

【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22年12月2日(2010.12.2)

【公表番号】特表2010-527580(P2010-527580A)

【公表日】平成22年8月19日(2010.8.19)

【年通号数】公開・登録公報2010-033

【出願番号】特願2009-532723(P2009-532723)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

C 0 7 H 21/02 (2006.01)

C 0 7 F 9/6512 (2006.01)

C 0 7 F 9/6561 (2006.01)

【F I】

C 1 2 N 15/00 Z N A A

C 0 7 H 21/02

C 0 7 F 9/6512

C 0 7 F 9/6561 Z

【手続補正書】

【提出日】平成22年10月15日(2010.10.15)

【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

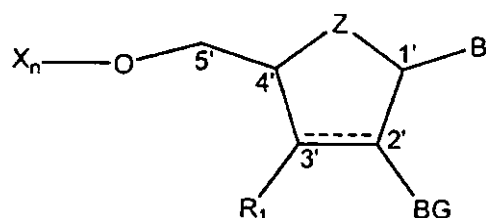
【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

以下の式：

【化1】



{ 式中、

Zは、O又はCH₂であり；

Bは、少なくとも1つの同素環、少なくとも1つの複素環、少なくとも1つのアリール基、又はその組み合わせであり；

BGは、ブロック基であり；

R₁は、H、OH、親水基、又は疎水基であり；

Xは、ヌクレオチド又はヌクレオチド類似体であり；

Nは、0より大きな整数であり；そして

以下：

【化 2】

は単結合又は二重結合を表す。}

で表される2'-ターミネーター・ヌクレオチドを含む、オリゴヌクレオチド又はポリヌクレオチド。

【請求項 2】

前記2'-ターミネーター・ヌクレオチドが、2'-モノホスフェート3'-ヒドロキシル・ヌクレオチドを含む、請求項1に記載のオリゴヌクレオチド又はポリヌクレオチド。

【請求項 3】

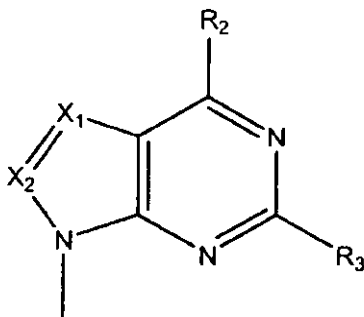
前記2'-ターミネーター・ヌクレオチドが、以下：G46E E678G CS5 DNAポリメラーゼ、G46E L329A E678G CS5 DNAポリメラーゼ、G46E L329A D640G S671F CS5 DNAポリメラーゼ、G46E L329A D640G S671F E678G CS5 DNAポリメラーゼ、G46E E678G CS6 DNAポリメラーゼ、Z05Rポリメラーゼ、E615G Taq DNAポリメラーゼ、サーマス・フラバス・ポリメラーゼ、TMA-25ポリメラーゼ、E678G TMA-25ポリメラーゼ、TMA-30ポリメラーゼ、E678G TMA-30ポリメラーゼ、Tth DNAポリメラーゼ、サーマス属SPS-17ポリメラーゼ、E615G Taqポリメラーゼ、サーマスZ05Rポリメラーゼ、T7 DNAポリメラーゼ、コーンバークDNAポリメラーゼI、クレノウDNAポリメラーゼ、Taq DNAポリメラーゼ、マイクロコッカスDNAポリメラーゼ、DNAポリメラーゼ、逆転写酵素、AMV逆転写酵素、M-MuLV逆転写酵素、DNAポリメラーゼ、RNAポリメラーゼ、E. コリRNAポリメラーゼ、SP6 RNAポリメラーゼ、T3 RNAポリメラーゼ、T4 DNAポリメラーゼ、T7 RNAポリメラーゼ、RNAポリメラーゼII、ターミナル・トランスフェラーゼ、ポリヌクレオチド・ホスホリラーゼ、及びリボヌクレオチド組み込みDNAポリメラーゼから成る群から選択される1種類以上のヌクレオチド組み込み生体触媒によって伸長不可能である、請求項1に記載のオリゴヌクレオチド又はポリヌクレオチド。

【請求項 4】

前記Bが、以下：

a)

【化 3】



{ 式中、

X_1 及び X_2 は、 CR_8 及び N から独立に選択され；

R_2 は、 H 、 OH 、又は NR_4R_5 であり；

R_3 は、 H 、 OH 、又は NR_6R_7 であり；

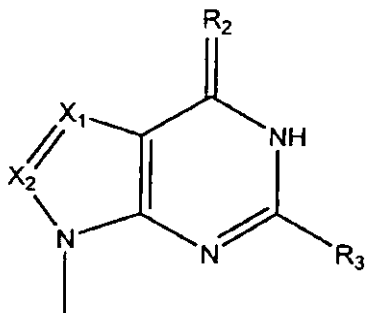
R_4 、 R_5 、 R_6 、及び R_7 は、 H 、アルキル基、アルケニル基、ベンジル基、アリール基、

アリールオキシ基、及びその組み合わせから独立に選択され；そして

R_8 は、H、ハロ基、アルキル基、アルケニル基、アルキニル基、アルキルアミン基、アルケニルアミン基、アルキニルアミン基、アルキル・アルコール基、アルケニル・アルコール基、アルキニル・アルコール基、置換されていないポリエチレングリコール、又は置換されているポリエチレングリコールである。}；

b)

【化 4】



{ 式中、

X_1 及び X_2 は、CH及びNから独立に選択され；

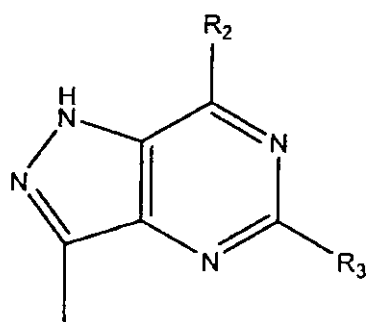
R_2 は、O又はSであり；

R_3 は、H、OH、又は NR_4R_5 であり；そして

R_4 及び R_5 は、H、アルキル基、アルケニル基、ベンジル基、アリール基、及びその組み合わせから独立に選択される。}；

c)

【化 5】



{ 式中、

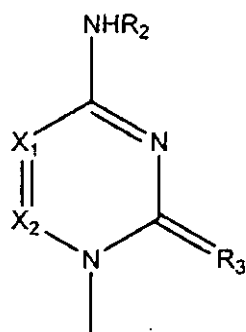
R_2 は、H、OH、又は NR_4R_5 であり；

R_3 は、H、OH、又は NR_6R_7 であり；そして

R_4 、 R_5 、 R_6 、及び R_7 は、H、アルキル基、アルケニル基、アルキニル基、ベンジル基、アリール基、及びその組み合わせから独立に選択される。}；

d)

【化 6】



{ 式中、

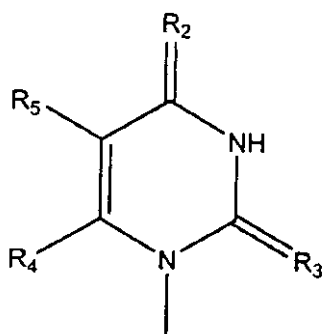
X_1 及び X_2 は、CH 及び N から独立に選択され；

R_2 は、H、アルキル基、アルケニル基、ベンジル基、アリール基、アリールオキシ基、又はその組み合わせから選択され；そして

R_3 は、O 又は S である。 } ；

e)

【化 7】



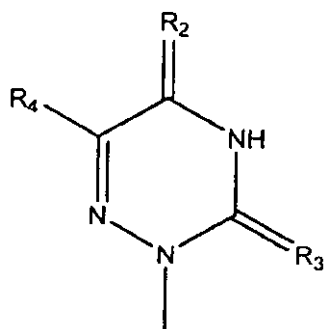
{ 式中、

R_2 及び R_3 は、O 及び S から独立に選択され；そして

R_4 及び R_5 は、H、 NH_2 、SH、OH、アルキル基、アルケニル基、ベンジル基、アリール基、アリールオキシ基、アルコキシ基、ハロ基、及びその組み合わせから独立に選択される。 } ；

f)

【化 8】

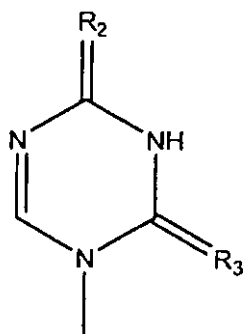


{ 式中、

 R_2 及び R_3 は、O 及び S から独立に選択され；そして R_4 は、H、 NH_2 、SH、OH、アルキル基、アルケニル基、ベンジル基、アリール基、アリールオキシ基、アルコキシ基、ハロ基、又はその組み合わせである。 } ；

g)

【化 9】

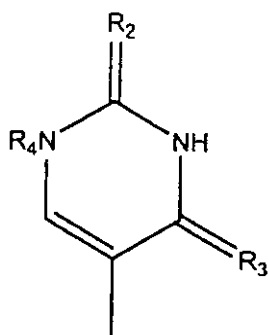


{ 式中、

 R_2 及び R_3 は、O 及び S から独立に選択される。 } ；

h)

【化 1 0】

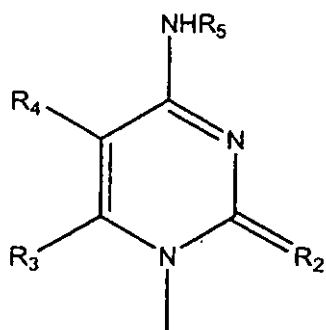


{ 式中、

 R_2 及び R_3 は、O 及び S から独立に選択され；そして R_4 は、H、アルキル基、アルケニル基、又はアルキニル基である。 } ；

i)

【化 1 1】

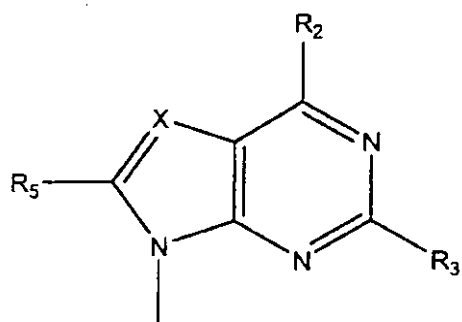


{ 式中、

 R_2 は、O 又は S であり；そして R_3 及び R_4 は、H、 NH_2 、SH、OH、COOH、 COOCH_3 、 $\text{COOCH}_2\text{CH}_3$ 、CHO、 NO_2 、CN、アルキル基、アルケニル基、アルキニル基、ベンジル基、アリール基、アリールオキシ基、アルコキシ基、ハロ基、及びその組み合わせから独立に選択され；そして R_5 は、アルキル基、アルケニル基、アリール基、ベンジル基、又はその組み合わせである。 } ；

j)

【化 1 2】



{ 式中、

Xは、CH又はNであり；

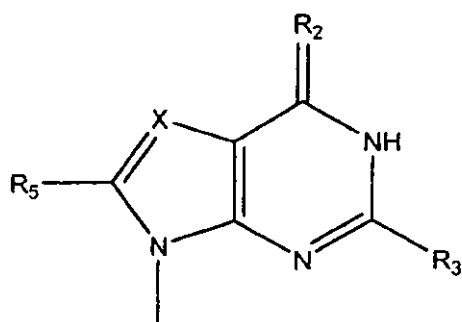
R₂及びR₃は、H、OH、及びNHR₄から独立に選択され；

R₄は、H、アルキル基、アルケニル基、ベンジル基、アリール基、又はその組み合わせであり；そして

R₅は、OH、NH₂、SH、ハロ基、エーテル基、チオエーテル基、アルキル基、アルケニル基、アルキニル基、アルキルアミン基、アルケニルアミン基、アルキニルアミン基、又はその組み合わせである。}；及び

k)

【化 1 3】



{ 式中、

Xは、CH又はNであり；

R₂は、O又はSであり；

R₃は、H、OH、又はNHR₄であり；

R₄は、H、アルキル基、アルケニル基、ベンジル基、アリール基、又はその組み合わせであり；そして

R₅は、OH、NH₂、SH、ハロ基、エーテル基、チオエーテル基、アルキル基、アルケニル基、アルキニル基、アルキルアミン基、アルケニルアミン基、アルキニルアミン基、又はその組み合わせである。}

から成る群から選択される式を含む、請求項1に記載のオリゴヌクレオチド又はポリヌクレオチド。

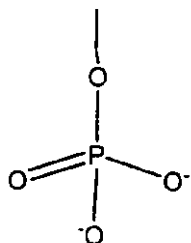
【請求項 5】

前記BGは、CN、NO₂、N₃、ハロ基、エーテル基、アルデヒド基、カルボン酸基、エステル基、アミノ基、OCH₃、OCH₂COOH、O-シリルエーテル基、ケト基、O-ラクトン基、O-アルキル基、O-環式アルキル基、O-アルケニル基、O-アルキニル基、カルバメート基、イミド基、アミド基、及びその組み合わせから成る群から選択される、請求項1に記載のオリゴヌクレオチド又はポリヌクレオチド。

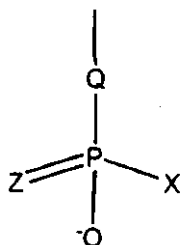
【請求項 6】

前記BGは、以下の式：

【化 1 4】



又は



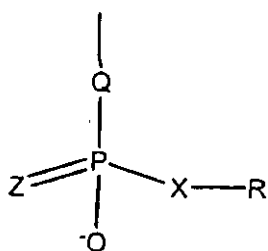
{ 式中、

Qは、O、S、又はNHであり；

Xは、H、OH、CH₃、BH₃、F、又はSeHであり；そして

Zは、O、S、又はSeである。}；

【化 1 5】



{ 式中、

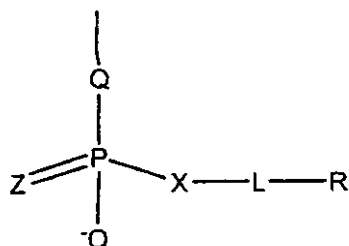
Qは、O、S、又はNHであり；

Xは、O、S、又はNHであり；

Zは、O、S、又はSeであり；そして

Rは、アルキル基、アルケニル基、又はアルキニル基である。}；又は

【化 1 6】



{ 式中、

Qは、O、S、又はNHであり；

Xは、O、S、又はNHであり；

Zは、O、S、又はSeであり；

Lは、 $-\text{CONH}(\text{CH}_2)_n\text{NH}-$ 、 $-\text{CO}(\text{CH}_2)_n\text{NH}-$ 、又は $-\text{CONH}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}-$ であり

；

nは、0より大きな整数であり；そして

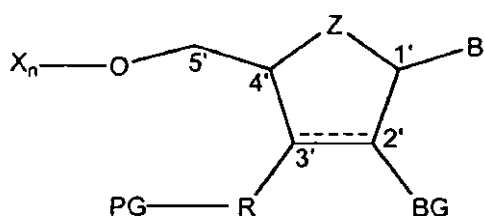
Rは、 NH_2 、SH、COOH、クエンチャー部分、レポーター部分、ビオチン、又は親和性部分である。}を含む、請求項1に記載のオリゴヌクレオチド又はポリヌクレオチド。

【請求項 7】

オリゴヌクレオチド又はポリヌクレオチドの製造法であって、以下のステップ：

(a) 以下の式：

【化 1 7】



{ 式中、

Zは、O又は CH_2 であり；

Bは、少なくとも1つの同素環、少なくとも1つの複素環、少なくとも1つのアリール基、又はその組み合わせであり；

BGは、ブロック基であり；

Rは、O、NH、又はSであり；

PGは、保護基であり；

Xは、ヌクレオチド又はヌクレオチド類似体であり；

nは、0より大きな整数であり；そして

以下：

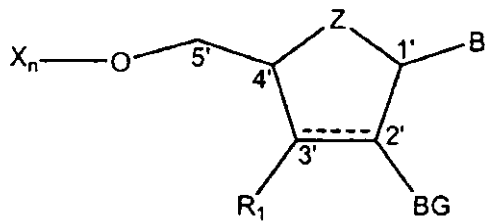
【化 1 8】

は単結合又は二重結合を表す。}

で表される2'-ターミネーター・ヌクレオチドを含む核酸合成試薬を準備し；そして

(b) 上記核酸合成試薬からPGを取り外して、以下の式：

【化 1 9】



{ 式中、 R_1 は、H、OH、親水基、又は疎水基である。 }

で表される2'-ターミネーター・ヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチドを製造し、それによって、上記オリゴヌクレオチド又はポリヌクレオチドを製造すること、を含む、前記製造法。

【請求項 8】

前記2'-ターミネーター・ヌクレオチドが、2'-モノホスフェート3'-ヒドロキシル・ヌクレオチドを含む、請求項7に記載の方法。

【請求項 9】

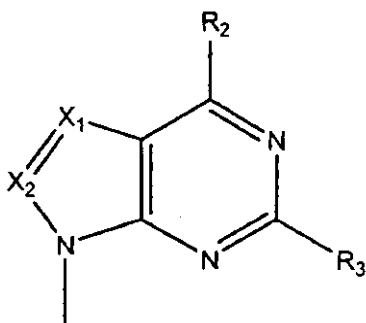
(b)の前に、核酸合成試薬又はその成分を、固体支持体に取り付けるステップを含む、請求項7に記載の方法。

【請求項 10】

前記Bが、以下：

a)

【化 2 0】



{ 式中、

X_1 及び X_2 は、 CR_8 及び N から独立に選択され；

R_2 は、 H 、 OH 、又は NR_4R_5 であり；

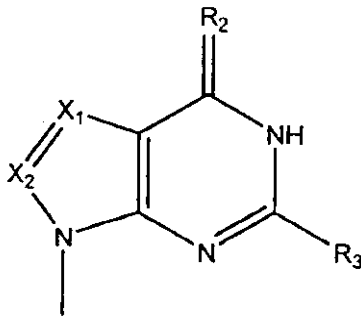
R_3 は、 H 、 OH 、又は NR_6R_7 であり；

R_4 、 R_5 、 R_6 、及び R_7 は、 H 、アルキル基、アルケニル基、ベンジル基、アリール基、アリールオキシ基、及びその組み合わせから独立に選択され；そして

R_8 は、 H 、ハロ基、アルキル基、アルケニル基、アルキニル基、アルキルアミン基、アルケニルアミン基、アルキニルアミン基、アルキル・アルコール基、アルケニル・アルコール基、アルキニル・アルコール基、置換されていないポリエチレングリコール、又は置換されているポリエチレングリコールである。 }；

b)

【化 2 1】



{ 式中、

X_1 及び X_2 は、 CH 及び N から独立に選択され；

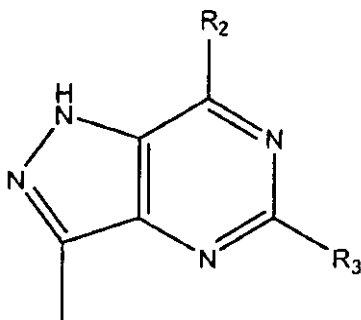
R_2 は、 O 又は S であり；

R_3 は、 H 、 OH 、又は NR_4R_5 であり；そして

R_4 及び R_5 は、 H 、アルキル基、アルケニル基、ベンジル基、アリール基、及びその組み合わせから独立に選択される。 }；

c)

【化 2 2】



{ 式中、

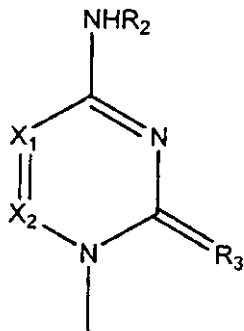
R_2 は、 H 、 OH 、又は NR_4R_5 であり；

R_3 は、H、OH、又は NR_6R_7 であり；そして

R_4 、 R_5 、 R_6 、及び R_7 は、H、アルキル基、アルケニル基、アルキニル基、ベンジル基、アリール基、及びその組み合わせから独立に選択される。}；

d)

【化 2 3】



{ 式中、

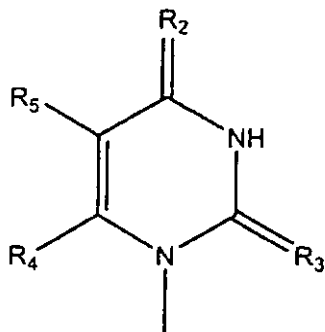
X_1 及び X_2 は、CH 及び N から独立に選択され；

R_2 は、H、アルキル基、アルケニル基、ベンジル基、アリール基、アリールオキシ基、又はその組み合わせから選択され；そして

R_3 は、O 又は S である。}；

e)

【化 2 4】



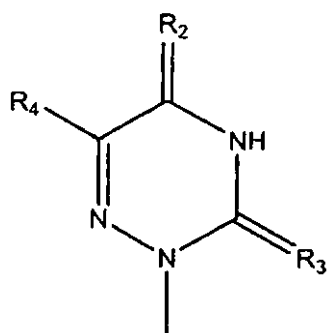
{ 式中、

R_2 及び R_3 は、O 及び S から独立に選択され；そして

R_4 及び R_5 は、H、 NH_2 、SH、OH、アルキル基、アルケニル基、ベンジル基、アリール基、アリールオキシ基、アルコキシ基、ハロ基、及びその組み合わせから独立に選択される。}；

f)

【化 2 5】

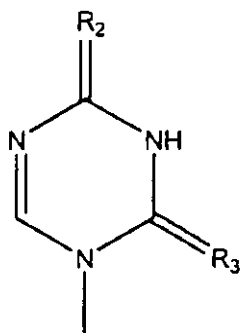


{ 式中、

 R_2 及び R_3 は、O 及び S から独立に選択され；そして R_4 は、H、 NH_2 、SH、OH、アルキル基、アルケニル基、ベンジル基、アリール基、アリールオキシ基、アルコキシ基、ハロ基、又はその組み合わせである。 } ；

g)

【化 2 6】

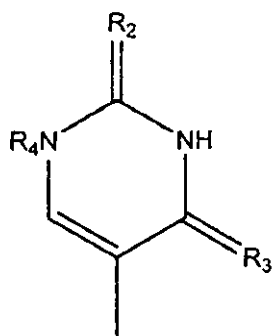


{ 式中、

 R_2 及び R_3 は、O 及び S から独立に選択される。 } ；

h)

【化 2 7】

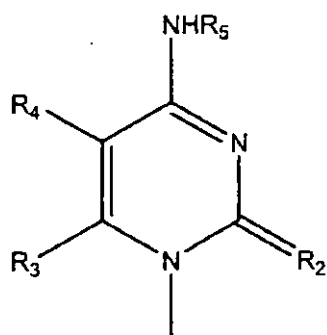


{ 式中、

 R_2 及び R_3 は、O 及び S から独立に選択され；そして R_4 は、H、アルキル基、アルケニル基、又はアルキニル基である。 } ；

i)

【化 2 8】

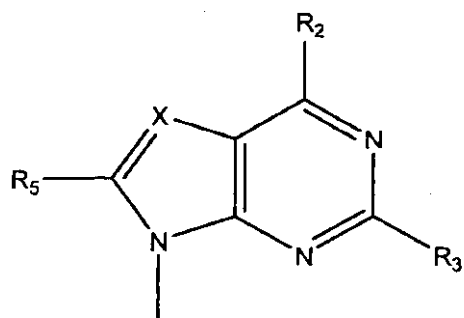


{ 式中、

 R_2 は、O 又は S であり；そして R_3 及び R_4 は、H、 NH_2 、SH、OH、COOH、 COOCH_3 、 $\text{COOCH}_2\text{CH}_3$ 、CHO、 NO_2 、CN、アルキル基、アルケニル基、アルキニル基、ベンジル基、アリール基、アリールオキシ基、アルコキシ基、ハロ基、及びその組み合わせから独立に選択され；そして R_5 は、アルキル基、アルケニル基、アリール基、ベンジル基、又はその組み合わせである。 } ；

j)

【化 2 9】



{ 式中、

Xは、CH又はNであり；

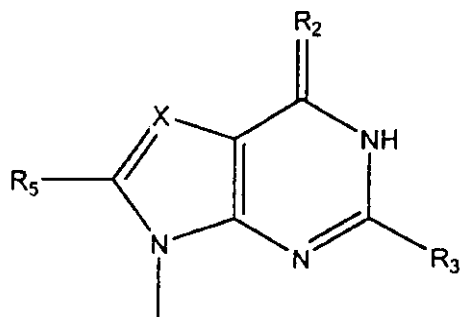
R₂及びR₃は、H、OH、及びNHR₄から独立に選択され；

R₄は、H、アルキル基、アルケニル基、ベンジル基、アリール基、又はその組み合わせであり；そして

R₅は、OH、NH₂、SH、ハロ基、エーテル基、チオエーテル基、アルキル基、アルケニル基、アルキニル基、アルキルアミン基、アルケニルアミン基、アルキニルアミン基、又はその組み合わせである。 }；及び

k)

【化 3 0】



{ 式中、

Xは、CH又はNであり；

R₂は、O又はSであり；

R₃は、H、OH、又はNHR₄であり；

R₄は、H、アルキル基、アルケニル基、ベンジル基、アリール基、又はその組み合わせであり；そして

R₅は、OH、NH₂、SH、ハロ基、エーテル基、チオエーテル基、アルキル基、アルケニル基、アルキニル基、アルキルアミン基、アルケニルアミン基、アルキニルアミン基、又はその組み合わせである。 } から成る群から選択される式を含む、請求項7に記載の方法

。

【請求項 1 1】

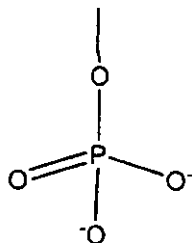
前記BGが、CN、NO₂、N₃、ハロ基、エーテル基、アルデヒド基、カルボン酸基、エステ

ル基、アミノ基、 OCH_3 、 OCH_2COOH 、 O -シリルエーテル基、ケト基、 O -ラクトン基、 O -アルキル基、 O -環式アルキル基、 O -アルケニル基、 O -アルキニル基、カルバメート基、イミド基、アミド基、及びその組み合わせから成る群から選択される、請求項7に記載の方法。

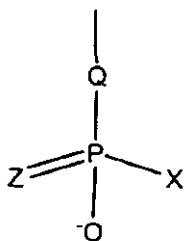
【請求項12】

前記BGが、以下の式：

【化31】



又は



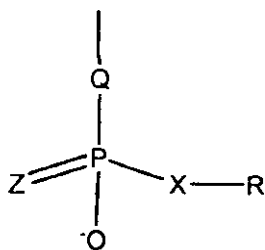
{ 式中、

Qは、 O 、 S 、又は NH であり；

Xは、 H 、 OH 、 CH_3 、 BH_3 、 F 、又は SeH であり；そして

Zは、 O 、 S 、又は Se である。 } ；

【化32】



{ 式中、

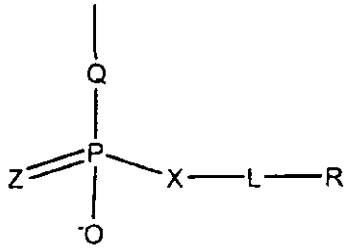
Qは、 O 、 S 、又は NH であり；

Xは、 O 、 S 、又は NH であり；

Zは、 O 、 S 、又は Se であり；そして

Rは、アルキル基、アルケニル基、又はアルキニル基である。 } ；又は

【化 3 3】



{ 式中、

Qは、O、S、又はNHであり；

Xは、O、S、又はNHであり；

Zは、O、S、又はSeであり；

Lは、 $-\text{CONH}(\text{CH}_2)_n\text{NH}-$ 、 $-\text{CO}(\text{CH}_2)_n\text{NH}-$ 、又は $-\text{CONH}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}-$ であり

；

nは、0より大きな整数であり；そして

Rは、 NH_2 、SH、COOH、クエンチャー部分、レポーター部分、ビオチン、又は親和性部分である。}

を含む、請求項7に記載の方法。

【請求項 1 3】

以下：

(a) 2'-ターミネーター・ヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド又はポリヌクレオチドを製造するための教示；又は

(b) 2'-ターミネーター・ヌクレオチド'を含む少なくとも1つのオリゴヌクレオチド又はポリヌクレオチド、
の1つ以上を含むキット。