella kristianstad</i>)	サルモネラ・クリシヤンスタッド (<i>Salmonella kristianstad</i>)	陽性
2373	サルモネラ属 (<i>Salmonella</i>) 種	サルモネラ属 (<i>Salmonella</i>) 種	陽性
2376	サルモネラ属 (<i>Salmonella</i>) 種	サルモネラ・スカルコーツ (<i>Salmonella sculcoates</i>)	陽性
2380	サルモネラ属 (<i>Salmonella</i>) 種	サルモネラ・シア (<i>Salmonella sya</i>)	陽性
2628	サルモネラ・ケンタッキー (<i>Salmonella kentucky</i>)	サルモネラ・ケンタッキー (<i>Salmonella kentucky</i>)	陽性
2629	サルモネラ・セロ (<i>Salmonella cerro</i>)	サルモネラ・セロ (<i>Salmonella cerro</i>)	陽性
2637	サルモネラ・シュワルツェンゲルント (<i>Salmonella schwarzengrund</i>)	サルモネラ・シュワルツェンゲルント (<i>Salmonella schwarzengrund</i>)	陽性
2639	サルモネラ・トマスビル (<i>Salmonella thomasville</i>)	サルモネラ・トマスビル (<i>Salmonella thomasville</i>)	陽性

2641	サルモネラ・シュワルツェングルント (Salmonella schwarzengrund)	サルモネラ・シュワルツェングルント (Salmonella schwarzengrund)	陽性
2673	サルモネラ・マンハッタン (Salmonella manhattan)	サルモネラ・マンハッタン(Salmonella manhattan)	陽性
2736	サルモネラ・オラニエンブルク (Salmonella oranienburg)	サルモネラ・オラニエンブルク(Salmonella oranienburg)	陽性
2748	サルモネラ・ミュンスター (Salmonella muenster)	サルモネラ・ミュンスター(Salmonella muenster)	陽性
2755	サルモネラ・ムバンダカ (Salmonella mbandaka)	サルモネラ・ムバンダカ(Salmonella mbandaka)	陽性
2757	サルモネラ・ムバンダカ (Salmonella mbandaka)	サルモネラ・ムバンダカ(Salmonella mbandaka)	陽性
2761	サルモネラ・ムバンダカ (Salmonella mbandaka)	サルモネラ・ムバンダカ(Salmonella mbandaka)	陽性
2766	サルモネラ・ムバンダカ (Salmonella mbandaka)	サルモネラ・ムバンダカ(Salmonella mbandaka)	陽性
2770	サルモネラ・ムバンダカ (Salmonella mbandaka)	サルモネラ・ムバンダカ(Salmonella mbandaka)	陽性
2774	サルモネラ・ムバンダカ (Salmonella mbandaka)	サルモネラ・ムバンダカ(Salmonella mbandaka)	陽性
2779	サルモネラ・ムバンダカ (Salmonella mbandaka)	サルモネラ・ムバンダカ(Salmonella mbandaka)	陽性
2786	サルモネラ・ビンザ (Salmonella binza)	サルモネラ・ビンザ(Salmonella binza)	陽性
2795	サルモネラ・ベルタ (Salmonella berta)	サルモネラ・ベルタ(Salmonella berta)	陽性
2813	サルモネラ・セロ (Salmonella cerro)	サルモネラ・セロ(Salmonella cerro)	陽性
2820	サルモネラ・ブラエンデルプ (Salmonella braenderup)	サルモネラ・ブラエンデルプ(Salmonella braenderup)	陽性
2867	サルモネラ・シア (Salmonella sya)	サルモネラ・シア(Salmonella sya)	陽性
2868	サルモネラ・リール (Salmonella lille)	サルモネラ・リール(Salmonella lille)	陽性

2869	サルモネラ・ダラム (Salmonella durham)	サルモネラ・ダラム (Salmonella durham)	陽性
2870	サルモネラ・コーバリス (Salmonella corvallis)	サルモネラ・ベルビュー (Salmonella bellevue)	陽性
2935	サルモネラ・サンディエゴ (Salmonella sandiego)	サルモネラ・サンディエゴ (Salmonella sandiego)	陽性
2966	サルモネラ・アルバニー (Salmonella albany)	サルモネラ・アルバニー (Salmonella albany)	陽性
2980	サルモネラ・アーカンソー (Salmonella arkansas)	サルモネラ・アーカンソー (Salmonella arkansas)	陽性
2981	サルモネラ・アーカンソー (Salmonella arkansas)	サルモネラ・アーカンソー (Salmonella arkansas)	陽性
2992	サルモネラ・リール (Salmonella lille)	サルモネラ・リール (Salmonella lille)	陽性
3015	サルモネラ・ダブリン (Salmonella dublin)	サルモネラ・ダブリン (Salmonella dublin)	陽性
3017	サルモネラ・ダブリン (Salmonella dublin)	サルモネラ・ダブリン (Salmonella dublin)	陽性
3019	サルモネラ・ダブリン (Salmonella dublin)	サルモネラ・ダブリン (Salmonella dublin)	陽性
3038	サルモネラ・クレーフェルト (Salmonella krefeld)	サルモネラ・クレーフェルト (Salmonella krefeld)	陽性
3043	サルモネラ・ヨハネスブルク (Salmonella johannesburg)	サルモネラ・ヨハネスブルク (Salmonella johannesburg)	陽性
3153	サルモネラ・チャンダンス (Salmonella chandans)	サルモネラ・チャンダンス (Salmonella chandans)	陽性
3156	サルモネラ・ミュンヘン (Salmonella muenchen)	サルモネラ・ミュンヘン (Salmonella muenchen)	陽性
3157	サルモネラ・コーバリス (Salmonella corvallis)	サルモネラ・ベルビュー (Salmonella bellevue)	陽性

3184	サルモネラ・スカルコーツ (Salmonella sculcoates)	サルモネラ・スカルコーツ (Salmonella sculcoates)	陽性
3185	サルモネラ・ベルビュー (Salmonella belleuve)	サルモネラ・ベルビュー (Salmonella belleuve)	陽性
3186	サルモネラ・シア (Salmonella sya)	サルモネラ・シア (Salmonella sya)	陽性
3187	サルモネラ・ダラム (Salmonella durham)	サルモネラ・ダラム (Salmonella durham)	陽性
3194	サルモネラ・スタンレービル (Salmonella stanleyville)	サルモネラ・スタンレービル (Salmonella stanleyville)	陽性
3217	サルモネラ・コタム (Salmonella cotham)	サルモネラ・コタム (Salmonella cotham)	陽性
3218	サルモネラ・アガマ (Salmonella agama)	サルモネラ・アガマ (Salmonella agama)	陽性
3432	サルモネラ・アマガー (Salmonella amager)	サルモネラ・アマガー (Salmonella amager)	陽性
3510	サルモネラ・オスロ (Salmonella oslo)	不明	陽性
3536	サルモネラ・テネシー (Salmonella tennessee)	サルモネラ・テネシー (Salmonella tennessee)	陽性
3699	サルモネラ・ビッティングフォス (Salmonella hvittingfoss)	サルモネラ属 (Salmonella) 種	陽性
3852	サルモネラ・インディアナ (Salmonella indiana)	サルモネラ・インディアナ (Salmonella indiana)	陽性
3863	サルモネラ・オトマールシェン (Salmonella othmarschen)	サルモネラ・オラニエンブルク (Salmonella oranienburg)	陽性
3878	サルモネラ・ムバンダカ (Salmonella mbandaka)	サルモネラ・ムバンダカ (Salmonella mbandaka)	陽性
3882	サルモネラ・ブローントン (Salmonella broughton)	サルモネラ・ミネソタ (Salmonella minnesota)	陽性
3898	サルモネラ・ノイミュンスター (Salmonella neumuenster)	トンブゾン菌 (Salmonella thompson)	陽性
3915	サルモネラ・ハールト (Salmonella haardt)	サルモネラ・ハールト (Salmonella haardt)	陽性
3917	サルモネラ・ハダー (Salmonella hadar)	サルモネラ・ハダー (Salmonella hadar)	陽性

10

20

30

40

50

3918	サルモネラ・ハダー(Salmonella hadar)	サルモネラ・ハダー(Salmonella hadar)	陽性
3924	サルモネラ・トマスビル(Thomasville)	サルモネラ・トマスビル(Salmonella thomasville)	陽性
3984	ブタコレラ菌(Salmonella choleraesuis)	サルモネラ・ジャワ(Salmonella java)	陽性
3988	ブタコレラ菌(Salmonella choleraesuis)	ブタコレラ菌(Salmonella choleraesuis)	陽性
4011	サルモネラ・ムバンダカ(Salmonella mbandaka)	サルモネラ・ムバンダカ(Salmonella mbandaka)	陽性
4022	腸炎菌(Salmonella enteritidis)	腸炎菌(Salmonella enteritidis)	陽性
4035	サルモネラ・ウェイクロス(Salmonella waycross)	サルモネラ・ウェイクロス(Salmonella waycross)	陽性
4036	サルモネラ・リビングストーン(Salmonella livingstone)	サルモネラ・リビングストーン(Salmonella livingstone)	陽性
4043	サルモネラ・ワーthington)	サルモネラ・ワーthington)	陽性
4084	サルモネラ・アフリカーナ(Salmonella africana)	トンブゾン菌(Salmonella thompson)	陽性
4102	サルモネラ属(Salmonella)種	サルモネラ・セイントポール(Salmonella saintpaul)	陽性
4558	サルモネラ・レッドランズ(Salmonella redlands)	サルモネラ・レッドランズ(Salmonella redlands)	陽性
5533	サルモネラ・インフアンティス(Salmonella infantis)	サルモネラ・インフアンティス(Salmonella infantis)	陽性
5908	サルモネラ・フェーラク(Salmonella ferlac)	サルモネラ・フェーラク(Salmonella ferlac)	陽性
6177	サルモネラ属(Salmonella)種	サルモネラ・アーカンソー(Salmonella arkansas)	陽性
6250	サルモネラ・サンティアゴ(Salmonella santiago)	サルモネラ・サンティアゴ(Salmonella santiago)	陽性

6586	サルモネラ・サンティアゴ(Salmonella santiago)	サルモネラ・サンティアゴ(Salmonella santiago)	陽性
6667	サルモネラ・ハイデルベルク(Salmonella heidelberg)	サルモネラ・ハイデルベルク(Salmonella heidelberg)	陽性
6696	サルモネラ属(Salmonella)種	腸炎菌(Salmonella enteritidis)	陽性
6729	サルモネラ・マニラ(Salmonella manila)	サルモネラ・マニラ(Salmonella manila)	陽性
6735	サルモネラ属(Salmonella)種	サルモネラ・アルバニー(Salmonella albany)	陽性
6966	サルモネラ・コタム(Salmonella cotham)	サルモネラ・コタム(Salmonella cotham)	陽性
7005	サルモネラ・ダブリン(Salmonella dublin)	サルモネラ属(Salmonella)種	陽性
7061	サルモネラ・クバチャ(Salmonella kubacha)	サルモネラ・クバチャ(Salmonella kubacha)	陽性
7062	サルモネラ・クバチャ(Salmonella kubacha)	サルモネラ・クバチャ(Salmonella kubacha)	陽性
7072	サルモネラ・アムステルダム(Salmonella amsterdam)	サルモネラ・アムステルダム(Salmonella amsterdam)	陽性
7111	サルモネラ・インファンティス(Salmonella infantis)	サルモネラ・インファンティス(Salmonella infantis)	陽性
8034	サルモネラ属(Salmonella)種	サルモネラ・セイントポール(Salmonella saintpaul)	陽性
12241	サルモネラ属(Salmonella)種	サルモネラ属(Salmonella)種	陽性
12904	サルモネラ・トラノロラ(Salmonella tranorora)	サルモネラ・エンテリカ(Salmonella enterica)	陽性
12907	サルモネラ・ハイデルベルク(Salmonella heidelberg)	サルモネラ・ハイデルベルク(Salmonella heidelberg)	陽性
12908	サルモネラ・ハイデルベルク(Salmonella heidelberg)	サルモネラ・ハイデルベルク(Salmonella heidelberg)	陽性
12909	サルモネラ・ハイデルベルク(Salmonella heidelberg)	サルモネラ・ハイデルベルク(Salmonella heidelberg)	陽性

12910	サルモネラ・ハイデルベルグ (Salmonella heidelberg)	サルモネラ・ハイデルベルグ (Salmonella heidelberg)	陽性
12911	サルモネラ・ハイデルベルグ (Salmonella heidelberg)	サルモネラ・ハイデルベルグ (Salmonella heidelberg)	陽性
12912	サルモネラ・ケンタッキー (Salmonella kentucky)	サルモネラ・ケンタッキー (Salmonella kentucky)	陽性
12913	サルモネラ・ハイデルベルグ (Salmonella heidelberg)	サルモネラ・ハイデルベルグ (Salmonella heidelberg)	陽性
12914	サルモネラ・ケンタッキー (Salmonella kentucky)	サルモネラ・ケンタッキー (Salmonella kentucky)	陽性
12915	サルモネラ・ケンタッキー (Salmonella kentucky)	サルモネラ・ケンタッキー (Salmonella kentucky)	陽性
12916	サルモネラ・ケンタッキー (Salmonella kentucky)	サルモネラ・ケンタッキー (Salmonella kentucky)	陽性
12917	サルモネラ・ケンタッキー (Salmonella kentucky)	サルモネラ・ケンタッキー (Salmonella kentucky)	陽性
12918	サルモネラ・ケンタッキー (Salmonella kentucky)	サルモネラ・ケンタッキー (Salmonella kentucky)	陽性
12919	サルモネラ・ハイデルベルグ (Salmonella heidelberg)	サルモネラ・ハイデルベルグ (Salmonella heidelberg)	陽性
12920	サルモネラ・ハイデルベルグ (Salmonella heidelberg)	サルモネラ・ハイデルベルグ (Salmonella heidelberg)	陽性
12921	サルモネラ・ケンタッキー (Salmonella kentucky)	サルモネラ・ケンタッキー (Salmonella kentucky)	陽性
12922	サルモネラ・ハイデルベルグ (Salmonella heidelberg)	サルモネラ・ハイデルベルグ (Salmonella heidelberg)	陽性
12925	サルモネラ・ケンタッキー (Salmonella kentucky)	サルモネラ・ケンタッキー (Salmonella kentucky)	陽性

10

20

30

40

12926	サルモネラ・ケンタッキー(Salmonella kentucky)	サルモネラ・ケンタッキー(Salmonella kentucky)	陽性
12927	サルモネラ・ケンタッキー(Salmonella kentucky)	サルモネラ・ケンタッキー(Salmonella kentucky)	陽性
12928	サルモネラ・ハイデルベルク(Salmonella heidelberg)	サルモネラ・ハイデルベルク(Salmonella heidelberg)	陽性
12929	サルモネラ・ハイデルベルク(Salmonella heidelberg)	サルモネラ・ハイデルベルク(Salmonella heidelberg)	陽性
12931	サルモネラ・ハイデルベルク(Salmonella heidelberg)	サルモネラ・ハイデルベルク(Salmonella heidelberg)	陽性
12932	サルモネラ・ハイデルベルク(Salmonella heidelberg)	サルモネラ・ハイデルベルク(Salmonella heidelberg)	陽性
12933	サルモネラ・ハイデルベルク(Salmonella heidelberg)	サルモネラ・ハイデルベルク(Salmonella heidelberg)	陽性
12936	サルモネラ・ハイデルベルク(Salmonella heidelberg)	サルモネラ・ハイデルベルク(Salmonella heidelberg)	陽性
12937	サルモネラ・ハイデルベルク(Salmonella heidelberg)	サルモネラ・ハイデルベルク(Salmonella heidelberg)	陽性
12941	サルモネラ・ケンタッキー(Salmonella kentucky)	サルモネラ・ケンタッキー(Salmonella kentucky)	陽性
12943	サルモネラ・ケンタッキー(Salmonella kentucky)	サルモネラ・ケンタッキー(Salmonella kentucky)	陽性
12945	サルモネラ・ハイデルベルク(Salmonella heidelberg)	サルモネラ・ハイデルベルク(Salmonella heidelberg)	陽性
12946	サルモネラ・ケンタッキー(Salmonella kentucky)	サルモネラ・ケンタッキー(Salmonella kentucky)	陽性
12947	サルモネラ・ハイデルベルク(Salmonella heidelberg)	サルモネラ・ハイデルベルク(Salmonella heidelberg)	陽性

12948	サルモネラ・ケンタッキー(Salmonella kentucky)	サルモネラ・ケンタッキー(Salmonella kentucky)	陽性
12949	サルモネラ・ケンタッキー(Salmonella kentucky)	サルモネラ・ケンタッキー(Salmonella kentucky)	陽性
12950	サルモネラ・ケンタッキー(Salmonella kentucky)	サルモネラ・ケンタッキー(Salmonella kentucky)	陽性
12951	サルモネラ・ケンタッキー(Salmonella kentucky)	サルモネラ・ケンタッキー(Salmonella kentucky)	陽性
12952	サルモネラ・ハイデルベルグ(Salmonella heidelberg)	サルモネラ・ハイデルベルグ(Salmonella heidelberg)	陽性
12953	サルモネラ・ハイデルベルグ(Salmonella heidelberg)	サルモネラ・ハイデルベルグ(Salmonella heidelberg)	陽性
12954	サルモネラ・ハイデルベルグ(Salmonella heidelberg)	サルモネラ・ハイデルベルグ(Salmonella heidelberg)	陽性
12955	サルモネラ・ケンタッキー(Salmonella kentucky)	サルモネラ・ケンタッキー(Salmonella kentucky)	陽性
12956	サルモネラ・ケンタッキー(Salmonella kentucky)	サルモネラ・ケンタッキー(Salmonella kentucky)	陽性
12957	サルモネラ・ケンタッキー(Salmonella kentucky)	サルモネラ・ケンタッキー(Salmonella kentucky)	陽性
12959	サルモネラ・ハイデルベルグ(Salmonella heidelberg)	サルモネラ・ハイデルベルグ(Salmonella heidelberg)	陽性
12960	サルモネラ・ゼンフテンベルグ(Salmonella senftenberg)	サルモネラ・ゼンフテンベルグ(Salmonella senftenberg)	陽性
12961	サルモネラ・ゼンフテンベルグ(Salmonella senftenberg)	サルモネラ・ゼンフテンベルグ(Salmonella senftenberg)	陽性
12962	サルモネラ・ゼンフテンベルグ(Salmonella senftenberg)	サルモネラ・ゼンフテンベルグ(Salmonella senftenberg)	陽性

12963	サルモネラ・ゼンフトエンベルク (Salmonella senftenberg)	サルモネラ・ゼンフトエンベルク (Salmonella senftenberg)	陽性
12964	サルモネラ・ゼンフトエンベルク (Salmonella senftenberg)	サルモネラ・ゼンフトエンベルク (Salmonella senftenberg)	陽性
12965	サルモネラ・ゼンフトエンベルク (Salmonella senftenberg)	サルモネラ・ゼンフトエンベルク (Salmonella senftenberg)	陽性
12966	サルモネラ・ゼンフトエンベルク (Salmonella senftenberg)	サルモネラ・ゼンフトエンベルク (Salmonella senftenberg)	陽性
12967	サルモネラ・ハールト (Salmonella haardt)	サルモネラ・ハールト (Salmonella haardt)	陽性
12968	サルモネラ・ハールト (Salmonella haardt)	サルモネラ・ハールト (Salmonella haardt)	陽性
12969	サルモネラ・ハールト (Salmonella haardt)	サルモネラ・ハールト (Salmonella haardt)	陽性
12970	サルモネラ・ゼンフトエンベルク (Salmonella senftenberg)	サルモネラ・ゼンフトエンベルク (Salmonella senftenberg)	陽性
12971	サルモネラ・ゼンフトエンベルク (Salmonella senftenberg)	サルモネラ・ゼンフトエンベルク (Salmonella senftenberg)	陽性
12972	サルモネラ・ゼンフトエンベルク (Salmonella senftenberg)	サルモネラ・ゼンフトエンベルク (Salmonella senftenberg)	陽性
12975	サルモネラ・ゼンフトエンベルク (Salmonella senftenberg)	サルモネラ・ゼンフトエンベルク (Salmonella senftenberg)	陽性
12978	サルモネラ・ゼンフトエンベルク (Salmonella senftenberg)	サルモネラ・ゼンフトエンベルク (Salmonella senftenberg)	陽性
12980	サルモネラ・ゼンフトエンベルク (Salmonella senftenberg)	サルモネラ・ゼンフトエンベルク (Salmonella senftenberg)	陽性
12981	サルモネラ・ケンタッキー (Salmonella kentucky)	サルモネラ・ケンタッキー (Salmonella kentucky)	陽性
12982	サルモネラ・ゼンフトエンベルク (Salmonella senftenberg)	サルモネラ・ゼンフトエンベルク (Salmonella senftenberg)	陽性
12983	サルモネラ・ゼンフトエンベルク (Salmonella senftenberg)	サルモネラ・ゼンフトエンベルク (Salmonella senftenberg)	陽性

12984	サルモネラ・ゼンフトエンベルク (Salmonella senftenberg)	サルモネラ・ゼンフトエンベルク (Salmonella senftenberg)	陽性
12985	サルモネラ・ハールト (Salmonella haardt)	サルモネラ・ハールト (Salmonella haardt)	陽性
12986	サルモネラ・ゼンフトエンベルク (Salmonella senftenberg)	サルモネラ・ゼンフトエンベルク (Salmonella senftenberg)	陽性
12987	サルモネラ・ゼンフトエンベルク (Salmonella senftenberg)	サルモネラ・ゼンフトエンベルク (Salmonella senftenberg)	陽性
12988	サルモネラ・ゼンフトエンベルク (Salmonella senftenberg)	サルモネラ・ゼンフトエンベルク (Salmonella senftenberg)	陽性
12989	サルモネラ・ケンタッキー (Salmonella kentucky)	サルモネラ・ケンタッキー (Salmonella kentucky)	陽性
12990	サルモネラ・ケンタッキー (Salmonella kentucky)	サルモネラ・ケンタッキー (Salmonella kentucky)	陽性
12993	サルモネラ・ケンタッキー (Salmonella kentucky)	サルモネラ・ケンタッキー (Salmonella kentucky)	陽性
12995	サルモネラ・ハイデルベルク (Salmonella heidelberg)	サルモネラ・ハイデルベルク (Salmonella heidelberg)	陽性
12996	サルモネラ・ハイデルベルク (Salmonella heidelberg)	サルモネラ・ハイデルベルク (Salmonella heidelberg)	陽性
12997	サルモネラ・ケンタッキー (Salmonella kentucky)	サルモネラ・ケンタッキー (Salmonella kentucky)	陽性
12998	サルモネラ・ハイデルベルク (Salmonella heidelberg)	サルモネラ・ハイデルベルク (Salmonella heidelberg)	陽性
12999	サルモネラ・ハイデルベルク (Salmonella heidelberg)	サルモネラ・ハイデルベルク (Salmonella heidelberg)	陽性
13000	サルモネラ・ハイデルベルク (Salmonella heidelberg)	サルモネラ・ハイデルベルク (Salmonella heidelberg)	陽性
13001	サルモネラ・ハイデルベルク (Salmonella heidelberg)	サルモネラ・ハイデルベルク (Salmonella heidelberg)	陽性

13002	サルモネラ・ケンタッキー(Salmonella kentucky)	サルモネラ・ケンタッキー(Salmonella kentucky)	陽性
13003	サルモネラ・ケンタッキー(Salmonella kentucky)	サルモネラ・ケンタッキー(Salmonella kentucky)	陽性
13004	サルモネラ・ハイデルベルク(Salmonella heidelberg)	サルモネラ・ハイデルベルク(Salmonella heidelberg)	陽性
13005	ネズミチフス菌(Salmonella typhimurium)	ネズミチフス菌(Salmonella typhimurium)	陽性
13006	サルモネラ・ケンタッキー(Salmonella kentucky)	サルモネラ・ケンタッキー(Salmonella kentucky)	陽性
13007	サルモネラ・ケンタッキー(Salmonella kentucky)	サルモネラ・ケンタッキー(Salmonella kentucky)	陽性
13008	サルモネラ・ケンタッキー(Salmonella kentucky)	サルモネラ・ケンタッキー(Salmonella kentucky)	陽性
13009	サルモネラ・ケンタッキー(Salmonella kentucky)	サルモネラ・ケンタッキー(Salmonella kentucky)	陽性
13010	サルモネラ・ケンタッキー(Salmonella kentucky)	サルモネラ・ケンタッキー(Salmonella kentucky)	陽性
13011	ネズミチフス菌(Salmonella typhimurium)	ネズミチフス菌(Salmonella typhimurium)	陽性
13012	サルモネラ・ケンタッキー(Salmonella kentucky)	サルモネラ・ケンタッキー(Salmonella kentucky)	陽性
13013	サルモネラ・ケンタッキー(Salmonella kentucky)	サルモネラ・ケンタッキー(Salmonella kentucky)	陽性
13014	サルモネラ・ハイデルベルク(Salmonella heidelberg)	サルモネラ・ハイデルベルク(Salmonella heidelberg)	陽性
13015	サルモネラ・ケンタッキー(Salmonella kentucky)	サルモネラ・ケンタッキー(Salmonella kentucky)	陽性
13016	サルモネラ・ケンタッキー(Salmonella kentucky)	サルモネラ・ケンタッキー(Salmonella kentucky)	陽性

13017	サルモネラ・ハイデルベルク (Salmonella heidelberg)	サルモネラ・ハイデルベルク (Salmonella heidelberg)	陽性
13018	サルモネラ・ハイデルベルク (Salmonella heidelberg)	サルモネラ・ハイデルベルク (Salmonella heidelberg)	陽性
13019	サルモネラ・ハイデルベルク (Salmonella heidelberg)	サルモネラ・ハイデルベルク (Salmonella heidelberg)	陽性
13020	サルモネラ・ハイデルベルク (Salmonella heidelberg)	サルモネラ・ハイデルベルク (Salmonella heidelberg)	陽性
13021	サルモネラ・ハイデルベルク (Salmonella heidelberg)	サルモネラ・ハイデルベルク (Salmonella heidelberg)	陽性
13022	サルモネラ・ハイデルベルク (Salmonella heidelberg)	サルモネラ・ハイデルベルク (Salmonella heidelberg)	陽性
13035	サルモネラ・エンテリカ (Salmonella enterica)	サルモネラ・エンテリカ (Salmonella enterica)	陽性
13036	サルモネラ・エンテリカ (Salmonella enterica)	サルモネラ・エンテリカ (Salmonella enterica)	陽性
13037	サルモネラ属 (Salmonella)種	サルモネラ属 (Salmonella)種	陽性
13056	サルモネラ・ゼンフトンベルク (Salmonella senftenberg)	サルモネラ・ゼンフトンベルク (Salmonella senftenberg)	陽性
13057	サルモネラ・ゼンフトンベルク (Salmonella senftenberg)	サルモネラ・ゼンフトンベルク (Salmonella senftenberg)	陽性
13058	サルモネラ・ゼンフトンベルク (Salmonella senftenberg)	サルモネラ・ゼンフトンベルク (Salmonella senftenberg)	陽性
13059	サルモネラ・ゼンフトンベルク (Salmonella senftenberg)	サルモネラ・ゼンフトンベルク (Salmonella senftenberg)	陽性
13060	サルモネラ・ゼンフトンベルク (Salmonella senftenberg)	サルモネラ・ゼンフトンベルク (Salmonella senftenberg)	陽性
13061	サルモネラ・テネシー (Salmonella tennessee)	サルモネラ・テネシー (Salmonella tennessee)	陽性

13062	サルモネラ・テネシー(Salmonella tennessee)	サルモネラ・テネシー(Salmonella tennessee)	陽性
13063	サルモネラ・テネシー(Salmonella tennessee)	サルモネラ・テネシー(Salmonella tennessee)	陽性
13064	サルモネラ・テネシー(Salmonella tennessee)	サルモネラ・テネシー(Salmonella tennessee)	陽性
13065	サルモネラ・テネシー(Salmonella tennessee)	サルモネラ・テネシー(Salmonella tennessee)	陽性
13066	サルモネラ・テネシー(Salmonella tennessee)	サルモネラ・テネシー(Salmonella tennessee)	陽性
13067	サルモネラ・ハバナ(Salmonella havana)	サルモネラ・ハバナ(Salmonella havana)	陽性
13068	サルモネラ・レキシントン(Salmonella lexington)	サルモネラ・レキシントン(Salmonella lexington)	陽性
13069	サルモネラ・ムバンダカ(Salmonella mbandaka)	サルモネラ・ムバンダカ(Salmonella mbandaka)	陽性
13070	サルモネラ属(Salmonella)種	サルモネラ属(Salmonella)種	陽性
13075	サルモネラ属(Salmonella)種	サルモネラ・クバナ(Salmonella cubana)	陽性
13079	サルモネラ・ニューポート(Salmonella newport)	サルモネラ・ニューポート(Salmonella newport)	陽性
13080	サルモネラ・セイントポール(Salmonella saintpaul)	サルモネラ・セイントポール(Salmonella saintpaul)	陽性
13081	サルモネラ・ビルコウ(Salmonella virchow)	サルモネラ・ビルコウ(Salmonella virchow)	陽性
S-1	サルモネラ属(Salmonella)	ニューポート(Newport)	陽性
S-4	サルモネラ属(Salmonella)	ネズミチフス菌(Typhimurium)	陽性
S-45	サルモネラ属(Salmonella)	V48:i:-	陽性
S-46	サルモネラ属(Salmonella)	V 40:z35:-	陽性
S-47	サルモネラ属(Salmonella)	V 44:z39:-	陽性
S-48	サルモネラ属(Salmonella)	V 60:z41:-	陽性

S-49	サルモネラ属 (Salmonella)	V 66:z41>	陽性
S-5	サルモネラ属 (Salmonella)	チフス菌 (Typhi)	陽性
S-50	サルモネラ属 (Salmonella)	V48:z35:-	陽性
S-51	サルモネラ属 (Salmonella)	VI 6, 14, 25:z10:l, (2), 7	陽性
S-52	サルモネラ属 (Salmonella)	VI 11:b:l, 7	陽性
S-53	サルモネラ属 (Salmonella)	VI 6, 7:z41:l, 7	陽性
S-54	サルモネラ属 (Salmonella)	VI 11:a:l, 5	陽性
S-55	サルモネラ属 (Salmonella)	VI 6, 14, 25:a:e, n, x	陽性
S-56	サルモネラ属 (Salmonella)	ネズミチフス菌 (Typhimurium) / DTI 04b	陽性
S-57	サルモネラ属 (Salmonella)	ネズミチフス菌 (Typhimurium)	陽性
S-58	サルモネラ属 (Salmonella)	ネズミチフス菌 (Typhimurium)	陽性
S-59	サルモネラ属 (Salmonella)	ネズミチフス菌 (Typhimurium)	陽性
S-60	サルモネラ属 (Salmonella)	ネズミチフス菌 (Typhimurium)	陽性
S-61	サルモネラ属 (Salmonella)	ネズミチフス菌 (Typhimurium)	陽性
S-62	サルモネラ属 (Salmonella)	ネズミチフス菌 (Typhimurium)	陽性
S-63	サルモネラ属 (Salmonella)	ネズミチフス菌 (Typhimurium)	陽性
S-64	サルモネラ属 (Salmonella)	ネズミチフス菌 (Typhimurium)	陽性
S-65	サルモネラ属 (Salmonella)	ネズミチフス菌 (Typhimurium)	陽性
S-66	サルモネラ属 (Salmonella)	ネズミチフス菌 (Typhimurium)	陽性
S-67	サルモネラ属 (Salmonella)	ネズミチフス菌 (Typhimurium)	陽性
S-68	サルモネラ属 (Salmonella)	ネズミチフス菌 (Typhimurium)	陽性
S-69	サルモネラ属 (Salmonella)	ネズミチフス菌 (Typhimurium)	陽性
S-70	サルモネラ属 (Salmonella)	ネズミチフス菌 (Typhimurium) / DTI 04	陽性
S-71	サルモネラ属 (Salmonella)	ネズミチフス菌 (Typhimurium) / DTI 04	陽性
S-72	サルモネラ属 (Salmonella)	ネズミチフス菌 (Typhimurium) / DTI 04	陽性
S-8	サルモネラ属 (Salmonella)	ピルコウ (Virchow)	陽性
S-82	サルモネラ属 (Salmonella)	サブラ (Sabra)	陽性
S-83	サルモネラ属 (Salmonella)	ルビスロウ (Rubislaw)	陽性
S-84	サルモネラ属 (Salmonella)	ミシガン (Michigan)	陽性

S-85	サルモネラ属 (Salmonella)	アーバナ (Urbana)	陽性
S-86	サルモネラ属 (Salmonella)	ベトナム (Vietnam)	陽性
S-87	サルモネラ属 (Salmonella)	トルノウ (Tornow)	陽性
S-92	サルモネラ属 (Salmonella)	ミュンヘン (Muenchen)	陽性
S-93	サルモネラ属 (Salmonella)	ゼンフトンベルク (Senftenberg)	陽性
S-94	サルモネラ属 (Salmonella)	ミュンスター (Muenster)	陽性
S-95	サルモネラ属 (Salmonella)	モンテビデオ (Montevideo)	陽性

10

20

30

40

50

表3. 排他性結果

デュポン Qualicon 識別番号	ID種	BAX® System 結果
DD2901	セレウス菌 (<i>Bacillus cereus</i>)	陰性
DD2558	シトロバクター・フレウンジイ (<i>Citrobacter freundii</i>)	陰性
DD383	シトロバクター・フレウンジイ (<i>Citrobacter freundii</i>)	陰性
DD1725	大腸菌 (<i>E. coli</i>) O125:H19	陰性
DD2614	エドワードシエラ・タルダ (<i>Edwardsiella tarda</i>)	陰性
DD11348	エンテロバクター・サカザキイ (<i>Enterobacter sakazakii</i>)	陰性
DD3981	エンテロコッカス・フェカリス (<i>Enterococcus faecalis</i>)	陰性
DD846	エシエリキア・ブラッタエ (<i>Escherichia blattae</i>)	陰性
DD641	大腸菌 (<i>Escherichia coli</i>)	陰性
DD640	大腸菌 (<i>Escherichia coli</i>) O157:H7	陰性
DD847	エシエリキア・フェルグソン (<i>Escherichia ferguson</i>)	陰性
DD6719	エシエリキア・ヘルマニイ (<i>Escherichia hermanii</i>)	陰性
DD849	エシエリキア・インテルメディア (<i>Escherichia intermedia</i>)	陰性
DD850	エシエリキア・バルナリス (<i>Escherichia vulnaris</i>)	陰性
DD6121	グラム陰性桿菌	陰性
DD2389	ハフニア・アルベイ (<i>Hafnia alvei</i>)	陰性
DD5588	ハフニア・アルベイ (<i>Hafnia alvei</i>)	陰性
DD6523	クレブシエラ・オキシトカ (<i>Klebsiella oxytoc</i>)	陰性
DD658	クレブシエラ・オキシトカ (<i>Klebsiella oxytoca</i>)	陰性
DD657	クレブシエラ・オザエナエ (<i>Klebsiella ozaenae</i>)	陰性
DD373	肺炎桿菌 (<i>Klebsiella pneumoniae</i>)	陰性
DD7344	好酸性乳酸桿菌 (<i>Lactobacillus acidophilus</i>)	陰性
DD687	ラクトバシラス・カルニス (<i>Lactobacillus carnis</i>)	陰性
DD922	リステリア・イノキュア (<i>Listeria innocua</i>)	陰性
DD1152	リステリア・モノサイトゲネス (<i>Listeria monocytogenes</i>)	陰性
DD13142	モルガネラ・モルガニイ (<i>Morganella morganii</i>)	陰性
DD3064	モルガネラ・モルガニイ (<i>Morganella morganii</i>)	陰性
DD374	プロテウス・ミラビリス (<i>Proteus mirabilis</i>)	陰性
DD13147	プロビデンシア・レットゲリ (<i>Providencia rettgeri</i>)	陰性
DD13148	緑膿菌 (<i>Pseudomonas aeruginosa</i>)	陰性
DD3982	緑膿菌 (<i>Pseudomonas aeruginosa</i>)	陰性
DD569	蛍光菌 (<i>Pseudomonas fluorescens</i>)	陰性
DD661	蛍光菌 (<i>Pseudomonas fluorescens</i>)	陰性
DD577	シュードモナス・スタツェリ (<i>Pseudomonas stutzeri</i>)	陰性
DD2166	サルモネラ・アバエテツバ (<i>Salmonella abae</i>)	陰性

10

20

30

40

【 図 1 C 】

25k-100-2 菌株名	菌株 種名	25k-100-2 配列番号	25k-100-2 配列	25k-100-2 配列番号	25k-100-2 配列	25k-100-2 配列番号	25k-100-2 配列	25k-100-2 配列番号	25k-100-2 配列	25k-100-2 配列番号	25k-100-2 配列	25k-100-2 配列番号	25k-100-2 配列
S76LCE10-4f	Call Fluor Red 610	116	ACGGCCGC	91	GAAA	127	GCGGCCGT	[BHQ2][SP-18]	102	CTTACGGGTTCCAG TGTGCGCTGAA	25k-100-2 配列番号	102	CTTACGGGTTCCAG TGTGCGCTGAA
S76LCE10-4g	Call Fluor Red 610	116	ACGGCCGC	93	CGGGCAATGACCATTAAGG	127	GCGGCCGT	[BHQ2][SP-18]	102	CTTACGGGTTCCAG TGTGCGCTGAA	25k-100-2 配列番号	102	CTTACGGGTTCCAG TGTGCGCTGAA
S76LCE10-5f	Call Fluor Red 610	117	ACGGACCGC	92	GAAA	128	GCGGTCCGT	[BHQ2][SP-18]	102	CTTACGGGTTCCAG TGTGCGCTGAA	25k-100-2 配列番号	102	CTTACGGGTTCCAG TGTGCGCTGAA
S76LCE10-5g	Call Fluor Red 610	117	ACGGACCGC	93	CGGGCAATGACCATTAAGG	128	GCGGTCCGT	[BHQ2][SP-18]	102	CTTACGGGTTCCAG TGTGCGCTGAA	25k-100-2 配列番号	102	CTTACGGGTTCCAG TGTGCGCTGAA
S835CE10	Call Fluor Red 610			29	CGGGCGTGTGTGCA			[SP-18]	47	TAGCGGGAGCGTT AATGCGGTTAAC	25k-100-2 配列番号		
S8751CE10	Call Fluor Red 610			90	CGGGCAATGACCATTAAGG			[SP-18]	102	CTTACGGGTTCCAG TGTGCGCTGAA	25k-100-2 配列番号		
S8751CE10-g	Call Fluor Red 610			93	CGGGCAATGACCATTAAGG			[SP-18]	102	CTTACGGGTTCCAG TGTGCGCTGAA	25k-100-2 配列番号		
S4219EC5603b	Call Fluor Orange 590	132	AGGCGCC	133	CAGACGACCGCGCGCT	134	GGCGCT	[BHQ1][SP-18]	135	GAGCATAGTTAATA GCAGACACTCTATGCTT GTGTG	25k-100-2 配列番号		

FIG. 1C

【 配 列 表 】

201453311100001.app

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2012/063799

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. C12Q1/68 ADD.		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) C12Q		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) EPO-Internal, WPI Data, BIOSIS, Sequence Search, EMBASE		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 95/33854 A1 (DU PONT DE NEMOURS & CO E 1) 14 December 1995 (1995-12-14)	10
Y	sequences 10, 15, 19 -----	1-17
X	US 6 312 930 B1 (TICE JR GEORGE [US] ET AL) 6 November 2001 (2001-11-06)	10
Y	cited in the application sequences 7, 9 -----	1-17
X	WO 94/13832 A1 (DU PONT [US]) 23 June 1994 (1994-06-23)	10
Y	sequence 15 -----	1-17
Y	WO 2004/092408 A2 (WARNEX RES INC [CA]; PLANTE DANIEL [CA]; UBALIJORO ELIANE [CA]) 28 October 2004 (2004-10-28)	1-10
	page 18, line 28 - page 19, line 15 ----- -/--	
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C.		<input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.
* Special categories of cited documents :		
<p>"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance</p> <p>"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date</p> <p>"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)</p> <p>"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means</p> <p>"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</p>		<p>"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention</p> <p>"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone</p> <p>"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art</p> <p>"&" document member of the same patent family</p>
Date of the actual completion of the international search 4 January 2013		Date of mailing of the international search report 17/01/2013
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040 Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Santagati, Fabio

1

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/US2012/063799

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	<p>REYNISSON E ET AL: "Evaluation of probe chemistries and platforms to improve the detection limit of real-time PCR", JOURNAL OF MICROBIOLOGICAL METHODS, ELSEVIER, AMSTERDAM, NL, vol. 66, no. 2, 1 August 2006 (2006-08-01), pages 206-216, XP027926944, ISSN: 0167-7012 [retrieved on 2006-08-01] page 208, left-hand column, line 3 - line 4</p> <p style="text-align: center;">-----</p>	11-17

1

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US2012/063799

Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of Item 1.c of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application and necessary to the claimed invention, the international search was carried out on the basis of:
- a. (means)
- on paper
- in electronic form
- b. (time)
- in the international application as filed
- together with the international application in electronic form
- subsequently to this Authority for the purpose of search
2. In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing and/or table relating thereto has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that in the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.
3. Additional comments:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2012/063799

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9533854	A1	14-12-1995	AT 224453 T 15-10-2002
			CA 2189546 A1 14-12-1995
			DE 69528263 D1 24-10-2002
			DE 69528263 T2 07-08-2003
			EP 0764217 A1 26-03-1997
			JP 3051451 B2 12-06-2000
			JP H09506002 A 17-06-1997
			US 5656740 A 12-08-1997
			US 5660981 A 26-08-1997
			WO 9533854 A1 14-12-1995

US 6312930	B1	06-11-2001	NONE

WO 9413832	A1	23-06-1994	AT 148925 T 15-02-1997
			AU 5736194 A 04-07-1994
			CA 2151036 A1 23-06-1994
			DE 69308162 D1 27-03-1997
			DE 69308162 T2 26-06-1997
			DK 675969 T3 28-04-1997
			EP 0675969 A1 11-10-1995
			ES 2097633 T3 01-04-1997
			GR 3023325 T3 29-08-1997
			JP H08504332 A 14-05-1996
			US 5340728 A 23-08-1994
			WO 9413832 A1 23-06-1994

WO 2004092408	A2	28-10-2004	AU 2004231129 A1 28-10-2004
			CA 2522689 A1 28-10-2004
			EP 1616029 A2 18-01-2006
			US 2007134659 A1 14-06-2007
			WO 2004092408 A2 28-10-2004

フロントページの続き

(81)指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), EP(AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC

(74)代理人 100093300

弁理士 浅井 賢治

(74)代理人 100119013

弁理士 山崎 一夫

(74)代理人 100123777

弁理士 市川 さつき

(74)代理人 100111501

弁理士 滝澤 敏雄

(72)発明者 ヴァルキー スティーブン

アメリカ合衆国 デラウェア州 19702 ニューアーク キャンドルスティック レーン 609

(72)発明者 デマルコ ダニエル アール

アメリカ合衆国 デラウェア州 19806 ウィルミントン ノース アダムズ ストリート 1517

Fターム(参考) 4B024 AA11 AA13 CA01 CA09 CA11 CA20 HA12

4B063 QA01 QA13 QA18 QQ06 QQ16 QQ42 QQ52 QR08 QR32 QR35

QR39 QR55 QR62 QS25 QS32 QS34 QX02