

【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29年8月17日(2017.8.17)

【公表番号】特表2016-524906(P2016-524906A)

【公表日】平成28年8月22日(2016.8.22)

【年通号数】公開・登録公報2016-050

【出願番号】特願2016-526606(P2016-526606)

【国際特許分類】

C 1 2 Q 1/68 (2006.01)

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

【F I】

C 1 2 Q 1/68 Z N A A

C 1 2 N 15/00 A

【手続補正書】

【提出日】平成29年7月4日(2017.7.4)

【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】

a) サンプルから、rDNAを含むダニDNAを抽出する工程；

b) 以下のプライマー；

i. 各プライマーが同定すべきダニ種の各々のrDNAのITS1配列又はその相補配列に特異的にハイブリダイズする、1又はそれより多い第1のプライマー、及び

ii. 同定すべきダニ種のrDNAの18S、5.8S若しくは28S配列のいずれかから選択される配列又はその相補配列に特異的にハイブリダイズする1又はそれより多い第2のプライマーを用いて、同定すべきダニ種の各々のrDNAの領域を増幅して、同定すべきダニ種の各々に特異的なアンプリコンを生成する工程；及び

c) アンプリコンの特徴を評価することによりダニ種を同定する工程

を含んでなり、ダニアレルゲンが前記同定されたダニ種に基いてサンプルから抽出される、サンプル中の1又はそれより多い異なるコナダニ亜目ダニ種のダニアレルゲン抽出物の製造方法。

【請求項 2】

工程 b) において、生成したアンプリコンが同定すべき特定ダニ種に特徴的な分子サイズを有する、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

工程 c) において、ダニ種が、同定すべきダニ種に特徴的であるアンプリコンの分子サイズを評価することによって同定される、請求項 1 又は 2 に記載の方法。

【請求項 4】

工程 b) において、同定すべきダニ種に特異的であり、長さが少なくとも15bp異なる2又はそれより多いアンプリコンが生成される、請求項 1 ～ 3 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 5】

第2のプライマーが同定すべきコナダニ亜目ダニ種のいずれかの前記配列の少なくとも15の連続ヌクレオチドに少なくとも90%同一である、請求項 1 ～ 4 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 6】

工程 b) i. で使用する 1 又はそれより多い第 1 のプライマーが、3' 末端に、同定すべきダニ種のいずれかの ITS1 配列に対して正確な相補性を有する少なくとも 4、5 又は 6 のような少なくとも 3 連続ヌクレオチドを含む、請求項 1 ~ 5 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 7】

工程 b) i. で使用する 1 又はそれより多い第 1 のプライマーが、同定すべきダニ種の ITS1 配列のいずれかの対応部分又はその相補部分の配列に少なくとも約 70% 同一である、請求項 1 ~ 6 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 8】

工程 c) がアンプリコンの分子サイズを分子マーカークロマトグラフィーの参照ヌクレオチドの分子サイズと比較することにより行われ、該参照ヌクレオチドのサイズが該当する塩基対間隔にわたる、請求項 1 ~ 7 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 9】

参照ヌクレオチドのサイズが同定すべきダニ種に特徴的なアンプリコンのサイズに相当する、請求項 8 に記載の方法。

【請求項 10】

PCR のような予備増幅工程が工程 b) に先行し、該予備増幅工程において、サンプル中のいずれかのコナダニ亜目ダニ種の ITS1 領域を含有する rDNA が、該 rDNA の 18S 配列に特異的にハイブリダイズする第 1 のプライマー及び該 rDNA の 5.8S 及び 28S 配列から選択される配列に特異的にハイブリダイズする第 2 のプライマーを用いて増幅される、請求項 1 ~ 9 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 11】

2 又はそれより多い第 1 のプライマーが使用され、各プライマーは同定すべきダニ種の 1 つの ITS1 配列に特異的にハイブリダイズし、他の同定すべきダニ種には交差ハイブリダイズしない、請求項 1 ~ 10 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 12】

工程 b) i. で言及される前記第 1 のプライマーが、配列番号 1 ~ 100 のいずれか 1 つから選択される配列の ITS1 若しくはその相補配列又はそれらのフラグメントに少なくとも約 70% 同一である配列を含んでなる、請求項 1 ~ 11 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 13】

前記第 1 のプライマーが、配列番号 101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、122、123 及び 124 からなるリストより選択される核酸配列若しくはその相補配列又はそのフラグメント若しくは該フラグメントの相補配列に少なくとも約 70% 同一である配列を含んでなる、請求項 1 ~ 12 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 14】

前記第 2 のプライマーが、配列番号 1 ~ 100 のいずれか 1 つより選択される配列中の 5.8S フラグメント又はその相補配列に少なくとも約 70% 同一である核酸配列を含んでなる、請求項 1 ~ 13 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 15】

前記第 2 のプライマーが、配列番号 1 ~ 100 のいずれか 1 つより選択される配列中の 18S フラグメント又はその相補配列に少なくとも約 70% 同一である核酸配列を含んでなる、請求項 1 ~ 14 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 16】

前記 1 又はそれより多い異なるコナダニ亜目種が、チロファグス ファネツハンゴルム、レピドグリフス デストルクター、グリシファグス ドメスティクス、ダーマトファゴイデス プテロニシヌス、チロファグス プトレセンチアエ、プロミア トロピカリス、ユーログリフス マイネイ、ダーマトファゴイデス ミクロセラス、アカルス シロ及びダーマトファゴイデス ファリナエからなる群より選択される、請求項 1 ~ 15 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 17】

配列番号 1 ~ 100 からなるリストより選択される核酸配列若しくはそのフラグメント又は

それらの相補配列に少なくとも約80%同一であり、検出標識を含んでなる単離された核酸分子。

【請求項 18】

請求項 17 に特定される、異なるコナダニ亜目種の少なくとも2つの異なる核酸分子を、検出標識を伴って又は伴わずに含んでなる組成物。

【請求項 19】

コナダニ亜目種の特定ダニ種に独特な1又はそれより多いアンブリコンに相当するサイズのDNAのような1又はそれより多いポリヌクレオチドを含んでなる分子サイズマーカー組成物。

【請求項 20】

- a) 請求項 18 に規定される組成物；及び
- b) コナダニ亜目種の特定種に独特な1又はそれより多いアンブリコンに相当するサイズのDNAのような1又はそれより多いポリヌクレオチドを含んでなる分子サイズマーカーを含んでなる、コナダニ亜目種の少なくとも1つのダニ種を同定するキット。