

【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 3 部門第 2 区分
 【発行日】 平成 17 年 11 月 17 日 (2005.11.17)

【公表番号】 特表 2002-513814(P2002-513814A)
 【公表日】 平成 14 年 5 月 14 日 (2002.5.14)
 【出願番号】 特願 2000-547274(P2000-547274)
 【国際特許分類第 7 版】

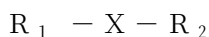
C 0 7 H 23/00
 C 1 2 M 1/00
 C 1 2 N 15/09
 C 1 2 Q 1/68
 G 0 1 N 33/53
 G 0 1 N 33/566

【F I】

C 0 7 H 23/00
 C 1 2 M 1/00 A
 C 1 2 Q 1/68 A
 G 0 1 N 33/53 M
 G 0 1 N 33/566
 C 1 2 N 15/00 F

【手続補正書】
 【提出日】 平成 16 年 4 月 28 日 (2004.4.28)
 【手続補正 1】
 【補正対象書類名】 明細書
 【補正対象項目名】 特許請求の範囲
 【補正方法】 変更
 【補正の内容】
 【特許請求の範囲】

【請求項 1】 下記の式：



(式中、 R_1 はエポキシド基、

R_2 はアルコキシシラン基、

X は前記エポキシド基と前記アルコキシシラン基とを連結するために化学的に好適な部分である) を有する化合物に共有結合した核酸を含んでなる修飾された核酸。

【請求項 2】 前記エポキシド基がエチレンオキシドである請求項 1 の修飾された核酸。

【請求項 3】 前記アルコキシシラン基が、 $-Si(OCH_3)_3$ 、 $-Si(OC_2H_5)_3$ 、 $-Si(OCH_3)_2H$ 、 $-Si(OCH_3)(CH_3)_2$ および $-Si(OCH_3)_2CH_3$ からなる群より選択される請求項 1 の修飾された核酸。

【請求項 4】 前記化合物が 3-グリシドオキシプロピルトリメトキシシランである請求項 1 の修飾された核酸。

【請求項 5】 前記核酸が DNA である請求項 1 の修飾された核酸。

【請求項 6】 前記核酸が RNA である請求項 1 の修飾された核酸。

【請求項 7】 核酸を固体支持体に固定化する方法であって、

式： $R_1 - X - R_2$ (式中、 R_1 はエポキシド基、 R_2 はアルコキシシラン基、X は前記エポキシド基と前記アルコキシシラン基とを連結するために化学的に好適な部分である) の化合物を核酸と反応させて、誘導体化された核酸を得る工程；および前記誘導体化された核酸を前記固体支持体と反応させる工程

を含む方法。

【請求項 8】 前記化合物が 3-グリシドオキシプロピルトリメトキシシランである請求項 7 の方法。

【請求項 9】 前記核酸が DNA である請求項 7 または 8 の方法。

【請求項 10】 前記核酸が RNA である請求項 7 または 8 の方法。

【請求項 11】 前記第 1 の反応工程が塩基性 pH で行われる請求項 7 または 8 の方法。

【請求項 12】 前記第 1 の反応工程が約 6 ～ 約 12 の pH で行われる請求項 9 の方法。

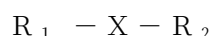
【請求項 13】 前記第 1 の反応工程が約 6 ～ 約 8.5 の pH で行われる請求項 10 の方法。

【請求項 14】 前記 pH が 9.5 よりも大きい請求項 11 の方法。

【請求項 15】 前記固体支持体がガラスである請求項 7 または 8 の方法。

【請求項 16】 前記第 2 の反応工程がほぼ中性 pH で行われる請求項 7 または 8 の方法。

【請求項 17】 下記の式：



(式中、 R_1 はアミノ基、

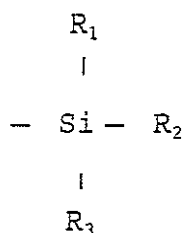
R_2 はアルコキシシラン基、

X は前記アミノ基と前記アルコキシシラン基とを連結するために化学的に好適な部分である)を有する化合物に共有結合した核酸を含んでなる修飾された核酸。

【請求項 18】 前記アミノ基が一級アミンである請求項 17 の修飾された核酸。

【請求項 19】 前記アルコキシシラン基が、 $-Si(OCH_3)_3$ 、 $-Si(OC_2H_5)_3$ 、および

【化 1】



(式中、 R_1 、 R_2 および R_3 は、 $-H$ 、 $-CH_3$ 、 $-OCH_3$ および $-OC_2H_5$ からなる群より選択されるが、 R_1 、 R_2 または R_3 の少なくとも 1 つは $-OCH_3$ または $-OC_2H_5$ のいずれかである) からなる群より選択される請求項 17 の修飾された核酸。

【請求項 20】 前記化合物が 3-アミノプロピルトリエトキシシランである請求項 17 の修飾された核酸。

【請求項 21】 前記核酸が DNA である請求項 17 の修飾された核酸。

【請求項 22】 前記核酸が RNA である請求項 17 の修飾された核酸。

【請求項 23】 前記核酸がシトシン残基を含有する請求項 17 の修飾された核酸。

【請求項 24】 核酸を固体支持体に固定化する方法であって、

式： $R_1 - X - R_2$ (式中、 R_1 はアミノ基、 R_2 はアルコキシシラン基、X は前記アミノ基と前記アルコキシシラン基とを連結するために化学的に好適な部分である)の化合物を核酸と反応させて、誘導体化された核酸を得る工程；および前記誘導体化された核酸を前記固体支持体と反応させる工程を含む方法。

【請求項 25】 前記化合物が 3-アミノプロピルトリエトキシシランである請求項 24 の方法。

【請求項 2 6】 前記核酸が DNA である請求項 2 4 または 2 5 の方法。

【請求項 2 7】 前記核酸が RNA である請求項 2 4 または 2 5 の方法。

【請求項 2 8】 前記核酸がシトシン残基を含有する請求項 2 4 または 2 5 の方法

。

【請求項 2 9】 前記第 1 の反応工程が本質的には中性 pH で行われる請求項 2 4 または 2 5 の方法。

【請求項 3 0】 前記第 1 の反応工程が pH 約 6.0 ～ 約 7.0 で行われる請求項 2 7 の方法。

【請求項 3 1】 前記第 1 の反応工程が重亜硫酸ナトリウムの存在下で行われる請求項 2 4 または 2 5 の方法。

【請求項 3 2】 前記固体支持体がガラスである請求項 2 4 または 2 5 の方法。

【請求項 3 3】 遠位端および先細り状の近位端を有する多数の毛細管マイクロピペットを含む、高密度マイクロアレイ作製用装置であって、前記マイクロピペットは、実質的に密着充填された配列で赤道上に配列され；かつそれぞれの前記近位端で先細り状であり、そして前記両端は本質的に平面状である装置。

【請求項 3 4】 前記マイクロピペットが密着充填された正方形配列で配列されている請求項 3 3 の装置。

【請求項 3 5】 前記マイクロピペットがフレームによって結束されている請求項 3 3 の装置。

【請求項 3 6】 前記マイクロピペットが基部に固定されている請求項 3 5 の装置

。

【請求項 3 7】 固体支持体；前記核酸を、3-グリシドオキシプロピルトリメトキシシランおよび3-アミノプロピルトリエトキシシランからなる群より選択されるアルコキシシランと反応させることによって調製され、かつ規則正しく離れたスポットで前記固体支持体に固定化されている修飾された核酸を含んでなる高密度マイクロアレイ。

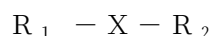
【請求項 3 8】 前記固体支持体がガラスである請求項 3 7 の高密度マイクロアレイ。

【請求項 3 9】 前記離れたスポットが直径約 50 ミクロンである請求項 3 7 の高密度マイクロアレイ。

【請求項 4 0】 請求項 3 7 の修飾された核酸；
前記修飾された核酸試料を密着配置した試料の前記多数が設置されている固体支持体を含んでなる高密度マイクロアレイ。

【請求項 4 1】 前記試料が高密度マイクロアレイ作製用装置を使用して前記固体支持体に設置されている請求項 3 7 の高密度マイクロアレイ。

【請求項 4 2】 下記の式：



（式中、 R_1 は環状エーテル、

R_2 は $-NR_4$ であり、この場合、各 R_3 基は同じアルキル基または異なるアルキル基であり、 R_4 は $-H$ またはアルキル基であり；および X は前記環状エーテル基と前記アルコキシシラン基とを連結するために化学的に好適な部分である）を有する化合物に共有結合した核酸を含んでなる修飾された核酸。

【請求項 4 3】 前記化合物が、 $-(CH_2)_8SiCl_3$ 、 $-(CH_2)_8Si(OCH_3)_3$ 、 $-(CH_2)_4SiCl_2CH_3$ および $-CH_2CH_2CH_2Si(OCH_3)_3$ からなる群より選択される請求項 4 2 の修飾された核酸。

【請求項 4 4】 多数の修飾されたシラン部分が固定された固体支持体を含む高密度マイクロアレイであって、前記シラン部分は、 $-Si-(CH_2)_n-$ （ただし、 $n = 3, 4, 5, 6, 7, 8$ または 9 ）および $-Si-CH_2-CH_2-\underline{C_4H_8}-CH_2-CH_2-Si-$ からなる群より選択される高密度マイクロアレイ。

【請求項 4 5】 ガラス固体支持体の静電特性を調節する方法であって、前記固

体支持体を、1, 6-ビス-トリクロロシリルヘキサン、1, 8-ビス-トリクロロシリルオクタン、1, 6-ビス-トリメトキシシリルヘキサン、および1, 4-ビス-トリメチルオキシシリルエチルベンゼンからなる群より選択されるシランと選択的に反応する工程を含む方法。

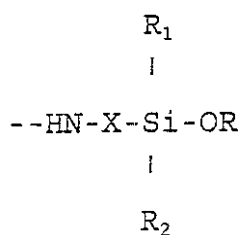
【請求項46】 前記核酸のグアニン塩基またはシトシン塩基をN-ブロモスクシンイミドと約8.0のpHで反応させて、臭素化された核酸を得る工程；および前記臭素化された核酸を、式 $\text{H}_2\text{N}-(\text{CH}_2)_n-\text{Si}(\text{OC}_2\text{H}_5)_3$ （ただし、 $n=3, 4, 5, 6, 7, 8$ または9）を有するシランと反応させる工程によって調製される修飾された核酸。

【請求項47】 式： $-\text{HN}-(\text{CH}_2)_n-\text{Si}(\text{OR})_3$ （ただし、 $n=3, 4, 5, 6, 7, 8$ または9）を有する化合物に共有結合した核酸を含んでなる修飾された核酸。

【請求項48】 Rが、 $-\text{CH}_3$ 、 $-\text{C}_2\text{H}_5$ および $-\text{C}_3\text{H}_7$ からなる群より選択される請求項47の修飾された核酸。

【請求項49】 下記の式：

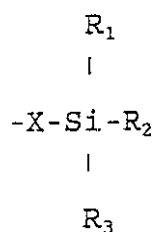
【化2】



（式中、Rは、 $-\text{CH}_3$ 、 $-\text{C}_2\text{H}_5$ および $-\text{C}_3\text{H}_7$ からなる群より選択され； R_1 および R_2 は同一または異なって、 $-\text{H}$ 、 $-\text{CH}_3$ 、 $-\text{C}_2\text{H}_5$ 、 $-\text{OCH}_3$ 、 $-\text{OC}_2\text{H}_5$ 、 $-\text{C}_3\text{H}_7$ および $-\text{OC}_3\text{H}_7$ からなる群より選択され；ならびにX連結基は、少なくとも部分的な脂肪族鎖を含む）を有する化合物に共有結合した核酸を含んでなる修飾された核酸。

【請求項50】 下記の式：

【化3】



（式中、 R_1 、 R_2 および R_3 は同一または異なって、 $-\text{OCH}_3$ 、 $-\text{OC}_2\text{H}_5$ 、 $-\text{OC}_3\text{H}_7$ および $-\text{Cl}$ からなる群より選択され；Xは、前記核酸を前記化合物に連結するために化学的に好適な部分である）を有する化合物に共有結合した核酸を含んでなる修飾された核酸。