

【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27年3月12日(2015.3.12)

【公表番号】特表2014-506879(P2014-506879A)
 【公表日】平成26年3月20日(2014.3.20)
 【年通号数】公開・登録公報2014-015
 【出願番号】特願2013-552130(P2013-552130)
 【国際特許分類】

C 0 7 D 495/04 (2006.01)
 G 0 1 N 33/53 (2006.01)
 G 0 1 N 33/566 (2006.01)
 G 0 1 N 27/62 (2006.01)
 C 0 7 K 14/705 (2006.01)

【F I】

C 0 7 D 495/04 1 0 3
 C 0 7 D 495/04 C S P
 G 0 1 N 33/53 D
 G 0 1 N 33/566
 G 0 1 N 27/62 V
 C 0 7 K 14/705

【手続補正書】

【提出日】平成27年1月21日(2015.1.21)

【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

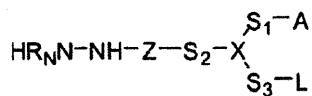
【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

下記式 I の三官能性架橋剤であって、
 【化1】

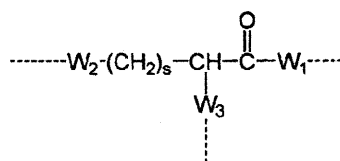


I

前記式中、

Xは、下記式 I I のコア構造であり、

【化2】



II

前記式中、

点線は、基 S_1 、 S_2 、 S_3 への W_1 、 W_2 、 W_3 の結合を表し、
 W_1 は、 $-NH-$ 、 $-O-$ 、 $-S-$ であり、かつ
 W_2 、 W_3 は、互いに独立に $-COO-$ 、 $-OOC-$ 、 $-CONH-$ 、 $-NHCO-$ 、 $-NH-$ 、 $-O-$ 、 $-S-$ から選択される官能基であり、かつ
 s は 1 ~ 12 であり、
 A は、アフィニティー基であり、当該アフィニティー基は、特定の結合相手に対する結合アフィニティーにより、アフィニティー精製法を用いて三官能性架橋剤の分離及び単離を可能にするものであり、
 S_1 、 S_2 、 S_3 は、互いに独立に、
 (i) 単結合、又は
 (ii) 直鎖又は分枝、置換又は非置換の C (1 ~ 24) アルキレンから選択されるスペーサー基であり、
 ここで 1 個又は複数の $-CH_2-$ 基は、互いに独立に 1 個又は複数の架橋基により、及び / 又は非置換の又は置換シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、アリール、ヘテロアリールにより置換されていてもよい；但し、ヘテロ原子は、互いに直接に結合しておらず、
 L は、 $-COOH$ 、 $-NH_2-$ 、 $-OH$ 、 $-SH$ 、 $-CH=CH-$ 、及び $-CH=CH-COOH$ から成る群から選択される配位子反応基であるか、又はアリール若しくはアルキル活性化カルボン酸エステルの群から選択されるアミン反応基であり、
 Z は、アリール又はヘテロアリールであり、かつ
 R_N は、トリフルオロアセチル、*t*-ブトキシカルボニル、ベンジルオキシカルボニル、及びフルオレニルメチルオキシカルボニルから選択されるヒドラジン保護基である、
 前記三官能性架橋剤。
 【請求項 2】
 W_1 及び W_3 は、 $-NH-$ であり、かつ W_2 は、 $-CONH-$ である、請求項 1 に記載の三官能性架橋剤。
 【請求項 3】
 L は、*N*-ヒドロキシスクシンイミドエステル、及びスルホ-*N*-ヒドロキシスクシンイミドエステルから成る群から選択される活性化された官能基である、請求項 1 又は 2 に記載の三官能性架橋剤。
 【請求項 4】
 L は、*N*-ヒドロキシスクシンイミドエステルの群から選択されるアミン反応基である、請求項 1 から 3 までのいずれか 1 項に記載の三官能性架橋剤。
 【請求項 5】
 S_1 、 S_2 、 S_3 は、互いに独立に直鎖又は分枝、置換又は非置換の C (1 ~ 24) アルキレンであり、
 ここで 1 個又は複数の $-CH_2-$ 基は、互いに独立に 1 個又は複数の架橋基により、及び / 又は非置換若しくは置換シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、アリール、ヘテロアリールにより置換されていてもよい；但し、ヘテロ原子は、互いに直接に結合していない、請求項 1 から 4 までのいずれか 1 項に記載の三官能性架橋剤。
 【請求項 6】
 S_1 、 S_2 、 S_3 は、互いに独立に、式 (a) 及び / 又は (b) :
 (a) $- [Y_1 - (CH_2)_n]_p -$
 (b) $- [Y_2 - (CH_2)_m - Y_3]_q -$
 の 1 つ又は複数の繰り返し単位、又はそれらの組合せを有する直鎖であり、
 前記式中、
 Y_1 、 Y_2 、 Y_3 は互いに独立に、 $-O-$ 、 $-CO-$ 、 $COO-$ 、 $-OCO-$ 、 $-O-CO-O-$ 、 $-OCH_2-$ 、 $-CH_2O-$ 、 NR_1- 、 $-NR_1-CO-$ 、 $-CO-NR_1-$ から選択される基であり、
 ここで R_1 は、H 又は C (1 ~ 6) -アルキルを表し、かつ

n、m、p及びqは、互いに独立に1～10の整数である、
請求項1から5までのいずれか1項に記載の三官能性架橋剤。

【請求項7】

R_Nは、トリフルオロアセチルである、請求項1から6までのいずれか1項に記載の三官能性架橋剤。

【請求項8】

Zは、非置換若しくは置換フェニル、ナフチル、及びアントラセニルから選択されるアリール基、又は非置換若しくは置換ピリジル、フリル、イミダゾリル、ベンズイミダゾリル、ピリミジニル、チエニル、キノリニル、インドリル、及びチアゾリルから選択されるヘテロアリール基である、請求項1から7までのいずれか1項に記載の三官能性架橋剤。

【請求項9】

Aは、ビオチンであり、かつ/又は

R_Nは、トリフルオロアセチルであり、かつ/又は

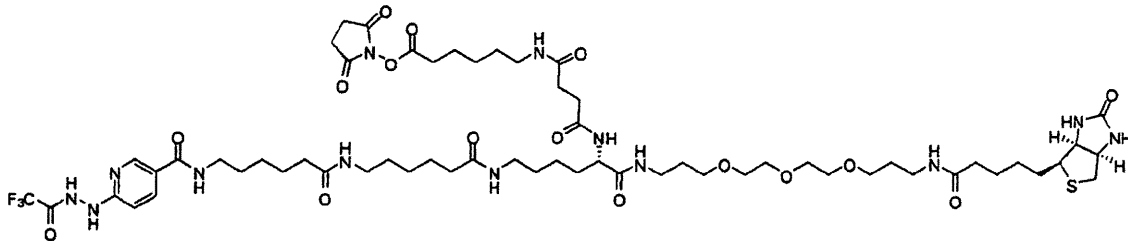
Lは、N-ヒドロキシスクシンイミドである、

請求項1から8までのいずれか1項に記載の三官能性架橋剤。

【請求項10】

下記式：

【化3】



を有する、請求項1から9までのいずれか1項に記載の三官能性架橋剤。

【請求項11】

請求項1から10までのいずれか1項に記載の三官能性架橋剤を有するキット。

【請求項12】

リガンドと標的の糖タンパク質レセプターとの相互作用を特徴付け、かつ分析するための、請求項1から10までのいずれか1項に記載の三官能性架橋剤、又は請求項11に記載のキットの使用。

【請求項13】

標的の糖タンパク質レセプターは、細胞表面又は分泌された糖タンパク質である、請求項12に記載の使用。

【請求項14】

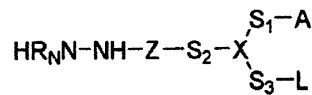
リガンドと、試料中の少なくとも1つの炭水化物残基を有する標的の糖タンパク質レセプターとの間の特異的相互作用を同定する方法であって、ここで、リガンドは標的の糖タンパク質レセプター上のリガンド-特異的ドメインを認識し、次の工程：

i) 標的の糖タンパク質レセプターを有する試料を用意する工程、

ii) 標的の糖タンパク質レセプターを酸化処理し、少なくとも1つの炭水化物残基上にアルデヒド官能基を生じさせることにより、酸化された標的の糖タンパク質レセプターを得る工程、

iii) 請求項1による下記式I

【化 4】



I

の三官能性架橋剤を用意し、前記式中、置換基は請求項 1 から 10 のいずれか 1 項で規定した通りであり、かつリガンド反応基を前記リガンドに共役できるようにし、リガンド - 架橋剤 - 複合体を得る工程、

i v) (a) リガンドが標的の糖タンパク質レセプター上のリガンド特異的ドメインに結合でき、及び (b) 保護されたヒドラジン基がその遊離型に変換され、かつ酸化された標的の糖タンパク質レセプターと反応できる条件下に、試料とリガンド - 架橋剤 - 複合体を接触させ、ペプチド結合二重複合体を得る工程、

v) ペプチド結合二重複合体を試料から単離し、かつ精製する工程、

v i) ペプチドを工程 (i v) で得られた精製ペプチド結合二重複合体から遊離し、遊離ペプチドを得る工程、及び

v i i) 工程 v) で得られた遊離ペプチドを高い質量精度の質量分析法により分析及び定量化する工程、及び

v i i i) コントロール反応との定量的比較により、リガンドと標的の糖タンパク質レセプターの間の相互作用を同定する工程

を有する、前記方法。

【請求項 15】

請求項 14 に記載の方法であって、

(a) 糖タンパク質は、溶液中又は細胞の表面上にあり、かつ / 又は

(c) 工程 (v) が、初めに試料を酵素消化し、処理された細胞試料を得て、引き続き処理された細胞試料のアフィニティー精製を行うことによる、試料からのペプチド結合二重複合体の単離及び精製を含み、かつ / 又は

(d) 工程 (v i) が、グリコシダーゼ処理を行い、遊離ペプチドを得ることによる、工程 (v) で得られた精製されたペプチド結合二重複合体からのペプチドの遊離を含む、前記方法。