

請求の範囲

- [請求項1] 検体中のRNAウイルスを検出する方法であって、
- (1) 検体を蒸留水、生理食塩水または緩衝液に懸濁する行程、
 - (2) 工程(1)で生成した懸濁液の遠心上清を抽出する行程、
 - (3) 工程(2)で抽出した遠心上清と、1種以上の界面活性剤を含む検体処理液とを混合する工程、
 - (4) 工程(3)で得られた混合液と、逆転写酵素およびDNAポリメラーゼを含む1ステップRT-PCR反応液を混合し、RT-PCRを行う工程、および、
 - (5) 前記RT-PCR産物を検出する工程、
- を含む方法。
- [請求項2] 前記RNAウイルスが、ノロウイルス、ロタウイルス、ライノウイルス、コロナウイルス、ヒト免疫不全ウイルス、C型肝炎ウイルス、日本脳炎ウイルスおよびデングウイルスからなる群より選ばれる、請求項1に記載の方法。
- [請求項3] 前記RNAウイルスが、ノロウイルスである、請求項1に記載の方法。
- [請求項4] 前記ノロウイルス遺伝子型が、ジェノグループI(GI)またはジェノグループII(GII)である、請求項3に記載の方法。
- [請求項5] 前記検体が、生物試料、生物由来試料、環境試料および環境由来試料からなる群より選ばれる試料に由来する、請求項1～4のいずれか1項に記載の方法。
- [請求項6] 前記検体が、排泄物試料、排泄物由来試料、嘔吐物および嘔吐物由来試料からなる群より選ばれる試料に由来する、請求項1～4のいずれか1項に記載の方法。
- [請求項7] 前記界面活性剤が、陰イオン界面活性剤である、請求項1～6のいずれか1項に記載の方法。
- [請求項8] 前記陰イオン界面活性剤が、アルキルサルフェート、アルキルエー

テルサルフェート、ドキュセート、スルホネートフルオロ界面活性剤、アルキルベンゼンスルホネート、アルキルアリアルエーテルホスフェート、アルキルエーテルホスフェート、アルキルカルボキシレート、ラウロイルサルコシナトリウム、カルボキシレートフルオロ界面活性剤、コール酸ナトリウムおよびデオキシコール酸ナトリウムからなる群より選ばれる１種以上の陰イオン界面活性剤である、請求項７に記載の方法。

[請求項9] 前記陰イオン界面活性剤が、アルキルサルフェートである、請求項７に記載の方法。

[請求項10] 前記アルキルサルフェートが、ドデシル硫酸ナトリウムまたはドデシル硫酸アンモニウムである、請求項９に記載の方法。

[請求項11] 前記界面活性剤の濃度が、０．０２～０．５％（w/v）である、請求項１～１０のいずれか１項に記載の方法。

[請求項12] 前記検体処理液が、水酸化物を含む、請求項１～１１のいずれか１項に記載の方法。

[請求項13] 前記水酸化物が、水酸化ナトリウムまたは水酸化カリウムである、請求項１２に記載の方法。

[請求項14] 前記水酸化物の濃度が、１０～１００mMである、請求項１２または１３に記載の方法。

[請求項15] 前記工程（３）における検体と検体処理液との混合比が、体積比として１：３～６である、請求項１～１４のいずれか１項に記載の方法。

[請求項16] 前記逆転写酵素が、AMV逆転写酵素、MMLV逆転写酵素、HIV逆転写酵素およびこれらの変異体からなる群より選ばれる、請求項１～１５のいずれか１項に記載の方法。

[請求項17] 前記DNAポリメラーゼが、Taq DNAポリメラーゼ、Tth DNAポリメラーゼ、KOD DNAポリメラーゼ、Pfu DNAポリメラーゼおよびこれらの変異体からなる群より選ばれる、請求項１

～16のいずれか1項に記載の方法。

- [請求項18] 前記工程（5）が、リアルタイム測定によって行われる、請求項1～17のいずれか1項に記載の方法。
- [請求項19] 前記工程（3）が、1～60℃の温度下で行われる、請求項1～18のいずれか1項に記載の方法。
- [請求項20] 前記工程（3）～（5）が、同一容器内で行われる、請求項1～19のいずれか1項に記載の方法。
- [請求項21] 前記工程（5）において、蛍光フィルターを用いてRT-PCR産物の増幅曲線を測定し、検体におけるRNAウイルスの存在が陽性であること、または陰性であることを判定する、請求項1～20のいずれか1項に記載の方法。
- [請求項22] 1種以上の界面活性剤を含む検体処理液、ならびに逆転写酵素およびDNAポリメラーゼを含む1ステップRT-PCR反応液を含む、RNAウイルスの検出キット。
- [請求項23] 前記RNAウイルスが、ノロウイルス、ロタウイルス、ライノウイルス、コロナウイルス、ヒト免疫不全ウイルス、C型肝炎ウイルス、日本脳炎ウイルスおよびデングウイルスからなる群より選ばれる、請求項22に記載のキット。
- [請求項24] 前記RNAウイルスが、ノロウイルスである、請求項22に記載のキット。
- [請求項25] ノロウイルス遺伝子型が、ジェノグループI（GI）であること、またはジェノグループII（GII）であることを判定する、請求項24に記載のキット。
- [請求項26] 前記界面活性剤が、陰イオン界面活性剤である、請求項22～25のいずれか1項に記載のキット。
- [請求項27] 前記陰イオン界面活性剤が、アルキルサルフェート、アルキルエーテルサルフェート、ドキュセート、スルホネートフルオロ界面活性剤、アルキルベンゼンスルホネート、アルキルアリールエーテルホスフ

エート、アルキルエーテルホスフェート、アルキルカルボキシレート、ラウロイルサルコシナトリウム、カルボキシレートフルオロ界面活性剤、コール酸ナトリウムおよびデオキシコール酸ナトリウムからなる群より選ばれる1種以上の陰イオン界面活性剤である、請求項26に記載のキット。

[請求項28] 前記陰イオン界面活性剤が、アルキルサルフェートである、請求項26に記載のキット。

[請求項29] 前記アルキルサルフェートが、ドデシル硫酸ナトリウムまたはドデシル硫酸アンモニウムである、請求項28に記載のキット。

[請求項30] さらにキットの操作手順書を含む、請求項22～29のいずれか1項に記載のキット。