

【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】令和 1 年 8 月 8 日 (2019.8.8)

【公表番号】特表 2019-500324 (P2019-500324A)

【公表日】平成 31 年 1 月 10 日 (2019.1.10)

【年通号数】公開・登録公報 2019-001

【出願番号】特願 2018-522968 (P2018-522968)

【国際特許分類】

C 0 7 H 19/10 (2006.01)

C 0 9 B 11/28 (2006.01)

C 0 9 B 23/00 (2006.01)

C 0 7 F 7/18 (2006.01)

C 0 7 C 323/12 (2006.01)

C 0 7 H 19/14 (2006.01)

【 F I 】

C 0 7 H 19/10 C S P

C 0 9 B 11/28 E

C 0 9 B 23/00 L

C 0 7 F 7/18 Q

C 0 7 C 323/12

C 0 7 H 19/14

C 0 9 B 11/28 K

【手続補正書】

【提出日】令和 1 年 6 月 26 日 (2019.6.26)

【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

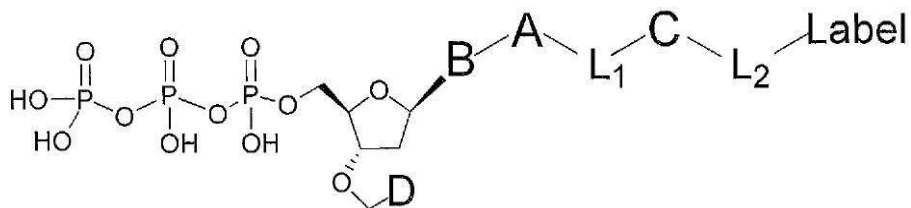
【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

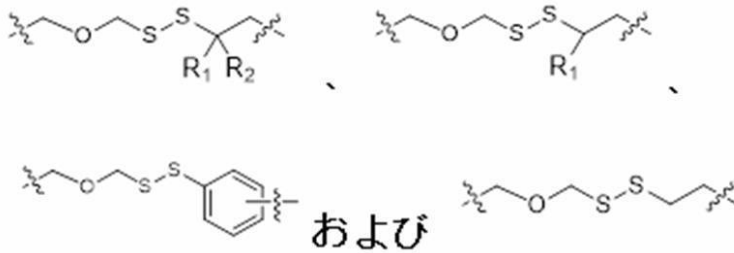
下記の構造：

【化 7 8】



[式中、D は、アジド、ジスルフィドアルキル、ジスルフィド置換アルキル基、ジスルフィドアリルおよびジスルフィド置換アリル基からなる群から選択され；B は、核酸塩基であり；A は、環外アミン、プロパルギルアミンおよびプロパルギルヒドロキシルからなる群から選択される結合基であり；C は、

【化 7 9】



からなる群から選択される開裂可能な部位のコアであり、ここで、 R_1 および R_2 は、独立して選択されるアルキル基であり； L_1 および L_2 は、接続基であり；Label は、フルオロフォア色素、エネルギー移動色素、質量タグ、ビオチンおよびハプテンからなる群から選択される標識である]

に従う、標識されたデオキシヌクレオシドトリホスフェート。

【請求項 2】

前記核酸塩基が、7 - デアザグアニン、7 - デアザアデニン、2 - アミノ - 7 - デアザアデニンおよび 2 - アミノアデニンからなる群から選択される非天然核酸塩基類似体である、請求項 1 に記載の標識されたデオキシヌクレオシドトリホスフェート。

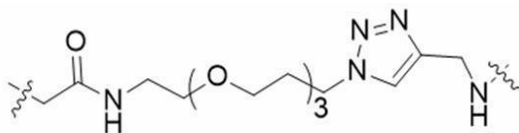
【請求項 3】

L_1 が、 $-\text{CONH}(\text{CH}_2)_x-$ 、 $-\text{CO}-\text{O}(\text{CH}_2)_x-$ 、 $-\text{CONH}-(\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O})_x-$ 、 $-\text{CO}-\text{O}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_x-$ および $-\text{CO}(\text{CH}_2)_x-$ [ここで、 x は、0 ~ 10 である] からなる群から選択される、請求項 1 に記載の標識されたデオキシヌクレオシドトリホスフェート。

【請求項 4】

L_2 が、

【化 A】

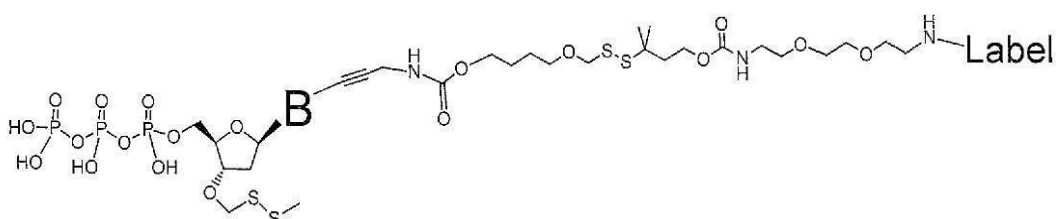


$-\text{NH}-$ 、 $-(\text{CH}_2)_x-\text{NH}-$ 、 $-\text{C}(\text{Me})_2(\text{CH}_2)_x\text{NH}-$ 、 $-\text{CH}(\text{Me})(\text{CH}_2)_x\text{NH}-$ 、 $-\text{C}(\text{Me})_2(\text{CH}_2)_x\text{CO}-$ 、 $-\text{CH}(\text{Me})(\text{CH}_2)_x\text{CO}-$ 、 $-(\text{CH}_2)_x\text{OCONH}(\text{CH}_2)_y\text{O}(\text{CH}_2)_z\text{NH}-$ 、 $-(\text{CH}_2)_x\text{CONH}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_y(\text{CH}_2)_z\text{NH}-$ 、 $-\text{CONH}(\text{CH}_2)_x-$ 、および $-\text{CO}(\text{CH}_2)_x-$ [ここで、 x 、 y および z は、0 ~ 10 からそれぞれ独立して選択される] からなる群から選択される、請求項 1 に記載の標識されたデオキシヌクレオシドトリホスフェート。

【請求項 5】

構造：

【化 8 0】

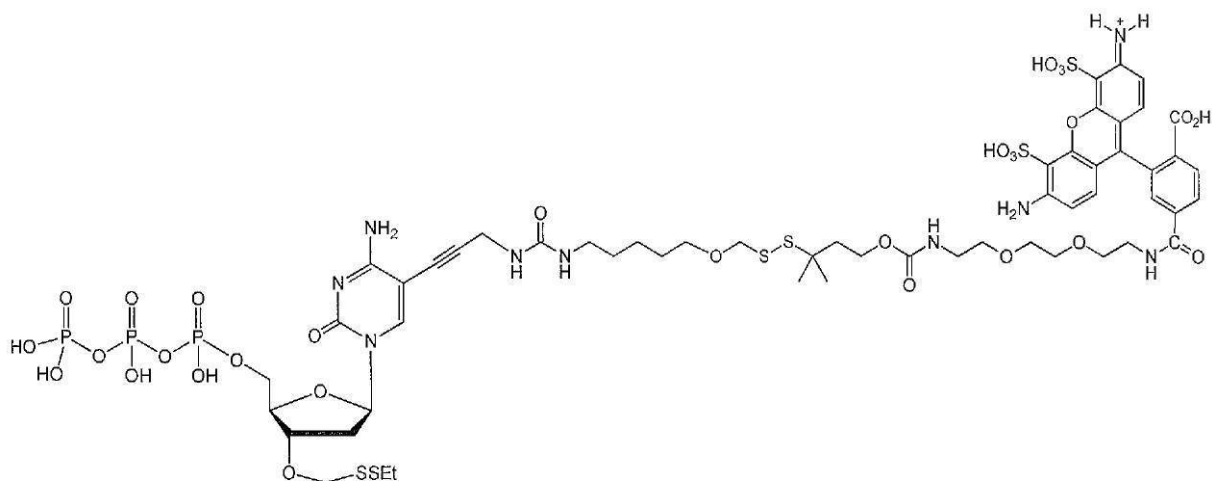


[式中、前記標識は色素である] を有する、請求項 1 に記載の標識されたデオキシヌクレオシドトリホスフェート。

【請求項 6】

構造：

【化 8 1】

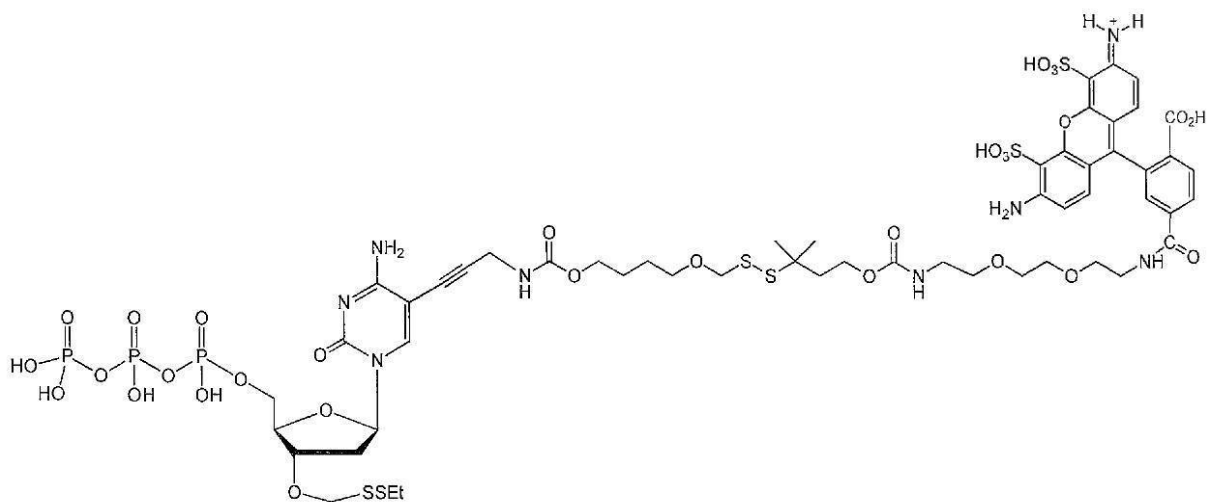


を有する、請求項 1 に記載の標識されたデオキシヌクレオシドトリホスフェート。

【請求項 7】

構造：

【化 8 2】

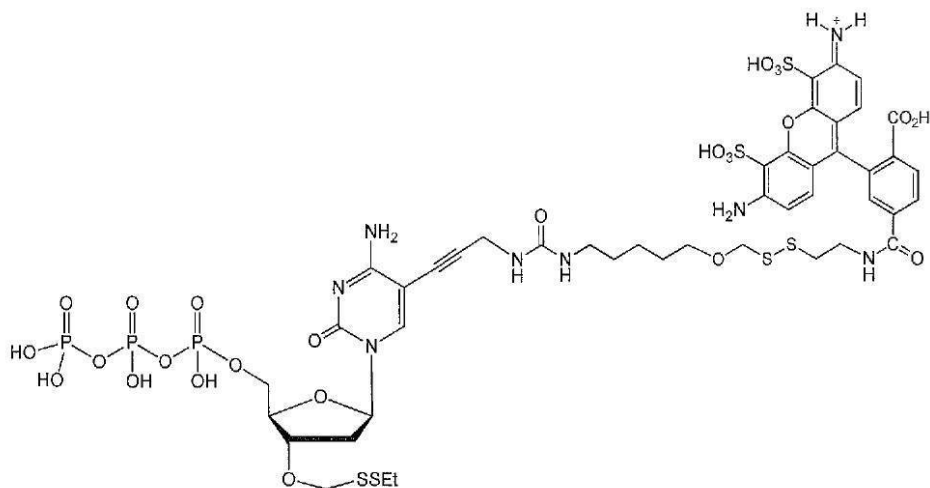


を有する、請求項 1 に記載の標識されたデオキシヌクレオシドトリホスフェート。

【請求項 8】

構造：

【化 8 3】

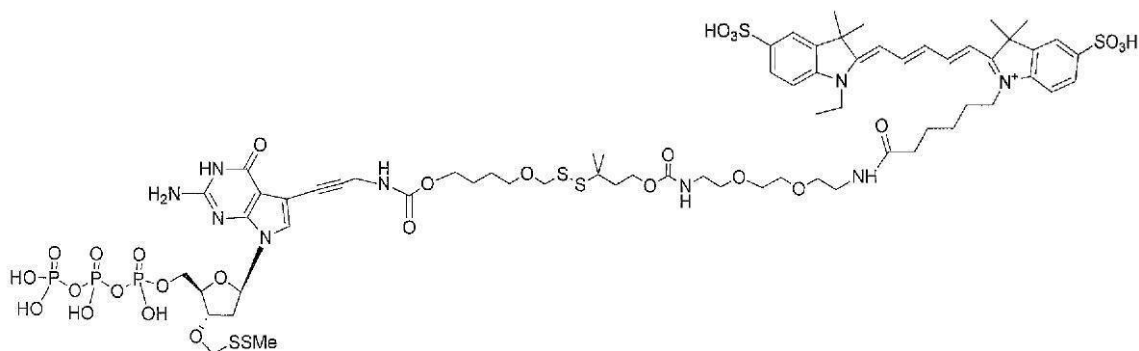


を有する、請求項 1 に記載の標識されたデオキシヌクレオシドトリホスフェート。

【請求項 9】

構造：

【化 8 4】

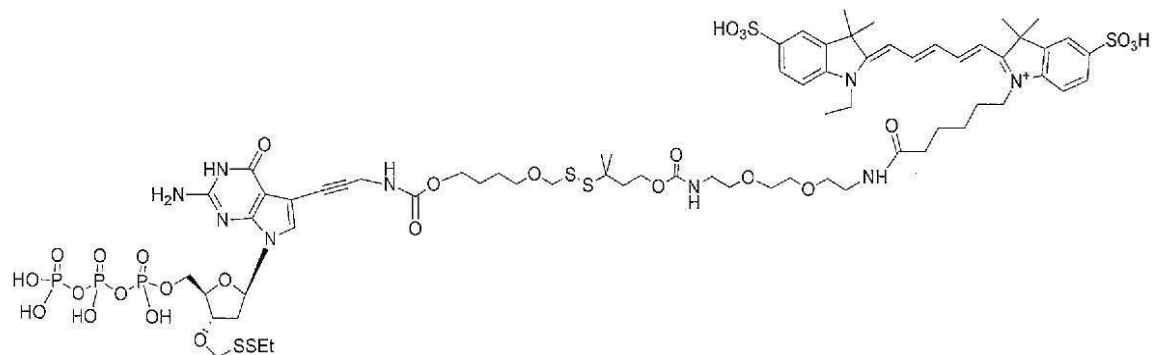


を有する、請求項 1 に記載の標識されたデオキシヌクレオシドトリホスフェート。

【請求項 10】

構造：

【化 8 5】

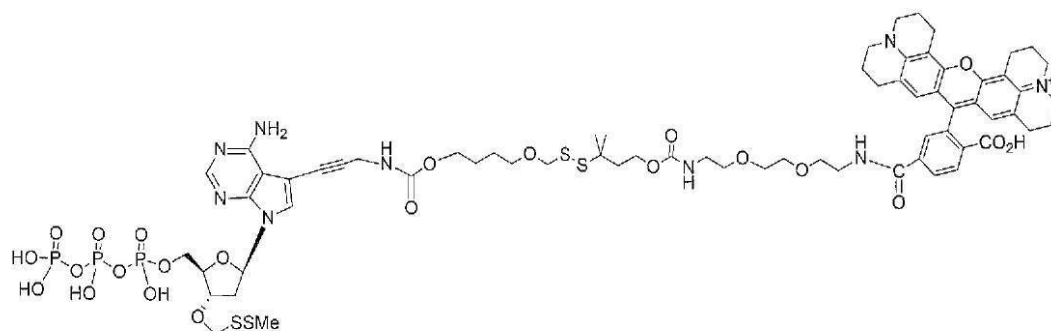


を有する、請求項 1 に記載の標識されたデオキシヌクレオシドトリホスフェート。

【請求項 11】

構造：

【化 8 6】

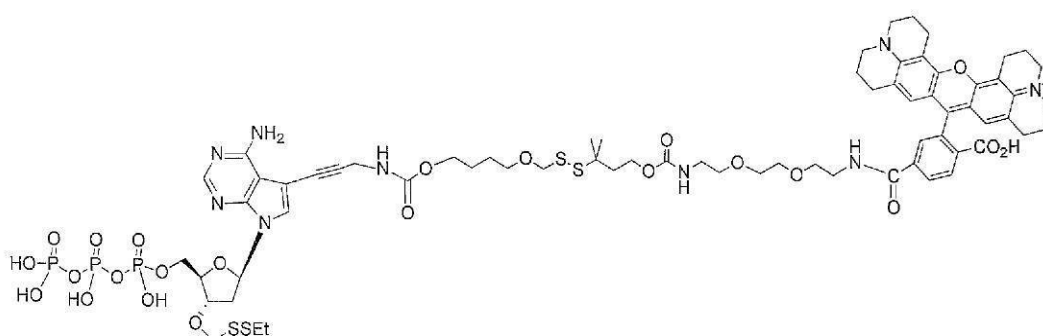


を有する、請求項 1 に記載の標識されたデオキシヌクレオシドトリホスフェート。

【請求項 1 2】

構造：

【化 8 7】

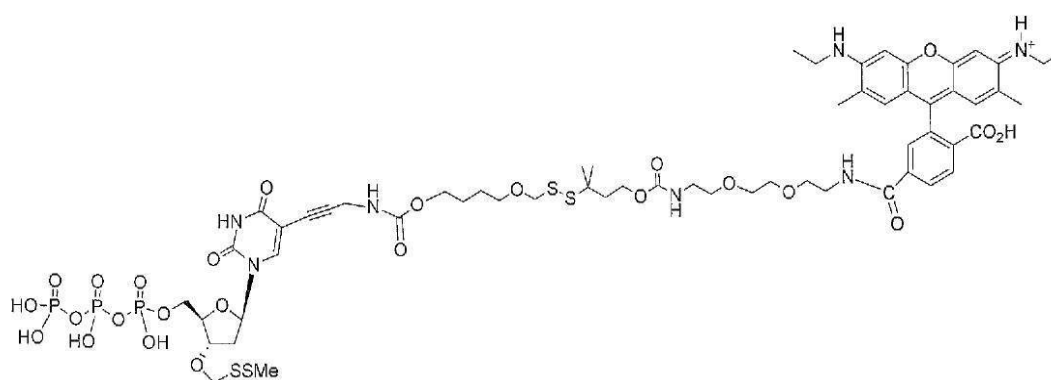


を有する、請求項 1 に記載の標識されたデオキシヌクレオシドトリホスフェート。

【請求項 1 3】

構造：

【化 8 8】

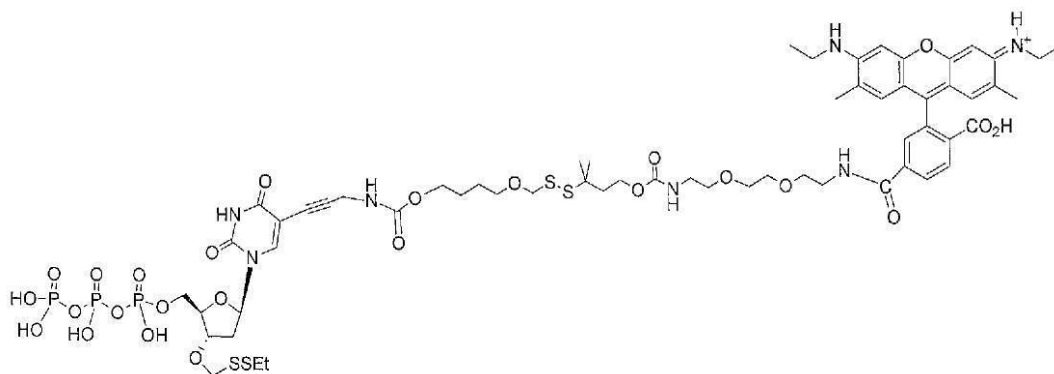


を有する、請求項 1 に記載の標識されたデオキシヌクレオシドトリホスフェート。

【請求項 1 4】

構造：

【化 8 9】

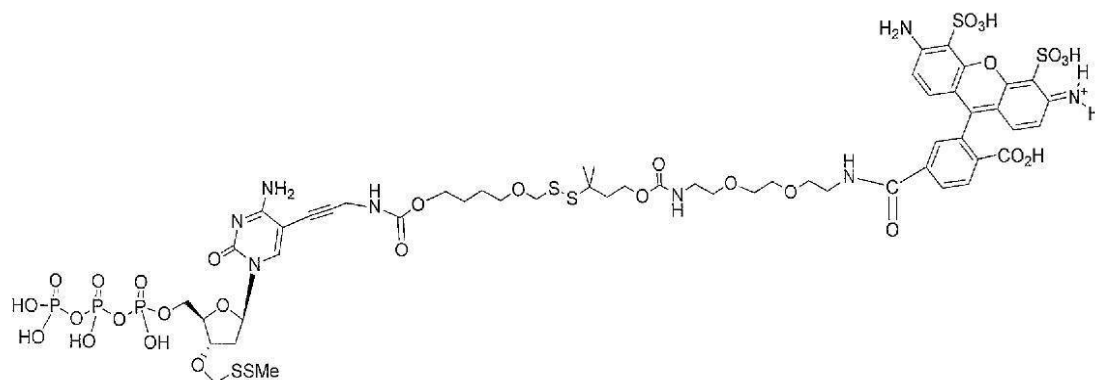


を有する、請求項 1 に記載の標識されたデオキシヌクレオシドトリホスフェート。

【請求項 1 5】

構造：

【化 9 0】

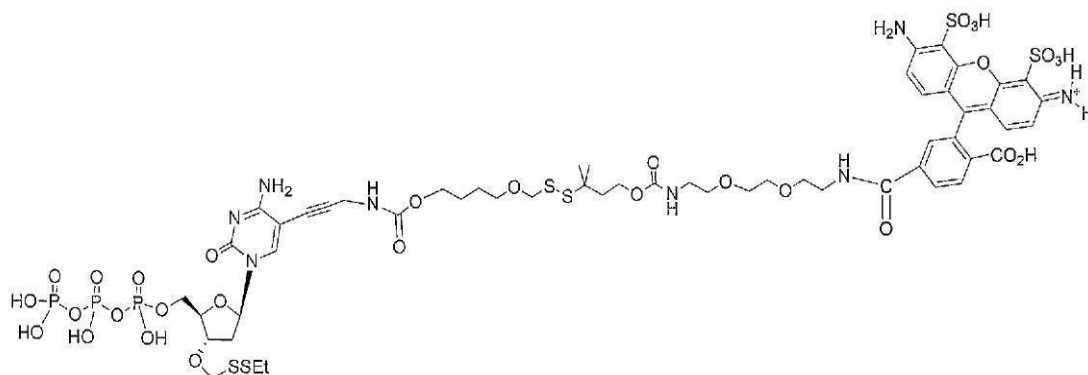


を有する、請求項 1 に記載の標識されたデオキシヌクレオシドトリホスフェート。

【請求項 1 6】

構造：

【化 9 1】

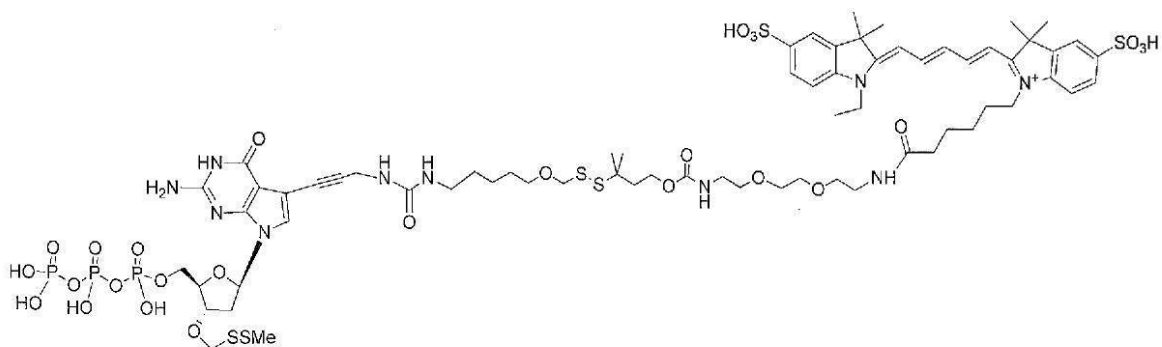


を有する、請求項 1 に記載の標識されたデオキシヌクレオシドトリホスフェート。

【請求項 1 7】

構造：

【化 9 2】

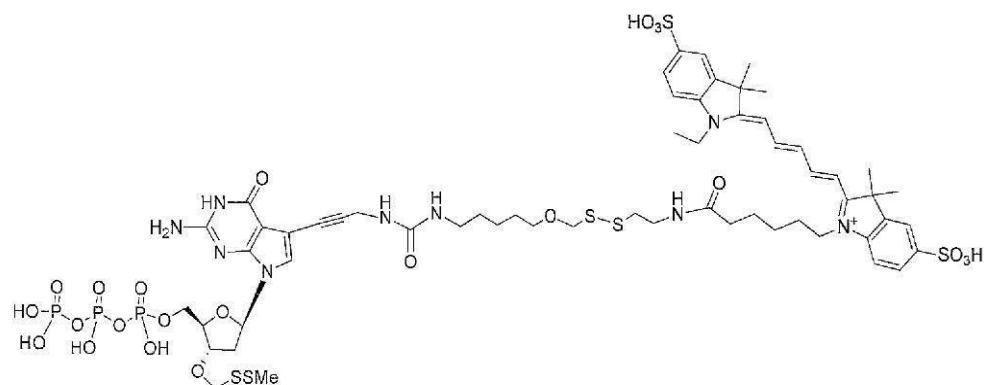


を有する、請求項 1 に記載の標識されたデオキシヌクレオシドトリホスフェート。

【請求項 1 8】

構造：

【化 9 3】

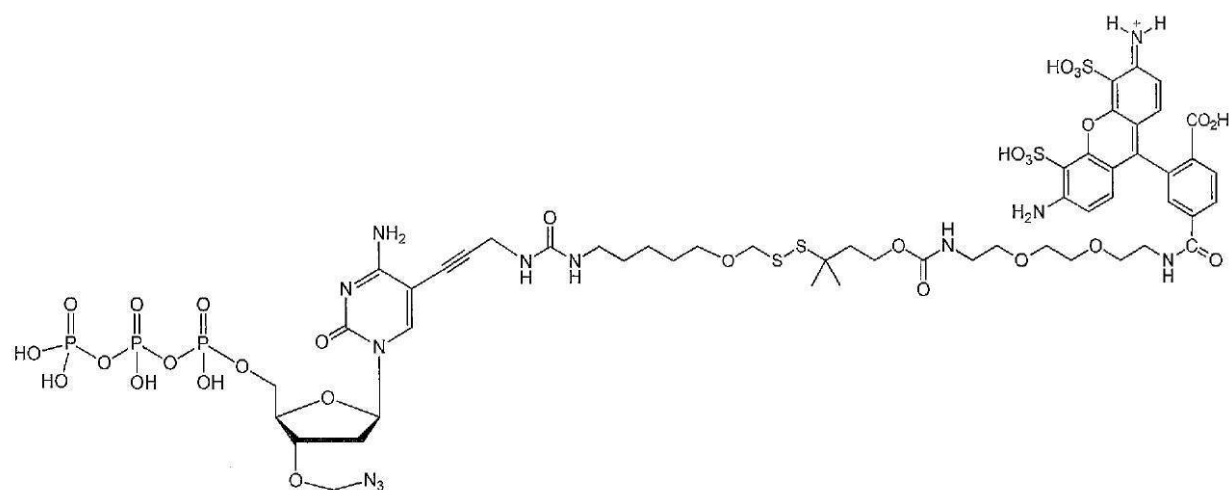


を有する、請求項 1 に記載の標識されたデオキシヌクレオシドトリホスフェート。

【請求項 1 9】

構造：

【化 9 4】

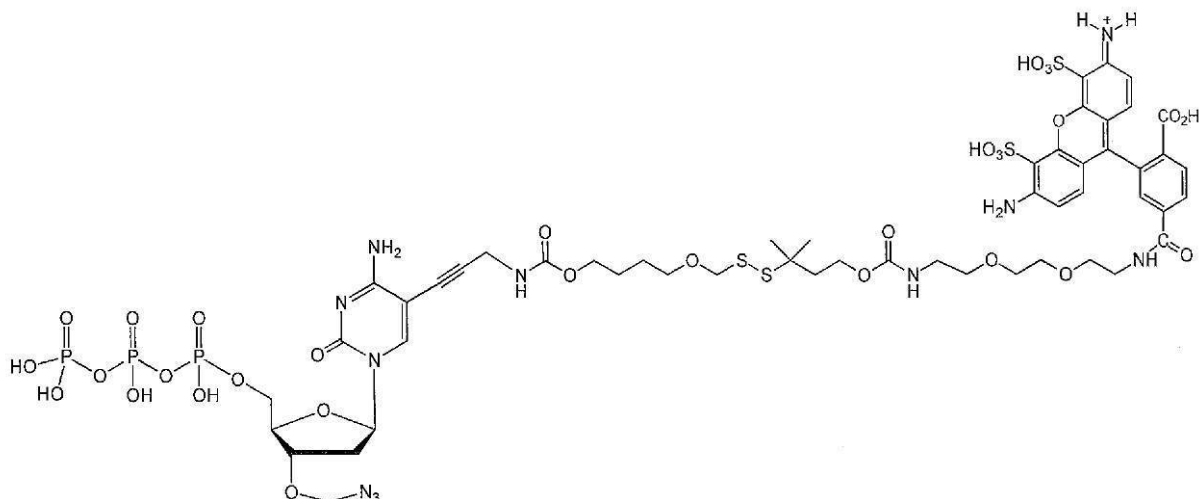


を有する、請求項 1 に記載の標識されたデオキシヌクレオシドトリホスフェート。

【請求項 2 0】

構造：

【化 9 5】

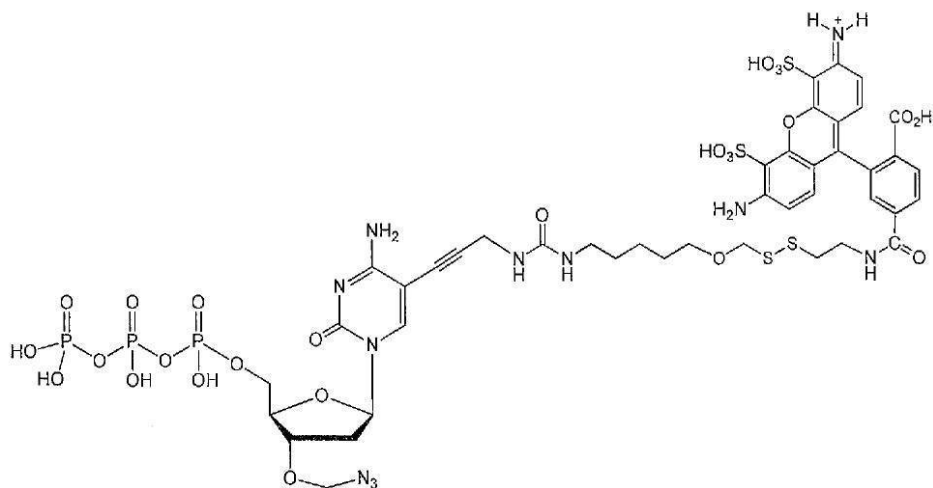


を有する、請求項 1 に記載の標識されたデオキシヌクレオシドトリホスフェート。

【請求項 2 1】

構造：

【化 9 6】

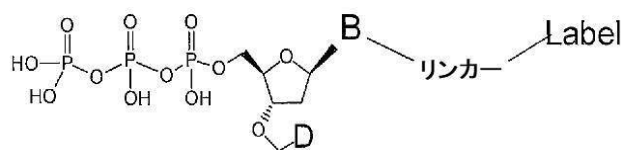


を有する、請求項 1 に記載の標識されたデオキシヌクレオシドトリホスフェート。

【請求項 2 2】

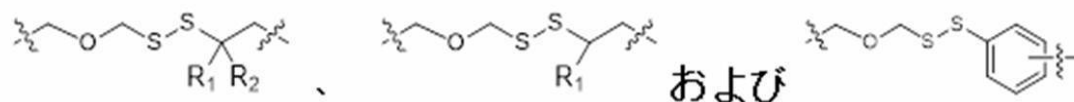
下記の構造：

【化 9 8】



[式中、D は、アジド、ジスルフィドアルキル、ジスルフィド置換アルキル基、ジスルフィドアリルおよびジスルフィド置換アリル基からなる群から選択され；B は、核酸塩基であり；リンカーは、開裂可能なオキシメチレンジスルフィド含有部位のコアを含み、前記開裂可能な部位のコアは、

【化 9 9】



(式中、 R_1 および R_2 は、独立して選択されるアルキル基である)
 からなる群から選択され；Label は、フルオロフォア色素、エネルギー移動色素、質量タグ、ビオチンおよびハプテンからなる群から選択される検出可能な標識である]
 に従う、標識されたデオキシヌクレオシドトリホスフェート。

【請求項 23】

前記リンカーが、0 よりも大きい $\log P$ 値を有する、請求項 22 に記載の標識されたデオキシヌクレオシドトリホスフェート。

【請求項 24】

前記リンカーが、0.1 よりも大きい $\log P$ 値を有する、請求項 22 に記載の標識されたデオキシヌクレオシドトリホスフェート。

【請求項 25】

前記リンカーが、1.0 よりも大きい $\log P$ 値を有する、請求項 22 に記載の標識されたデオキシヌクレオシドトリホスフェート。

【請求項 26】

ポリメラーゼとの混合物中にある、請求項 1 に記載の標識されたデオキシヌクレオシドトリホスフェート。

【請求項 27】

前記核酸塩基が、非天然である、請求項 1 に記載の標識されたデオキシヌクレオシドトリホスフェート。

【請求項 28】

前記非天然核酸塩基が、7-デアザグアニン、7-デアザアデニン、2-アミノ-7-デアザアデニンおよび 2-アミノアデニンからなる群から選択される、請求項 27 に記載の標識されたデオキシヌクレオシドトリホスフェート。

【請求項 29】

前記混合物が、プライマーをさらに含む、請求項 26 に記載の標識されたデオキシヌクレオシドトリホスフェート。

【請求項 30】

前記プライマーが、核酸鋳型にハイブリダイズされている、請求項 29 に記載の標識されたデオキシヌクレオシドトリホスフェート。

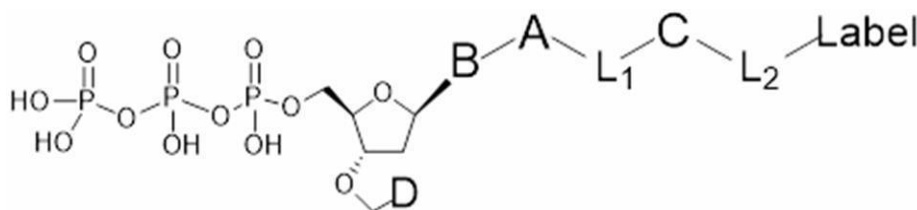
【請求項 31】

前記核酸鋳型が、固定化されている、請求項 30 に記載の標識されたデオキシヌクレオシドトリホスフェート。

【請求項 32】

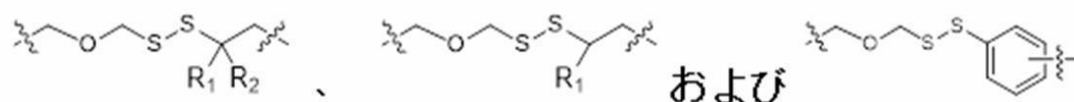
下記の構造：

【化 7 8】



[式中、D は、アジド、ジスルフィドアルキル、ジスルフィド置換アルキル基、ジスルフィドアリルおよびジスルフィド置換アリル基からなる群から選択され；B は、核酸塩基であり；A は、プロパルギル、ヒドロキシメチル、環外アミン、プロパルギルアミンおよび

プロパルギルヒドロキシルからなる群から選択される化学基である結合基であり；Cは、
【化79】



からなる群から選択される開裂可能な部位のコアであり、ここで、 R_1 および R_2 は、独立して選択されるアルキル基であり； L_1 および L_2 は、接続基であり、 L_1 は、 $-CO-NH(CH_2)_x-$ 、 $-CO-O(CH_2)_x-$ 、 $-CONH-(OCH_2CH_2O)_x-$ 、 $-CO-O(CH_2CH_2O)_x-$ および $-CO(CH_2)_x-$ からなる群から選択され、ここで、 x は 0 ~ 10 であり、 L_2 は $-CO-$ 、 $-CONH-$ 、 $-NHCONH-$ 、 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-C=N$ および $-N=N-$ 、アルキル、アリール、分枝鎖アルキル、分枝鎖アリールならびにそれらの組合せからなる群から選択され、Label は、フルオロフォア色素、エネルギー移動色素、質量タグ、ビオチンおよびハプテンからなる群から選択される検出可能な標識である]

に従う、標識されたデオキシヌクレオシドトリホスフェート。

【請求項33】

前記標識が、検出可能な標識である、請求項32に記載の標識されたデオキシヌクレオシドトリホスフェート。

【請求項34】

L_2 が、 $-S-$ ではない、請求項32に記載の標識されたデオキシヌクレオシドトリホスフェート。

【請求項35】

DNAポリメラーゼと、核酸塩基および糖を含む少なくとも1つのデオキシヌクレオシドトリホスフェートとを含むキットであって、前記糖が、3'-O上に開裂可能な保護基を含み、前記開裂可能な保護基が、メチレンジスルフィドを含み、前記ヌクレオシドが、開裂可能なオキシメチレンジスルフィドリンカーを介して前記ヌクレオシドの前記核酸塩基に結合した検出可能な標識をさらに含む、キット。

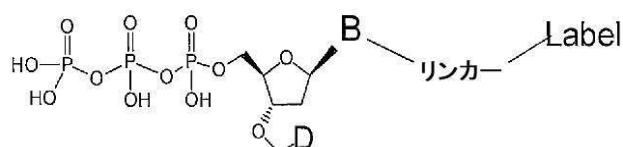
【請求項36】

プライマーがハイブリダイズされている核酸鋳型と、DNAポリメラーゼと、核酸塩基および糖を含む少なくとも1つのデオキシヌクレオシドトリホスフェートとを含む反応混合物であって、前記糖が、3'-O上に開裂可能な保護基を含み、前記開裂可能な保護基が、メチレンジスルフィドを含み、前記ヌクレオシドが、開裂可能なオキシメチレンジスルフィドリンカーを介して前記ヌクレオシドの前記核酸塩基に結合した検出可能な標識をさらに含む、反応混合物。

【請求項37】

DNA合成反応を実施する方法であって、a) プライマーがハイブリダイズされている核酸鋳型、DNAポリメラーゼ、少なくとも1つのデオキシヌクレオシドトリホスフェートを用意するステップであって、前記少なくとも1つのデオキシヌクレオシドトリホスフェートは、下記の構造：

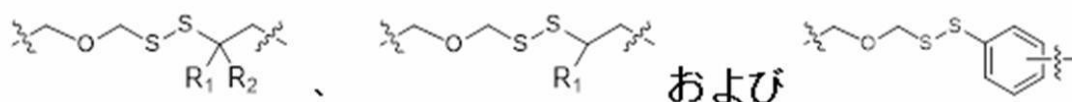
【化98】



[式中、Dは、ジスルフィドアルキル、ジスルフィド置換アルキル基、ジスルフィドアリールおよびジスルフィド置換アリール基からなる群から選択される開裂可能な保護基であり；Bは、核酸塩基であり；リンカーは開裂可能なオキシメチレンジスルフィド含有部位のコ

アを含み、前記開裂可能な部位のコアは、

【化 7 9】



からなる群から選択され、ここで、 R_1 および R_2 は、独立して選択されるアルキル基であり；Label は、フルオロフォア色素、エネルギー移動色素、質量タグ、ビオチンおよびハプテンからなる群から選択される検出可能な標識である]

を有する、ステップと、b) 反応混合物を、DNA ポリメラーゼ触媒プライマー伸長反応を可能にする条件に供するステップとを含む、方法。

【請求項 3 8】

前記 DNA ポリメラーゼ触媒プライマー伸長反応が、配列決定反応の一部である、請求項 3 7 に記載の方法。

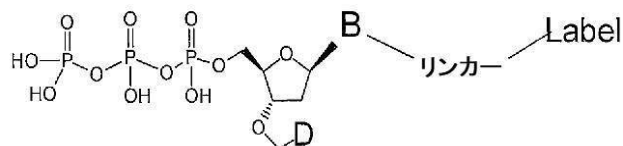
【請求項 3 9】

DNA 配列を分析するための方法であって、

a) プライマー / 鋳型ハイブリダイゼーション複合体を形成している、プライマーがハイブリダイズされている核酸鋳型を用意するステップと、

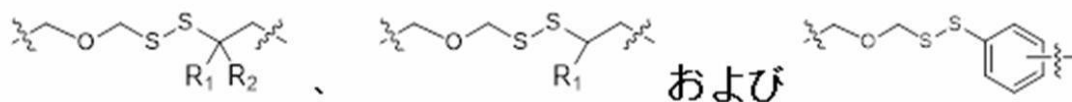
b) DNA ポリメラーゼと、第 1 のデオキシヌクレオシドトリホスフェートとを添加するステップであり、前記第 1 のデオキシヌクレオシドトリホスフェートは、下記の構造：

【化 9 8】



[式中、D は、ジスルフィドアルキル、ジスルフィド置換アルキル基、ジスルフィドアリルおよびジスルフィド置換アリル基からなる群から選択される開裂可能な保護基であり；B は、核酸塩基であり；リンカーは開裂可能なオキシメチレンジスルフィド含有部位のコアを含み、前記開裂可能な部位のコアは、

【化 7 9】



からなる群から選択され、ここで、 R_1 および R_2 は、独立して選択されるアルキル基であり；Label は、フルオロフォア色素、エネルギー移動色素、質量タグ、ビオチンおよびハプテンからなる群から選択される検出可能な標識である]

を有する、ステップと、

c) 改変されたプライマー / 鋳型ハイブリダイゼーション複合体が生じるように、反応混合物を、DNA ポリメラーゼ触媒プライマー伸長反応を可能にする条件に供するステップと、

d) 前記改変されたプライマー / 鋳型ハイブリダイゼーション複合体における前記デオキシヌクレオシドトリホスフェートの前記第 1 の検出可能な標識を検出するステップとを含む、方法。

【請求項 4 0】

e) 前記開裂可能な保護基を除去するステップと、f) ステップ b) から e) を少なくとも 1 回繰り返すステップとをさらに含む、請求項 3 9 に記載の方法。

【請求項 4 1】

ステップ b) の繰り返し中に第 2 のデオキシヌクレオシドトリホスフェートを添加するステップをさらに含み、前記第 2 のデオキシヌクレオシドトリホスフェートが、開裂可能なオキシメチレンジスルフィドリンカーを介して結合している第 2 の検出可能な標識を含み、前記第 2 の検出可能な標識が、前記第 1 の検出可能な標識とは異なる、請求項 4 0 に記載の方法。

【請求項 4 2】

前記開裂可能なオキシメチレンジスルフィド含有リンカーが、0 よりも大きい $\log P$ 値を有する、請求項 4 1 に記載の方法。

【請求項 4 3】

前記開裂可能なオキシメチレンジスルフィド含有リンカーが、0.1 よりも大きい $\log P$ 値を有する、請求項 4 1 に記載の方法。

【請求項 4 4】

前記開裂可能なオキシメチレンジスルフィド含有リンカーが、1.0 よりも大きい $\log P$ 値を有する、請求項 4 1 に記載の方法。

【請求項 4 5】

前記第 2 のデオキシヌクレオシドトリホスフェートの前記核酸塩基が、前記第 1 のデオキシヌクレオシドトリホスフェートの前記核酸塩基とは異なる、請求項 4 1 に記載の方法。

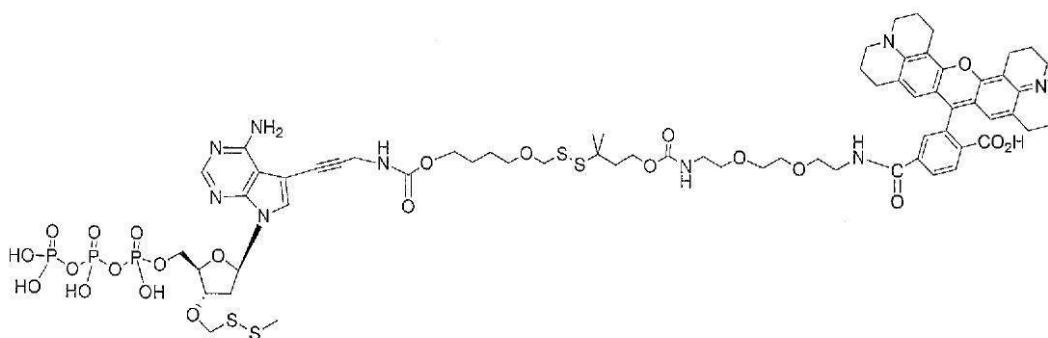
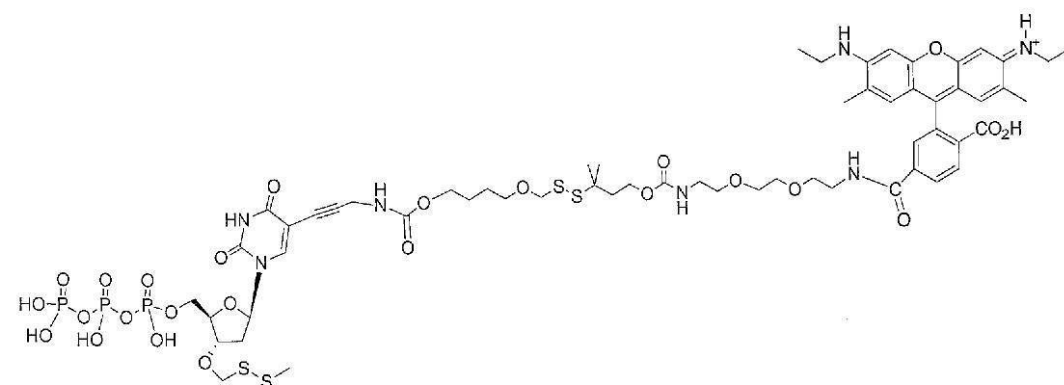
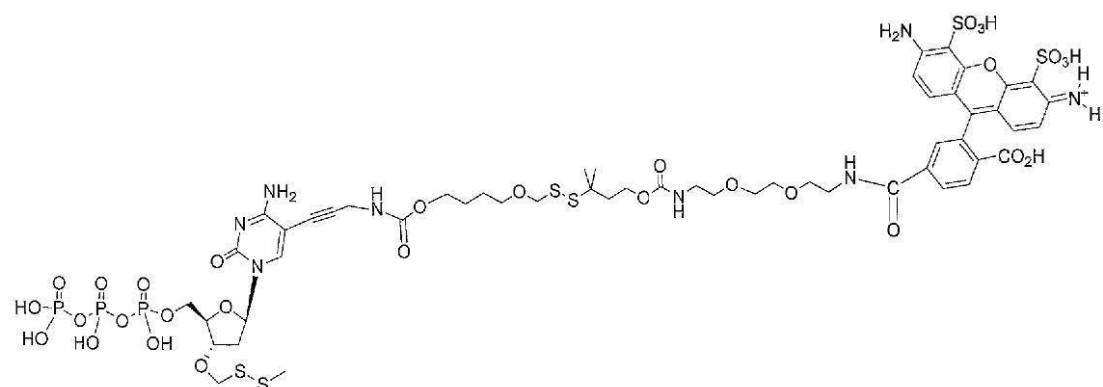
【請求項 4 6】

アデノシン、グアノシン、シチジンおよびチミジンまたはウリジン の類似体を表す、少なくとも 4 つの異なって標識された 3' - Oメチレンジスルフィドでキャッピングされたデオキシヌクレオシドトリホスフェート化合物の混合物が、ステップ b) において使用される、請求項 4 0 に記載の方法。

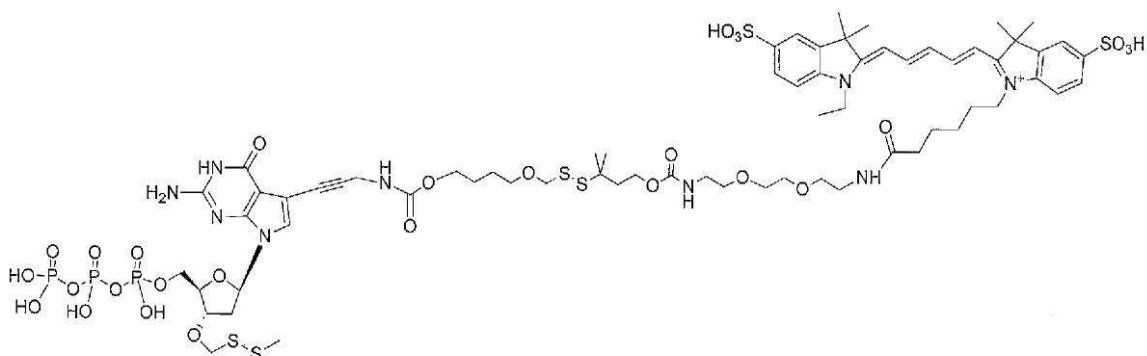
【請求項 4 7】

少なくとも 4 つの異なって標識された 3' - Oメチレンジスルフィドでキャッピングされたデオキシヌクレオシドトリホスフェート化合物の混合物が、ステップ b) において使用され、前記化合物が、構造：

【化 1 0 1】



および

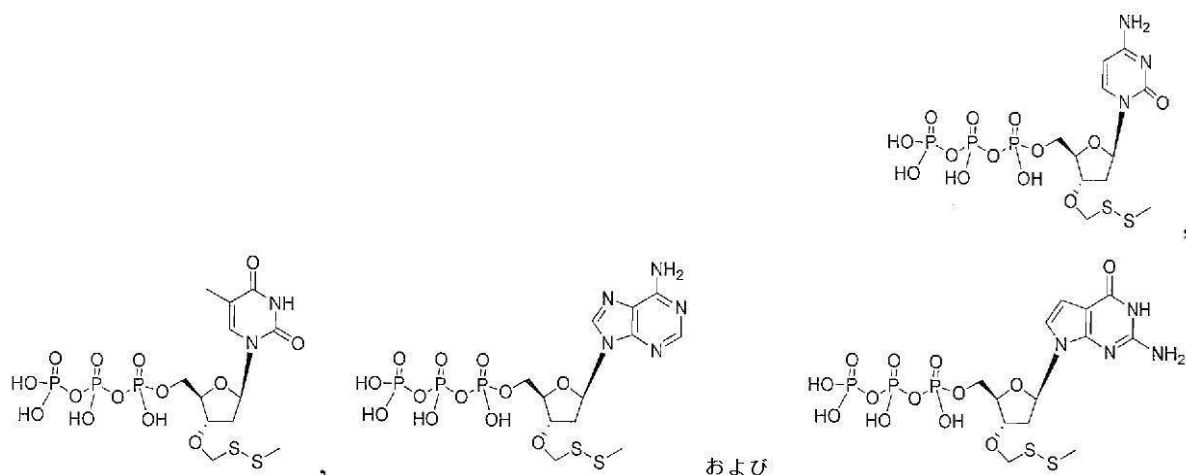


を有する、請求項 40 に記載の方法。

【請求項 48】

構造：

【化 1 0 2】



を有する非標識 3' - Oメチレンジスルフィドでキャッピングされたデオキシヌクレオシドトリホスフェート化合物も、ステップ b) において使用される、請求項 47 に記載の方法。

【請求項 49】

ステップ e) が、前記改変されたプライマー / 鋳型ハイブリダイゼーション複合体を、還元剤に曝露することによって実施される、請求項 40 に記載の方法。

【請求項 50】

前記還元剤が、トリス(2 - カルボキシエチル)ホスフィンである、請求項 49 に記載の方法。

【請求項 51】

3' - O - (R 置換ジチオメチル) - 5' - O - (tert - ブチルジメチルシリル) - 2' - デオキシヌクレオシドを調製する方法であって、a) i) 3' - O - (メチルチオメチル) - 5' - O - (tert - ブチルジメチルシリル) - 2' - デオキシヌクレオシド、および ii) R - SH [ここで、R は、アルキルまたは置換アルキルを含む] を用意するステップと、b) 前記 3' - O - (メチルチオメチル) - 5' - O - (tert - ブチルジメチルシリル) - 2' - デオキシヌクレオシドを、3' - O - (R 置換ジチオメチル) - 5' - O - (tert - ブチルジメチルシリル) - 2' - デオキシヌクレオシドが生じるような条件下で処理するステップとを含む、方法。

【請求項 52】

前記 R - SH が、エタンチオールである、請求項 51 に記載の方法。

【請求項 53】

前記条件が、塩基性条件を含む、請求項 51 に記載の方法。

【請求項 54】

3' - O - (R 置換ジチオメチル) - 2' - デオキシヌクレオシドを調製する方法であって、a) 3' - O - (R 置換ジチオメチル) - 5' - O - (tert - ブチルジメチルシリル) - 2' - デオキシヌクレオシドを用意するステップと、b) 前記 3' - O - (R 置換ジチオメチル) - 5' - O - (tert - ブチルジメチルシリル) - 2' - デオキシヌクレオシドを、3' - O - (R 置換ジチオメチル) - 2' - デオキシヌクレオシドが生じるような条件下で処理するステップとを含む、方法。

【請求項 55】

前記条件が、前記 3' - O - (R 置換ジチオメチル) - 2' - デオキシヌクレオシドを NH_4F に曝露することを含む、請求項 54 に記載の方法。

【請求項 56】

3' - O - (R 置換ジチオメチル) - 2' - デオキシヌクレオシドのトリホスフェートを調製する方法であって、a) 3' - O - (R 置換ジチオメチル) - 2' - デオキシヌク

レオシドを用意するステップと、b) 前記 3' - O - (R 置換ジチオメチル) - 2' - デオキシヌクレオシドを、3' - O - (R 置換ジチオメチル) - 2' - デオキシヌクレオシドのトリホスフェートが生じるような条件下で処理するステップとを含む、方法。

【請求項 57】

前記条件が、前記 3' - O - (R 置換ジチオメチル) - 2' - デオキシヌクレオシドを、 POCl_3 および Bu_3N をとともに $(\text{MeO})_3\text{PO}$ に曝露することを含む、請求項 56 に記載の方法。

【請求項 58】

c) 前記核酸塩基保護基の除去のステップをさらに含む、請求項 56 に記載の方法。

【請求項 59】

前記保護基が、N - トリフルオロアセチル - アミノプロパルギル保護基を含む、請求項 58 に記載の方法。

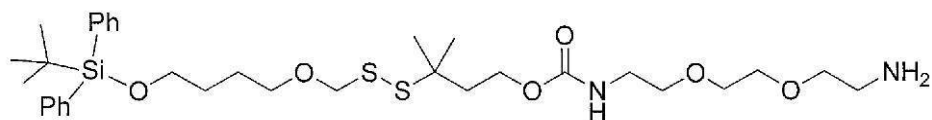
【請求項 60】

前記 N - トリフルオロアセチル - アミノプロパルギル保護基を、加溶媒分解によって除去して、5' - O - (トリホスフェート) - 3' - O - (R 置換ジチオメチル) - 5 - (アミノプロパルギル) - 2' - デオキシヌクレオシドを生成する、請求項 59 に記載の方法。

【請求項 61】

構造が、

【化 105】

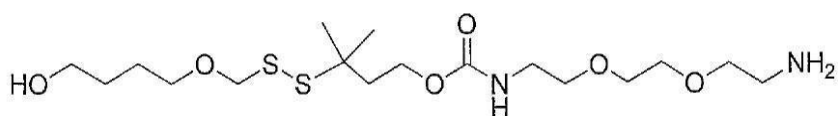


である、化合物。

【請求項 62】

構造が、

【化 106】

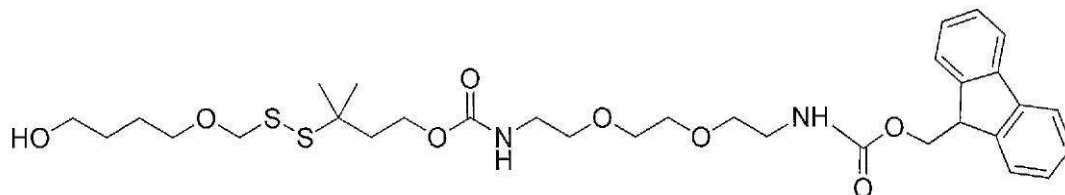


である、化合物。

【請求項 63】

構造が、

【化 107】

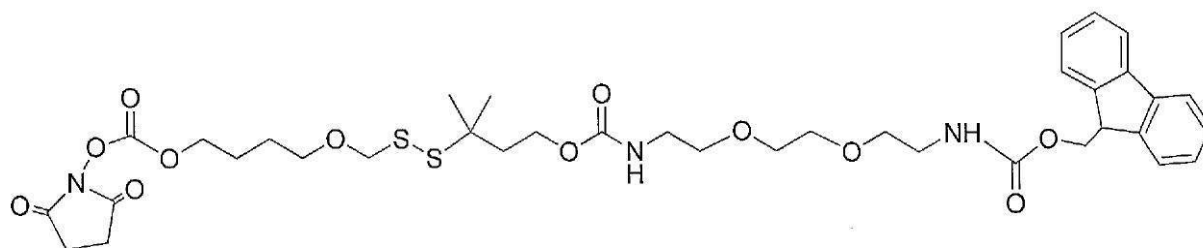


である、化合物。

【請求項 64】

構造が、

【化 1 0 8】



である、化合物。

【請求項 6 5】

前記改変されたプライマー / 鋳型ハイブリダイゼーション複合体由来の前記検出可能な標識が、ステップ e) の前に除去される、請求項 4 0 に記載の方法。

【請求項 6 6】

L_1 が、 $-\text{CONH}(\text{CH}_2)_x-$ 、 $-\text{CO}-\text{O}(\text{CH}_2)_x-$ 、 $-\text{CONH}-(\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O})_x-$ 、 $-\text{CO}-\text{O}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_x-$ および $-\text{CO}(\text{CH}_2)_x-$ [ここで、 x は、0 ~ 10 である] からなる群から選択される、請求項 1 に記載の標識されたデオキシヌクレオシドトリホスフェート。

【請求項 6 7】

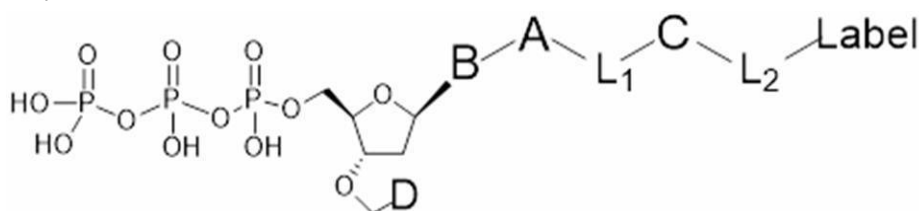
L_2 が、 $-\text{CO}-$ 、 $-\text{CONH}-$ 、 $-\text{NHCONH}-$ 、 $-\text{O}-$ 、 $-\text{S}-$ 、 $-\text{C}=\text{N}$ および $-\text{N}=\text{N}-$ 、アルキル、アリール、分枝鎖アルキルおよび分枝鎖アリールからなる群から選択される、請求項 1 に記載の標識されたデオキシヌクレオシドトリホスフェート。

【請求項 6 8】

DNA 合成反応を実施する方法であって、

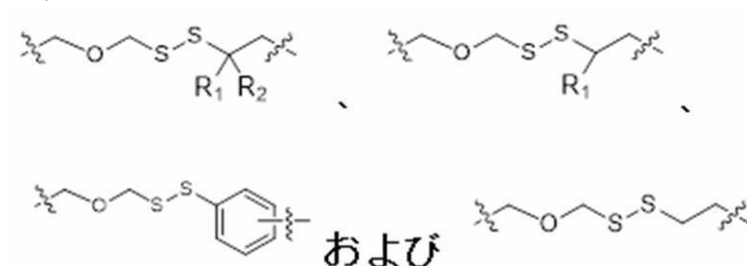
a) プライマーがハイブリダイズされている核酸鋳型、DNA ポリメラーゼ、少なくとも 1 つのデオキシヌクレオシドトリホスフェートを用意するステップであって、前記少なくとも 1 つのデオキシヌクレオシドトリホスフェートが、下記の構造：

【化 7 8】



[式中、D は、ジスルフィドアルキル、ジスルフィド置換アルキル基、ジスルフィドアリールおよびジスルフィド置換アリール基からなる群から選択される開裂可能な保護基であり；B は、核酸塩基であり；A は、プロパルギル、環外アミン、プロパルギルアミンおよびプロパルギルヒドロキシルからなる群から選択される結合基であり；C は、

【化 7 9】



からなる群から選択される開裂可能な部位のコアであり、ここで、 R_1 および R_2 は、独立して選択されるアルキル基であり； L_1 および L_2 は、接続基であり；Label は、フルオロフォア色素、エネルギー移動色素、質量タグ、ビオチンおよびハプテンからなる群から選択される検出可能な標識である]

を有する、ステップと、

b) 反応混合物を、DNA ポリメラーゼ触媒プライマー伸長反応を可能にする条件に供するステップとを含む、

方法。

【請求項 69】

前記 DNA ポリメラーゼ触媒プライマー伸長反応が、配列決定反応の一部である、請求項 68 に記載の方法。

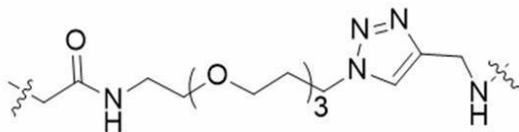
【請求項 70】

L_1 が、 $-\text{CONH}(\text{CH}_2)_x-$ 、 $-\text{CO}-\text{O}(\text{CH}_2)_x-$ 、 $-\text{CONH}-(\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O})_x-$ 、 $-\text{CO}-\text{O}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_x-$ および $-\text{CO}(\text{CH}_2)_x-$ [ここで、 x は、0 ~ 10 である] からなる群から選択される、請求項 68 に記載の方法。

【請求項 71】

L_2 が、

【化 A】



、 $-\text{NH}-$ 、 $-(\text{CH}_2)_x-\text{NH}-$ 、 $-\text{C}(\text{Me})_2(\text{CH}_2)_x\text{NH}-$ 、 $-\text{CH}(\text{Me})(\text{CH}_2)_x\text{NH}-$ 、 $-\text{C}(\text{Me})_2(\text{CH}_2)_x\text{CO}-$ 、 $-\text{CH}(\text{Me})(\text{CH}_2)_x\text{CO}-$ 、 $-(\text{CH}_2)_x\text{OCONH}(\text{CH}_2)_y\text{O}(\text{CH}_2)_z\text{NH}-$ 、 $-(\text{CH}_2)_x\text{CONH}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_y(\text{CH}_2)_z\text{NH}-$ 、 $-\text{CONH}(\text{CH}_2)_x-$ 、および $-\text{CO}(\text{CH}_2)_x-$ [ここで、 x 、 y および z は、0 ~ 10 からそれぞれ独立して選択される] からなる群から選択される、請求項 68 に記載の方法。

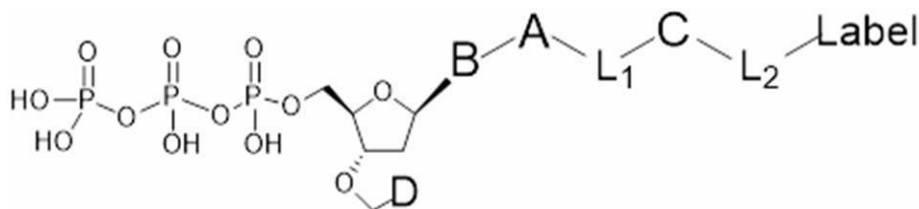
【請求項 72】

DNA 配列を分析するための方法であって、

a) プライマー / 鋳型ハイブリダイゼーション複合体を形成している、プライマーがハイブリダイズされている核酸鋳型を用意するステップと、

b) DNA ポリメラーゼと、第 1 のデオキシヌクレオシドトリホスフェートとを添加するステップであり、前記第 1 のデオキシヌクレオシドトリホスフェートが、下記の構造：

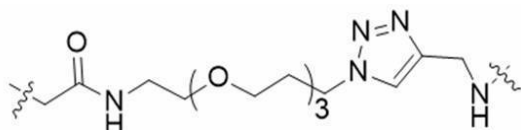
【化 78】



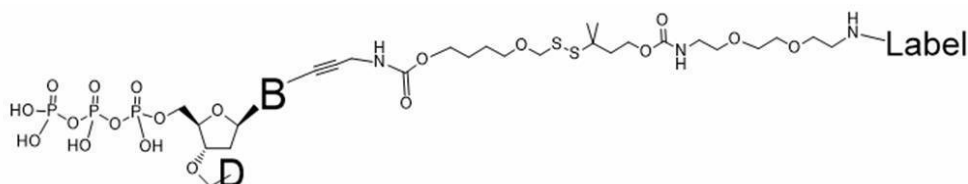
[式中、D は、ジスルフィドアルキル、ジスルフィド置換アルキル基、ジスルフィドアリルおよびジスルフィド置換アリル基からなる群から選択される開裂可能な保護基であり；B は、核酸塩基であり；A は、プロパルギル、環外アミン、プロパルギルアミンおよびプロパルギルヒドロキシルからなる群から選択される結合基であり；C は、

および

【化 A】



【化 1 0 0 A】



[式中、D は、アジド、ジスルフィドアルキル、ジスルフィド置換アルキル基からなる群

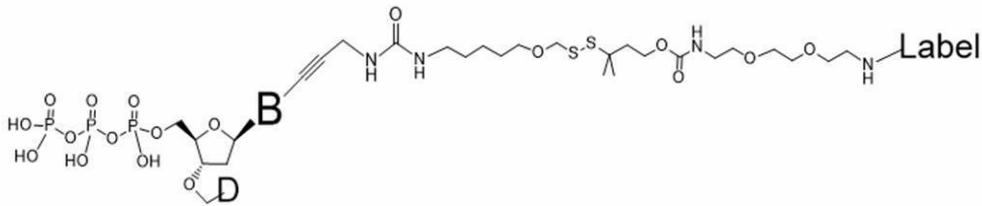
から選択される開裂可能な保護基であり；前記 $L a b e l$ は色素であり、 B は核酸塩基である]

に従う、標識されたデオキシヌクレオシドトリホスフェート。

【請求項 76】

下記の構造：

【化 100B】



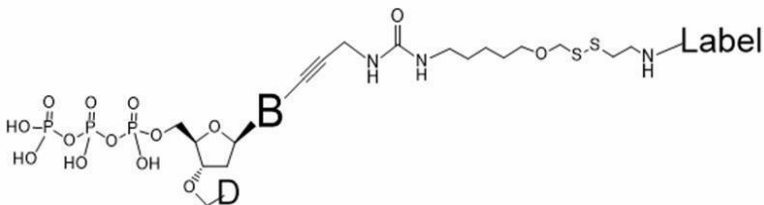
[式中、 D は、アジド、ジスルフィドアルキル、ジスルフィド置換アルキル基からなる群から選択される開裂可能な保護基であり；前記 $L a b e l$ は色素であり、 B は核酸塩基である]

に従う、標識されたデオキシヌクレオシドトリホスフェート。

【請求項 77】

下記の構造：

【化 100C】



[式中、 D は、アジド、ジスルフィドアルキル、ジスルフィド置換アルキル基からなる群から選択される開裂可能な保護基であり；前記 $L a b e l$ は色素であり、 B は核酸塩基である]

に従う、標識されたデオキシヌクレオシドトリホスフェート。

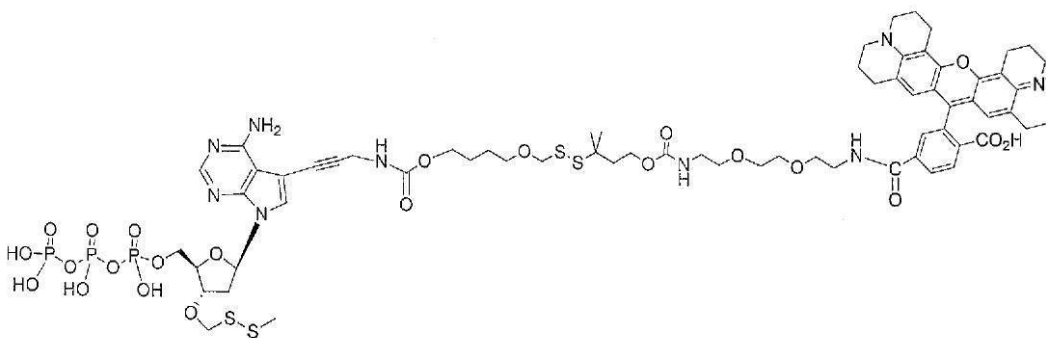
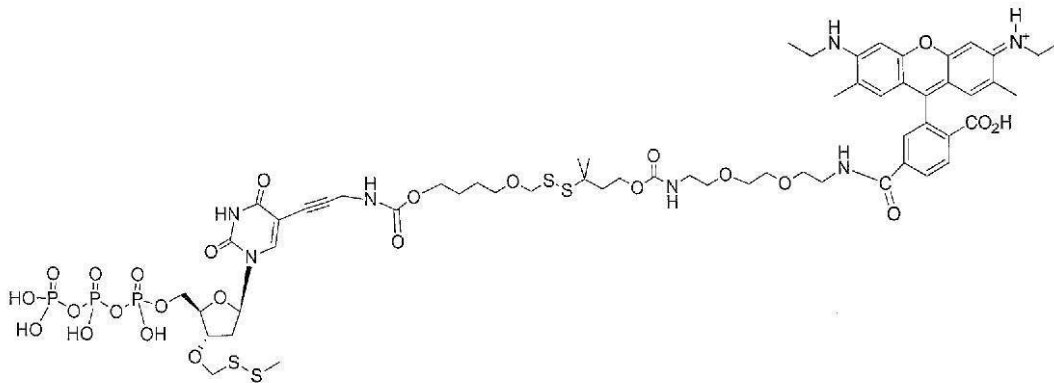
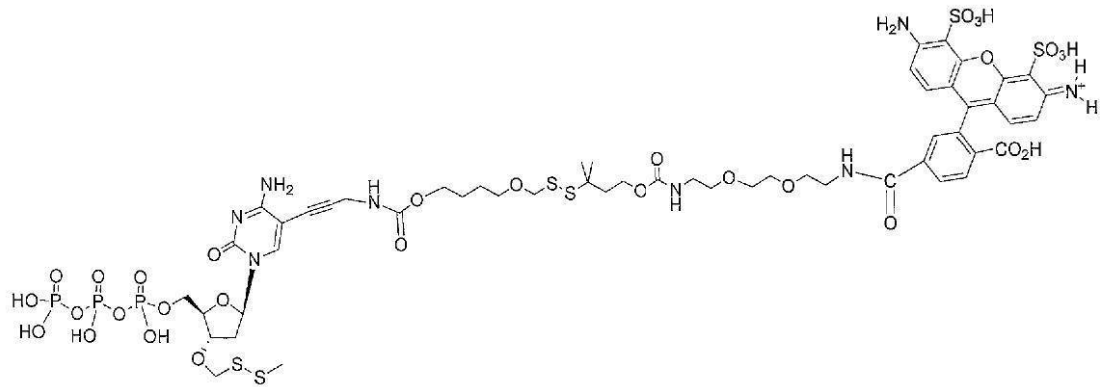
【請求項 78】

$D N A$ 配列を分析するための方法であって、

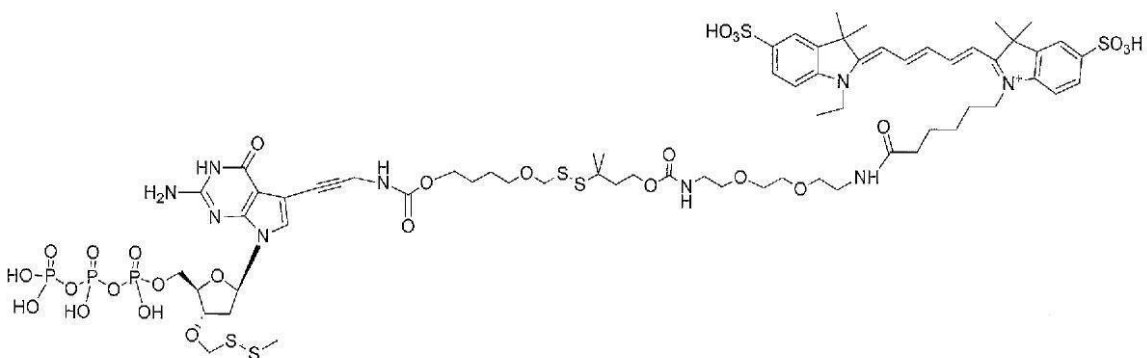
a) プライマー / 鋳型ハイブリダイゼーション複合体を形成している、プライマーがハイブリダイズされている核酸鋳型を用意するステップと、

b) $D N A$ ポリメラーゼと、核酸塩基および糖を含む第 1 の標識されたデオキシヌクレオシドトリホスフェートを添加するステップであって、前記第 1 の標識されたデオキシヌクレオシドトリホスフェートが、構造：

【化 1 0 1】



および



を有する、少なくとも4つの異なって標識された3'-Oメチレンジスルフィドでキャッピングされたデオキシヌクレオシドトリホスフェート化合物の混合物から選択される、ステップと、

c) 改変されたプライマー/鋳型ハイブリダイゼーション複合体が生じるように、反応混合物を、DNAポリメラーゼ触媒プライマー伸長反応を可能にする条件に供するステップと、

d) 前記改変されたプライマー / 鋳型ハイブリダイゼーション複合体における前記第 1 の標識されたデオキシヌクレオシドトリホスフェートを検出するステップと

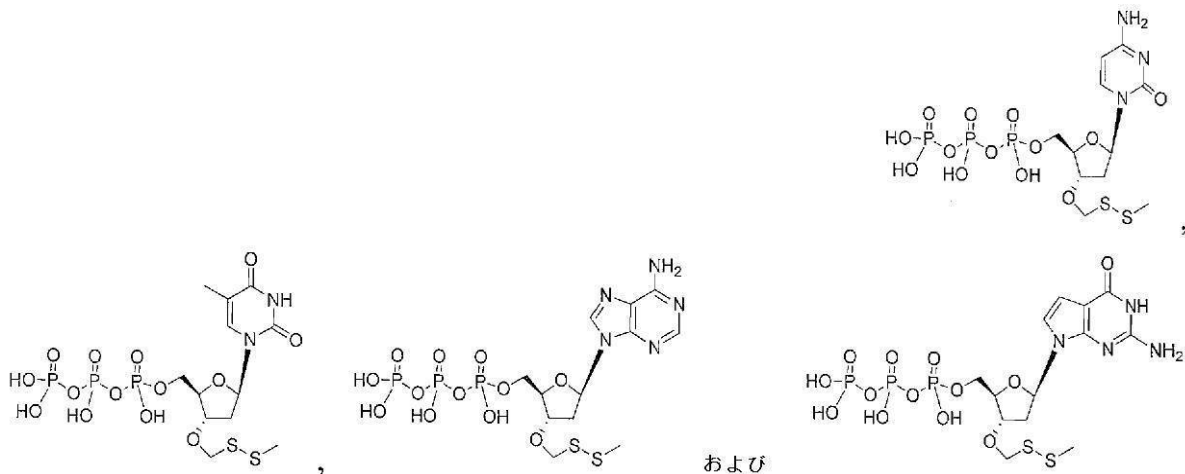
e) 前記 3' - Oメチレンジスルフィド基を除去するステップと、

f) ステップ b) から e) を少なくとも 1 回繰り返すステップと、
を含む、方法。

【請求項 79】

改変ステップ b) 標識された 3' - Oメチレンジスルフィドでキャッピングされたデオキシヌクレオシドトリホスフェート化合物の代わりに、非標識 3' - Oメチレンジスルフィドでキャッピングされたデオキシヌクレオシドトリホスフェート化合物を添加するステップであって、前記非標識 3' - Oメチレンジスルフィドでキャッピングされたデオキシヌクレオシドトリホスフェート化合物が構造：

【化 102】



を有する、ステップをさらに含む、請求項 78 に記載の方法。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0082

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0082】

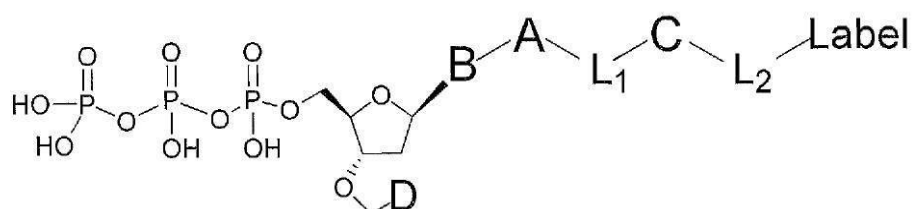
本明細書に組み込まれてその一部を形成する添付図は、本発明のいくつかの実施形態を例証し、記述と一緒に、本発明の原理を説明する役割を果たす。図は、本発明の好ましい実施形態を例証することのみを目的としており、本発明を限定するものとして解釈すべきではない。

本発明の実施形態において、例えば以下の項目が提供される。

(項目 1)

下記の構造：

【化 78】



[式中、D は、アジド、ジスルフィドアルキル、ジスルフィド置換アルキル基からなる群から選択され；B は、核酸塩基であり；A は、結合基であり；C は、開裂可能な部位のコアであり； L_1 および L_2 は、接続基であり；Label は、標識である]
に従う、標識されたデオキシヌクレオシドトリホスフェート。

(項目 2)

前記核酸塩基が、7 - デアザグアニン、7 - デアザアデニン、2 - アミノ - 7 - デアザアデニンおよび 2 - アミノアデニンからなる群から選択される非天然核酸塩基類似体である、項目 1 に記載の標識されたデオキシヌクレオシドトリホスフェート。

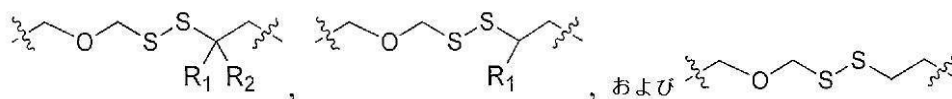
(項目 3)

前記結合基 A が、プロパルギル、ヒドロキシメチル、環外アミン、プロパルギルアミンおよびプロパルギルヒドロキシルからなる群から選択される化学基である、項目 1 に記載の標識されたデオキシヌクレオシドトリホスフェート。

(項目 4)

前記開裂可能な部位のコアが、

【化 7 9】



[式中、 R_1 および R_2 は、独立して選択されるアルキル基である]
からなる群から選択される、項目 1 に記載の標識されたデオキシヌクレオシドトリホスフェート。

(項目 5)

L_1 が、 $-\text{CONH}(\text{CH}_2)_x-$ 、 $-\text{CO}-\text{O}(\text{CH}_2)_x-$ 、 $-\text{CONH}-(\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O})_x-$ 、 $-\text{CO}-\text{O}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_x-$ および $-\text{CO}(\text{CH}_2)_x-$ [ここで、 x は、0 ~ 10 である] からなる群から選択される、項目 1 に記載の標識されたデオキシヌクレオシドトリホスフェート。

(項目 6)

L_2 が、 $-\text{NH}-$ 、 $-(\text{CH}_2)_x-\text{NH}-$ 、 $-\text{C}(\text{Me})_2(\text{CH}_2)_x\text{NH}-$ 、 $-\text{CH}(\text{Me})(\text{CH}_2)_x\text{NH}-$ 、 $-\text{C}(\text{Me})_2(\text{CH}_2)_x\text{CO}-$ 、 $-\text{CH}(\text{Me})(\text{CH}_2)_x\text{CO}-$ 、 $-(\text{CH}_2)_x\text{OCONH}(\text{CH}_2)_y\text{O}(\text{CH}_2)_z\text{NH}-$ 、 $-(\text{CH}_2)_x\text{CONH}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_y(\text{CH}_2)_z\text{NH}-$ および $-\text{CONH}(\text{CH}_2)_x-$ 、 $-\text{CO}(\text{CH}_2)_x-$ [ここで、 x 、 y および z は、0 ~ 10 からそれぞれ独立して選択される] からなる群から選択される、項目 1 に記載の標識されたデオキシヌクレオシドトリホスフェート。

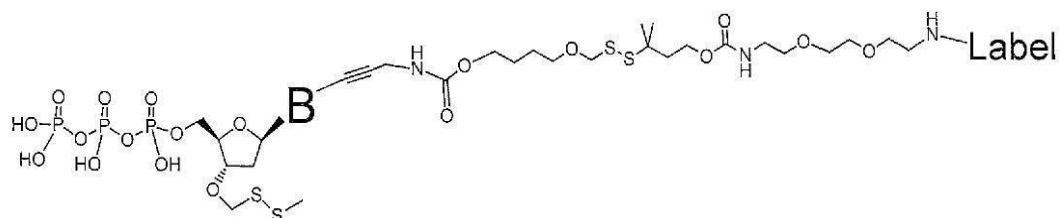
(項目 7)

前記標識が、フルオロフォア色素、エネルギー移動色素、質量タグ、ビオチンおよびハプテンからなる群から選択される、項目 1 に記載の標識されたデオキシヌクレオシドトリホスフェート。

(項目 8)

前記化合物が、構造：

【化 8 0】

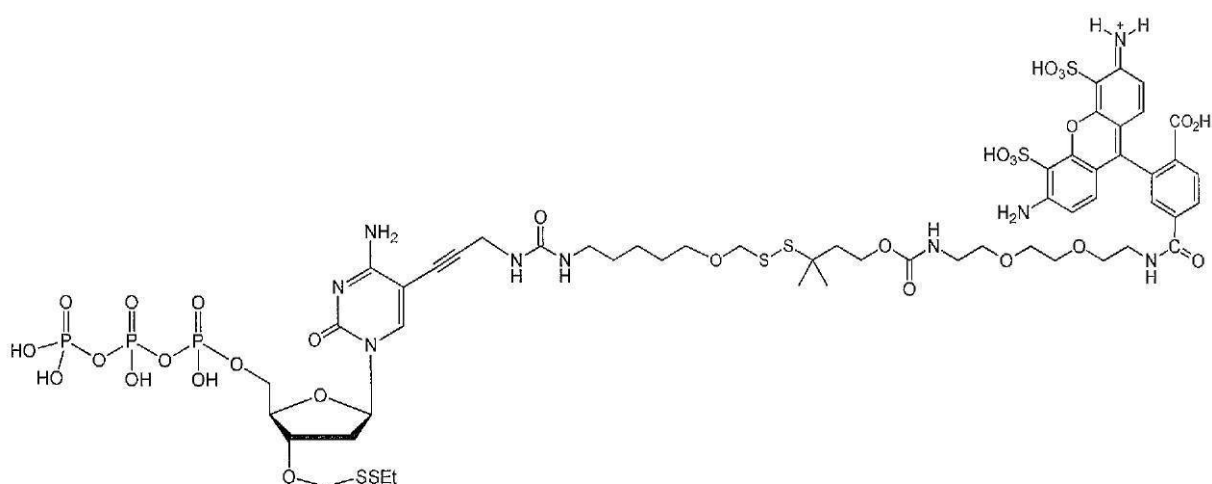


[式中、前記標識は色素である] を有する、項目 1 に記載の標識されたデオキシヌクレオシドトリホスフェート。

(項目 9)

前記化合物が、構造：

【化 8 1】

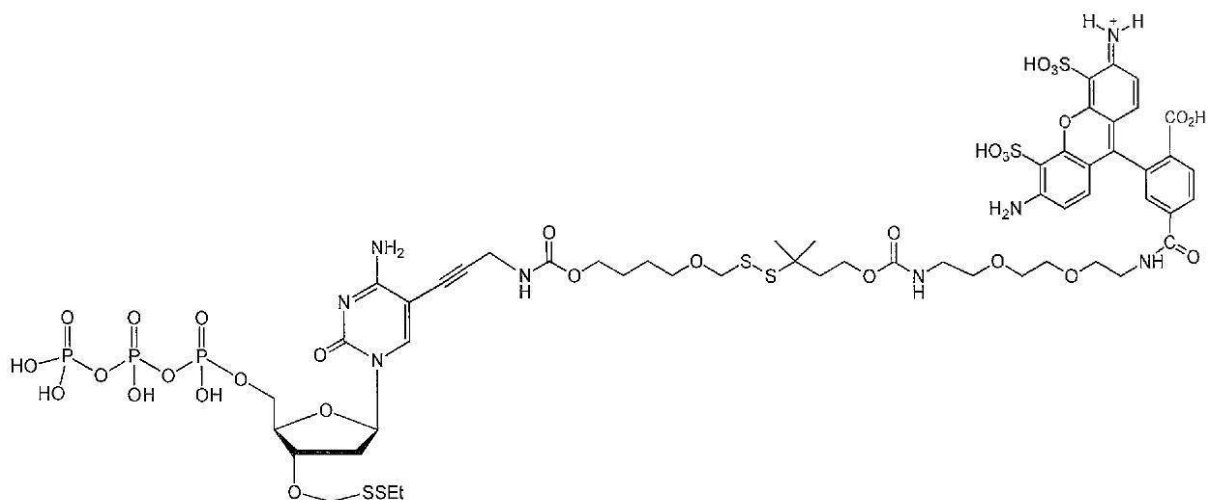


を有する、項目 1 に記載の標識されたデオキシヌクレオシドトリホスフェート。

(項目 1 0)

前記化合物が、構造：

【化 8 2】

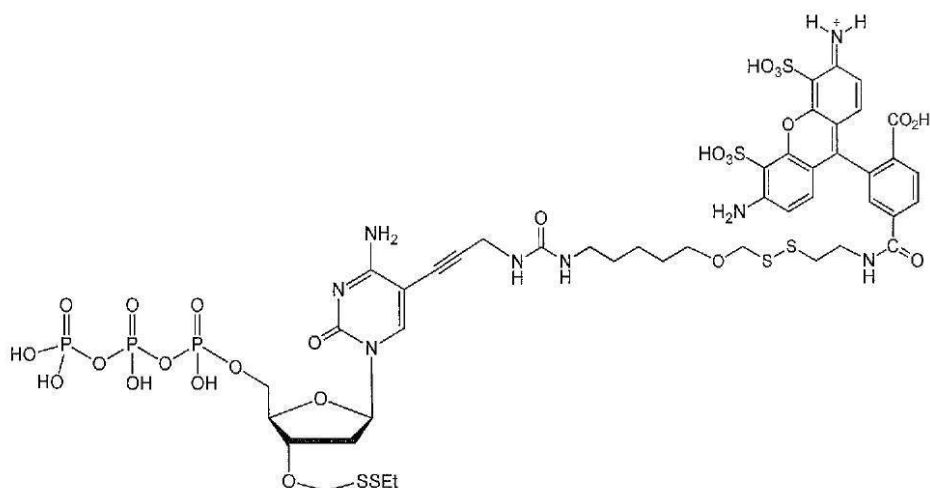


を有する、項目 1 に記載の標識されたデオキシヌクレオシドトリホスフェート。

(項目 1 1)

前記化合物が、構造：

【化 8 3】

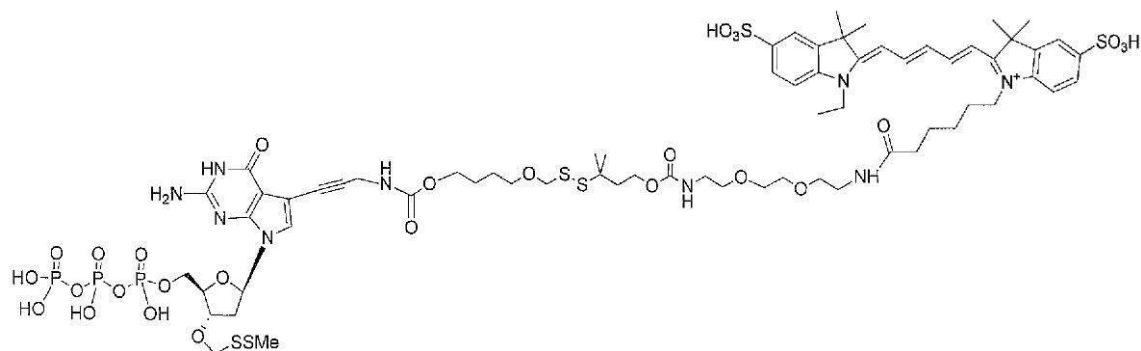


を有する、項目 1 に記載の標識されたデオキシヌクレオシドトリホスフェート。

(項目 1 2)

前記化合物が、構造：

【化 8 4】

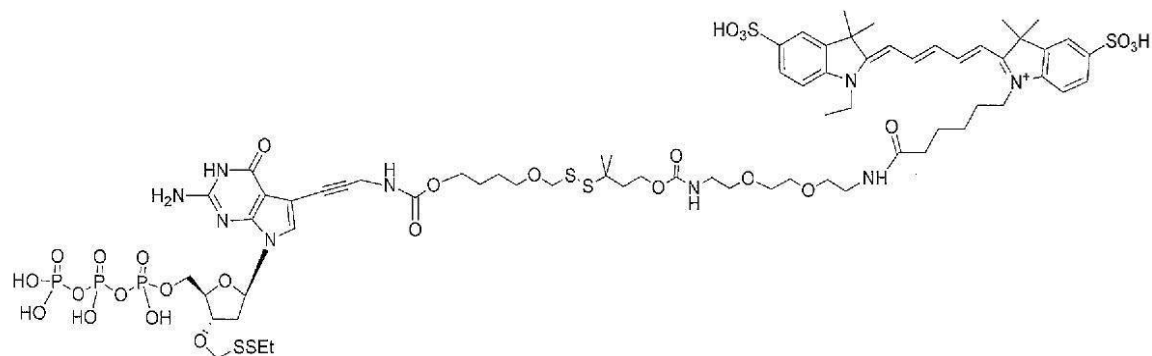


を有する、項目 1 に記載の標識されたデオキシヌクレオシドトリホスフェート。

(項目 1 3)

前記化合物が、構造：

【化 8 5】

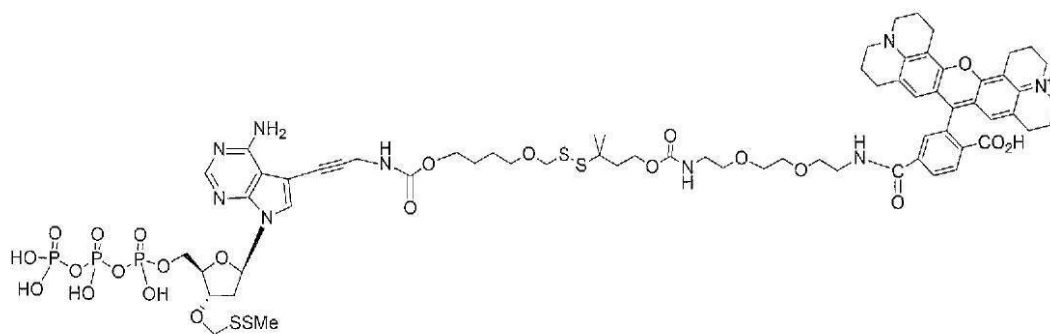


を有する、項目 1 に記載の標識されたデオキシヌクレオシドトリホスフェート。

(項目 1 4)

前記化合物が、構造：

【化 8 6】

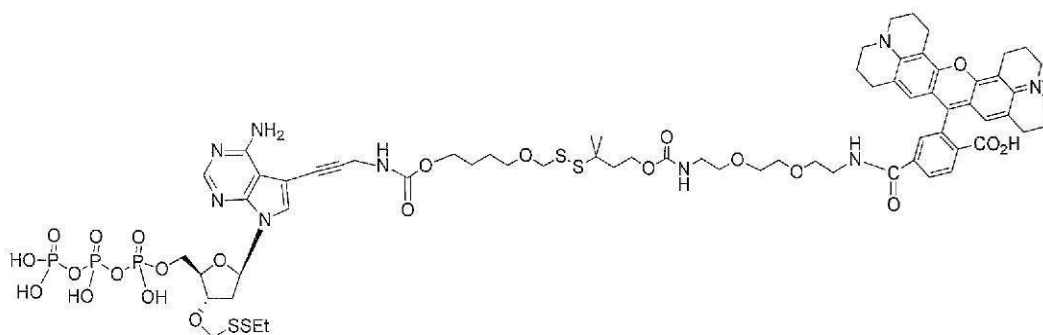


を有する、項目 1 に記載の標識されたデオキシヌクレオシドトリホスフェート。

(項目 1 5)

前記化合物が、構造：

【化 8 7】

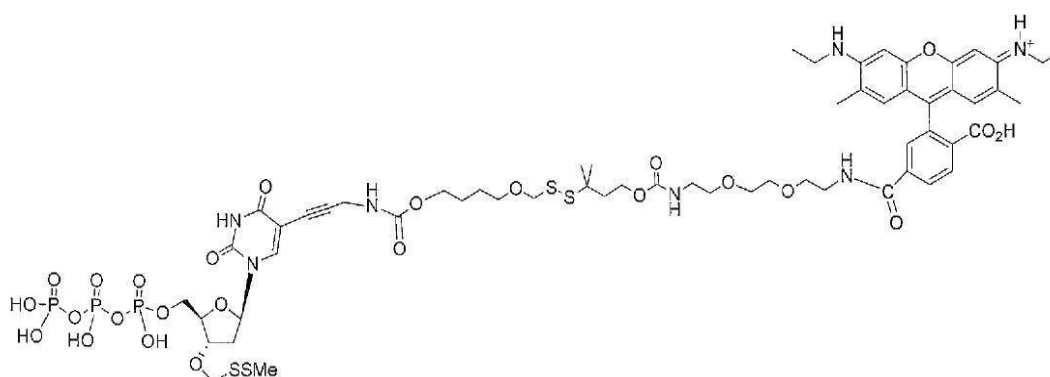


を有する、項目 1 に記載の標識されたデオキシヌクレオシドトリホスフェート。

(項目 1 6)

前記化合物が、構造：

【化 8 8】

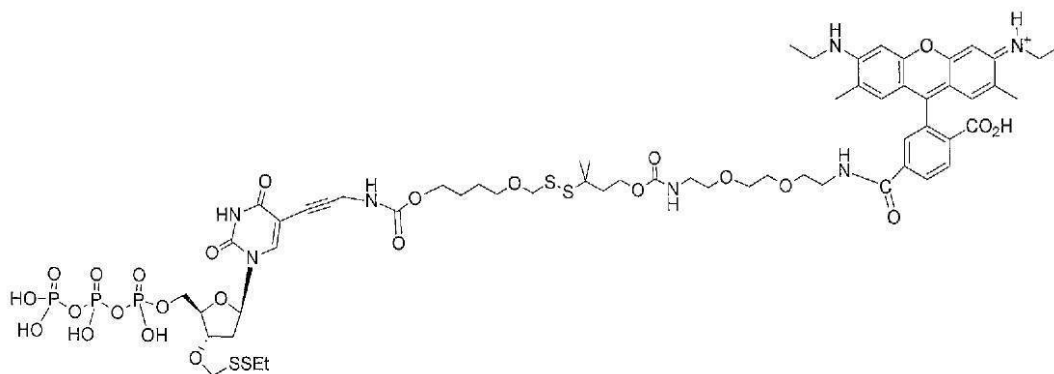


を有する、項目 1 に記載の標識されたデオキシヌクレオシドトリホスフェート。

(項目 1 7)

前記化合物が、構造：

【化 8 9】

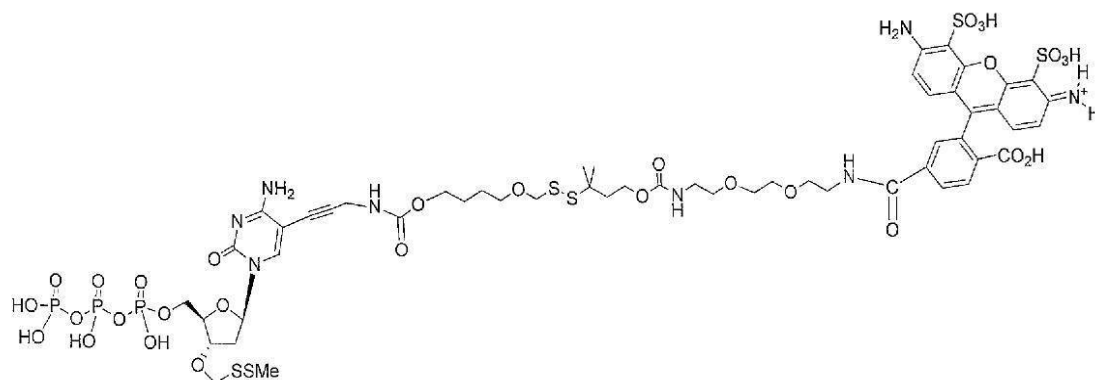


を有する、項目 1 に記載の標識されたデオキシヌクレオシドトリホスフェート。

(項目 1 8)

前記化合物が、構造：

【化 9 0】

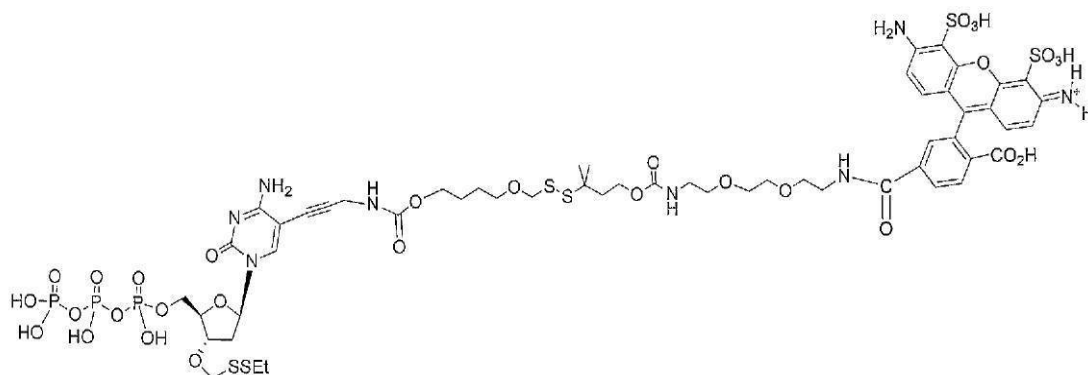


を有する、項目 1 に記載の標識されたデオキシヌクレオシドトリホスフェート。

(項目 1 9)

前記化合物が、構造：

【化 9 1】

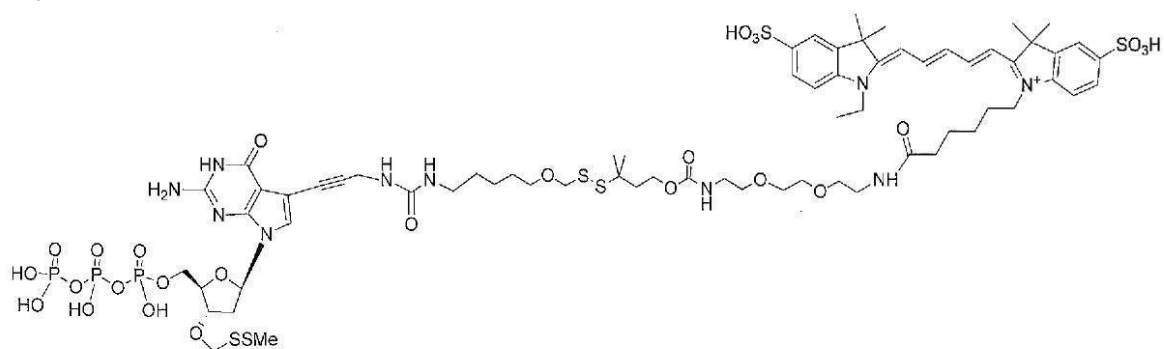


を有する、項目 1 に記載の標識されたデオキシヌクレオシドトリホスフェート。

(項目 2 0)

前記化合物が、構造：

【化 9 2】

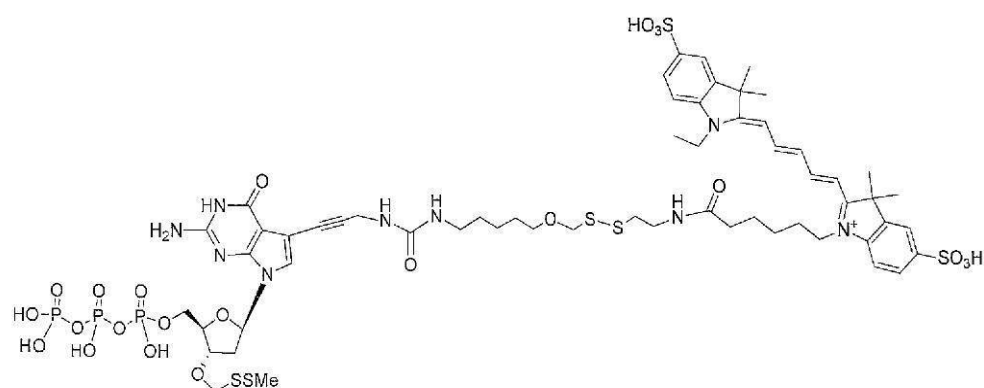


を有する、項目 1 に記載の標識されたデオキシヌクレオシドトリホスフェート。

(項目 2 1)

前記化合物が、構造：

【化 9 3】

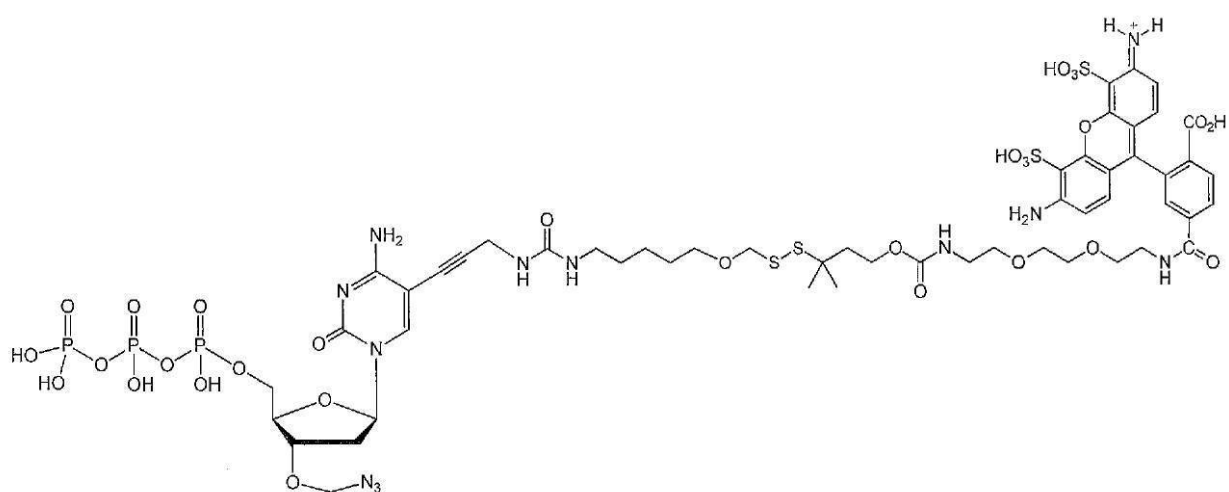


を有する、項目 1 に記載の標識されたデオキシヌクレオシドトリホスフェート。

(項目 2 2)

前記化合物が、構造：

【化 9 4】

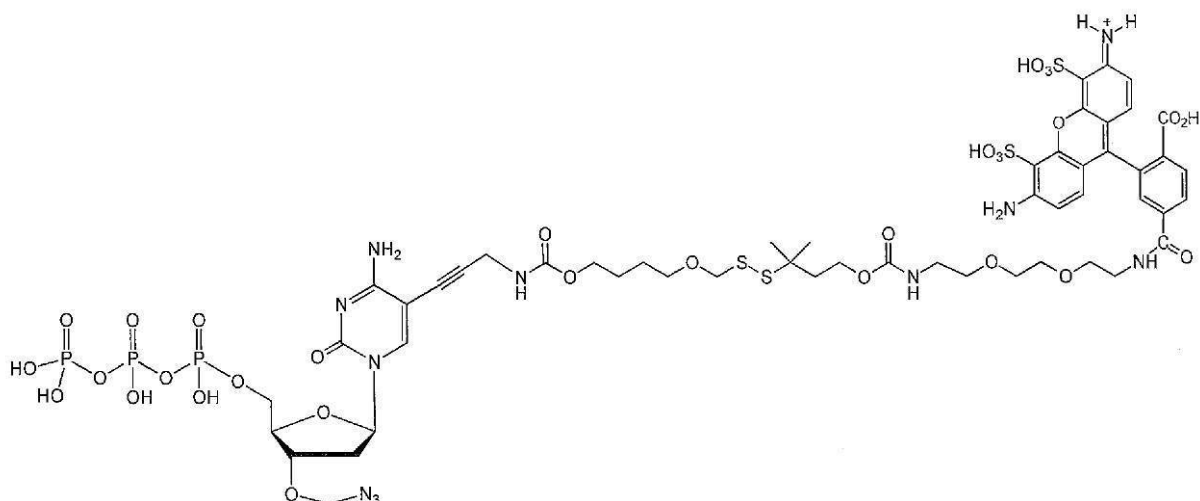


を有する、項目 1 に記載の標識されたデオキシヌクレオシドトリホスフェート。

(項目 2 3)

前記化合物が、構造：

【化 9 5】

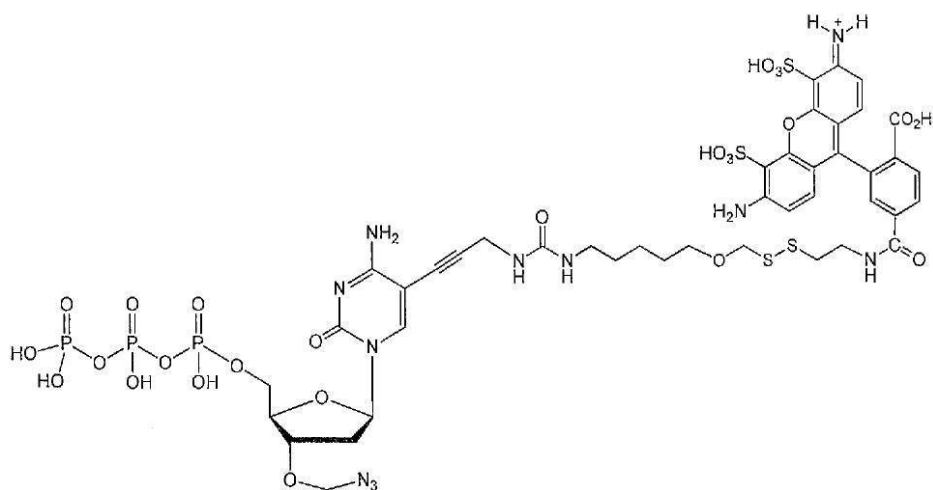


を有する、項目 1 に記載の標識されたデオキシヌクレオシドトリホスフェート。

(項目 2 4)

前記化合物が、構造：

【化 9 6】

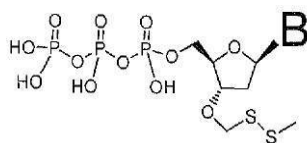


を有する、項目 1 に記載の標識されたデオキシヌクレオシドトリホスフェート。

(項目 2 5)

下記の構造：

【化 9 7】



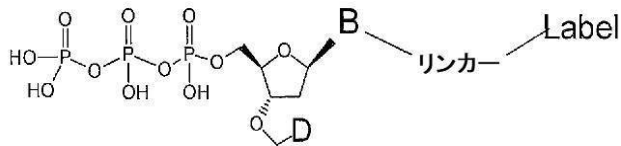
[式中、B は、核酸塩基である]

に従う、デオキシヌクレオシドトリホスフェート。

(項目 2 6)

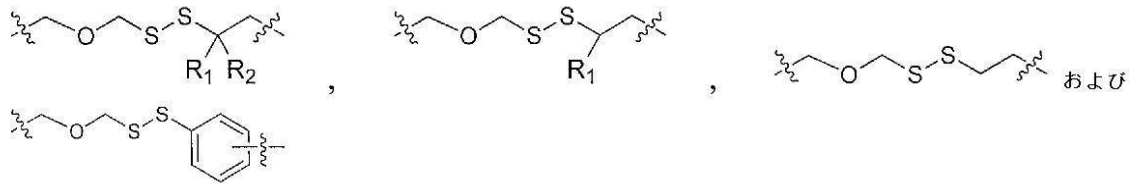
下記の構造：

【化 9 8】



[式中、D は、アジド、ジスルフィドアルキル、ジスルフィド置換アルキル基、ジスルフィドアリルおよびジスルフィド置換アリル基からなる群から選択され；B は、核酸塩基であり；リンカーは、開裂可能なオキシメチレンジスルフィド含有部位のコアを含み、前記開裂可能な部位のコアは、

【化 9 9】



(式中、 R_1 および R_2 は、独立して選択されるアルキル基である)
 からなる群から選択され；Label は、標識である]
 に従う、標識されたデオキシヌクレオシドトリホスフェート。

(項目 2 7)

前記リンカーが、0 よりも大きい $\log P$ 値を有する、項目 2 6 に記載の標識されたデオキシヌクレオシドトリホスフェート。

(項目 2 8)

前記リンカーが、0 . 1 よりも大きい $\log P$ 値を有する、項目 2 6 に記載の標識されたデオキシヌクレオシドトリホスフェート。

(項目 2 9)

前記リンカーが、1 . 0 よりも大きい $\log P$ 値を有する、項目 2 6 に記載の標識されたデオキシヌクレオシドトリホスフェート。

(項目 3 0)

核酸塩基および糖を含むデオキシヌクレオシドトリホスフェートであって、前記核酸塩基が、開裂可能なオキシメチレンジスルフィドリンカーを介して結合している検出可能な標識を含み、前記糖が、メチレンジスルフィドを含む開裂可能な保護基によってキャッピングされている 3' - O を含む、デオキシヌクレオシドトリホスフェート。

(項目 3 1)

前記ヌクレオシドが、ポリメラーゼとの混合物中にある、項目 3 0 に記載のデオキシヌクレオシドトリホスフェート。

(項目 3 2)

前記ヌクレオシドの前記核酸塩基が、非天然である、項目 3 0 に記載のデオキシヌクレオシドトリホスフェート。

(項目 3 3)

前記ヌクレオシドの前記非天然核酸塩基が、7 - デアザグアニン、7 - デアザアデニン、2 - アミノ - 7 - デアザアデニンおよび 2 - アミノアデニンを含む群から選択される、項目 3 2 に記載のデオキシヌクレオシドトリホスフェート。

(項目 3 4)

前記開裂可能な保護基が、式 - CH_2 - SS - R [式中、R は、アルキルおよび置換アルキル基からなる群から選択される] のものである、項目 3 0 に記載のデオキシヌクレオシドトリホスフェート。

(項目 3 5)

前記混合物が、プライマーをさらに含む、項目 3 1 に記載のデオキシヌクレオシドトリホスフェート。

(項目 3 6)

前記プライマーが、核酸鋳型にハイブリダイズされている、項目 3 5 に記載のデオキシヌクレオシドトリホスフェート。

(項目 3 7)

前記検出可能な標識が、蛍光標識である、項目 3 0 に記載のデオキシヌクレオシドトリホスフェート。

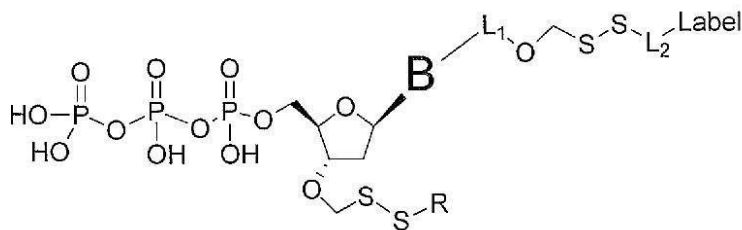
(項目 3 8)

前記核酸鋳型が、固定化されている、項目 3 6 に記載のデオキシヌクレオシドトリホスフェート。

(項目 3 9)

下記の構造：

【化 1 0 0】



[式中、B は、核酸塩基であり、R は、アルキルおよび置換アルキル基からなる群から選択され、 L_1 および L_2 は、接続基である]

に従う、標識されたデオキシヌクレオシドトリホスフェート。

(項目 4 0)

L_1 および L_2 が、 $-CO-$ 、 $-CONH-$ 、 $-NHCONH-$ 、 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-C=N$ および $-N=N-$ 、アルキル、アリール、分枝鎖アルキル、分枝鎖アリールならびにそれらの組合せからなる群から独立して選択される、項目 3 9 に記載の標識されたデオキシヌクレオシドトリホスフェート。

(項目 4 1)

前記標識が、検出可能な標識である、項目 3 9 に記載の標識されたデオキシヌクレオシドトリホスフェート。

(項目 4 2)

L_2 が、 $-S-$ ではない、項目 4 0 に記載の標識されたデオキシヌクレオシドトリホスフェート。

(項目 4 3)

前記標識が、フルオロフォア色素、エネルギー移動色素、質量タグ、ビオチンおよびハプテンからなる群から選択される、項目 3 9 に記載の標識されたデオキシヌクレオシドトリホスフェート。

(項目 4 4)

DNA ポリメラーゼと、核酸塩基および糖を含む少なくとも 1 つのデオキシヌクレオシドトリホスフェートとを含むキットであって、前記糖が、3' - O 上に開裂可能な保護基を含み、前記開裂可能な保護基が、メチレンジスルフィドを含み、前記ヌクレオシドが、開裂可能なオキシメチレンジスルフィドリンカーを介して前記ヌクレオシドの前記核酸塩基に結合した検出可能な標識をさらに含む、キット。

(項目 4 5)

プライマーがハイブリダイズされている核酸鋳型と、DNA ポリメラーゼと、核酸塩基および糖を含む少なくとも 1 つのデオキシヌクレオシドトリホスフェートとを含む反応混合物であって、前記糖が、3' - O 上に開裂可能な保護基を含み、前記開裂可能な保護基

が、メチレンジスルフィドを含み、前記ヌクレオシドが、開裂可能なオキシメチレンジスルフィドリナーを介して前記ヌクレオシドの前記核酸塩基に結合した検出可能な標識をさらに含む、反応混合物。

(項目46)

DNA合成反応を実施する方法であって、a)プライマーがハイブリダイズされている核酸鋳型、DNAポリメラーゼ、核酸塩基および糖を含む少なくとも1つのデオキシヌクレオシドトリホスフェートを用意するステップであって、前記糖が、3'-O上に開裂可能な保護基を含み、前記開裂可能な保護基が、メチレンジスルフィドを含み、前記ヌクレオシドが、開裂可能なオキシメチレンジスルフィドリナーを介して前記ヌクレオシドの前記核酸塩基に結合した検出可能な標識をさらに含む、ステップと、b)反応混合物を、DNAポリメラーゼ触媒プライマー伸長反応を可能にする条件に供するステップとを含む、方法。

(項目47)

前記DNAポリメラーゼ触媒プライマー伸長反応が、配列決定反応の一部である、項目46に記載の方法。

(項目48)

DNA配列を分析するための方法であって、

a)プライマー/鋳型ハイブリダイゼーション複合体を形成している、プライマーがハイブリダイズされている核酸鋳型を用意するステップと、

b)DNAポリメラーゼと、核酸塩基および糖を含む第1のデオキシヌクレオシドトリホスフェートとを添加するステップであり、前記糖が、3'-O上に開裂可能な保護基を含み、前記開裂可能な保護基が、メチレンジスルフィドを含み、前記ヌクレオシドが、開裂可能なオキシメチレンジスルフィド含有リンカーを介して前記ヌクレオシドの前記核酸塩基に結合した第1の検出可能な標識をさらに含む、ステップと、

c)改変されたプライマー/鋳型ハイブリダイゼーション複合体が生じるように、反応混合物を、DNAポリメラーゼ触媒プライマー伸長反応を可能にする条件に供するステップと、

d)前記改変されたプライマー/鋳型ハイブリダイゼーション複合体における前記デオキシヌクレオシドトリホスフェートの前記第1の検出可能な標識を検出するステップとを含む、方法。

(項目49)

e)前記開裂可能な保護基と、任意選択で前記検出可能な標識とを、前記改変されたプライマー/鋳型ハイブリダイゼーション複合体から除去するステップと、f)ステップb)からe)を少なくとも1回繰り返すステップとをさらに含む、項目48に記載の方法。

(項目50)

ステップb)の繰り返し中に第2のデオキシヌクレオシドトリホスフェートを添加するステップをさらに含む、前記第2のデオキシヌクレオシドトリホスフェートが、開裂可能なオキシメチレンジスルフィドリナーを介して結合している第2の検出可能な標識を含み、前記第2の検出可能な標識が、前記第1の検出可能な標識とは異なる、項目49に記載の方法。

(項目51)

前記開裂可能なオキシメチレンジスルフィド含有リンカーが、0よりも大きいlogP値を有する、項目50に記載の方法。

(項目52)

前記開裂可能なオキシメチレンジスルフィド含有リンカーが、0.1よりも大きいlogP値を有する、項目50に記載の方法。

(項目53)

前記開裂可能なオキシメチレンジスルフィド含有リンカーが、1.0よりも大きいlogP値を有する、項目50に記載の方法。

(項目54)

前記第 2 のデオキシヌクレオシドトリホスフェートの前記核酸塩基が、前記第 1 のデオキシヌクレオシドトリホスフェートの前記核酸塩基とは異なる、項目 50 に記載の方法。

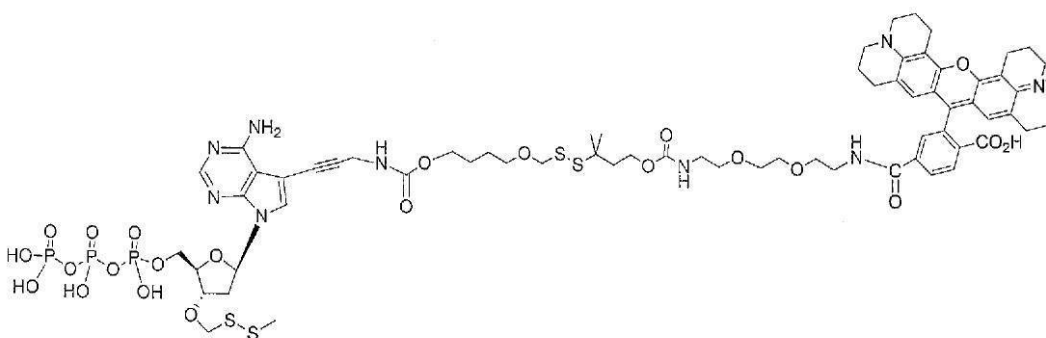
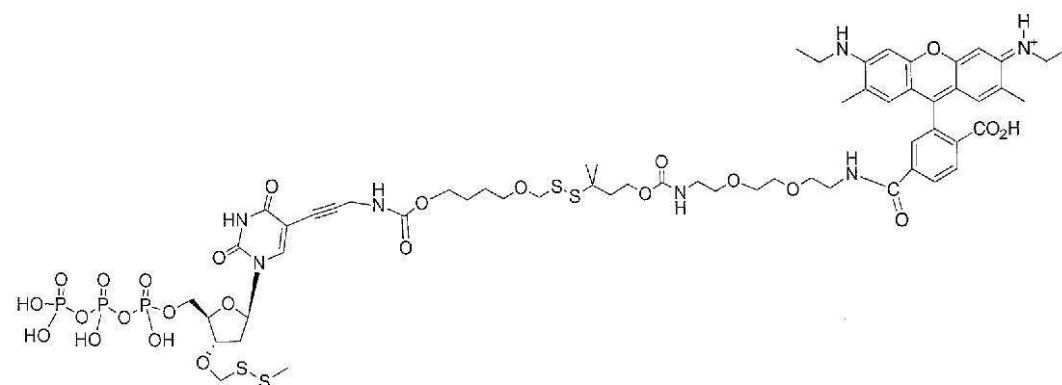
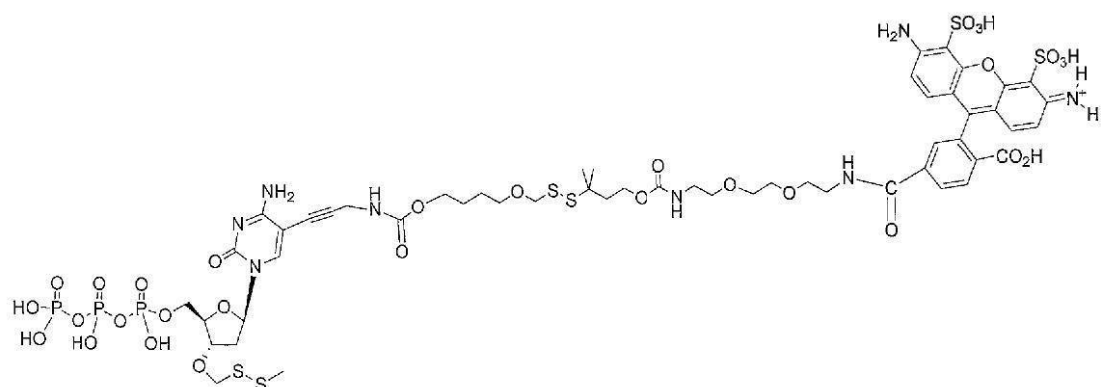
(項目 55)

A、G、C および T または U の類似体を表す、少なくとも 4 つの異なって標識された 3' - O メチレンジスルフィドでキャッピングされたデオキシヌクレオシドトリホスフェート化合物の混合物が、ステップ b) において使用される、項目 49 に記載の方法。

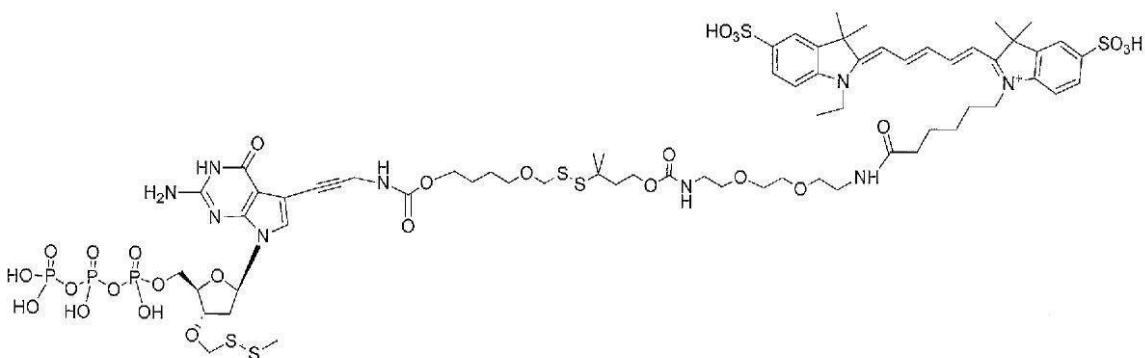
(項目 56)

少なくとも 4 つの異なって標識された 3' - O メチレンジスルフィドでキャッピングされたデオキシヌクレオシドトリホスフェート化合物の混合物が、ステップ b) において使用され、前記化合物が、構造：

【化 1 0 1】



および

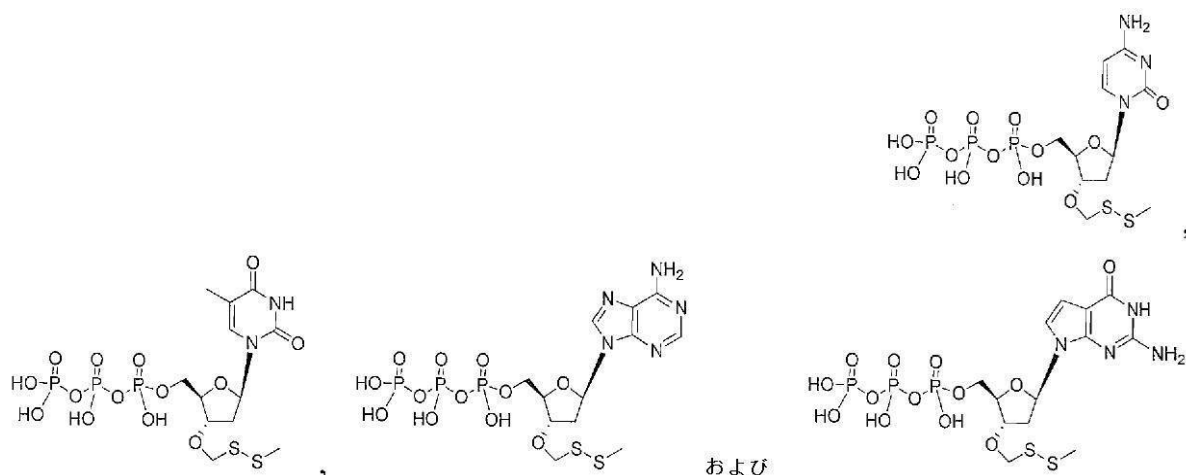


を有する、項目 49 に記載の方法。

(項目 57)

構造：

【化 1 0 2】



を有する非標識 3' - Oメチレンジスルフィドでキャッピングされたデオキシヌクレオシドトリホスフェート化合物も、ステップ b) において使用される、項目 5 6 に記載の方法

。

(項目 5 8)

ステップ e) が、前記改変されたプライマー / 鋳型ハイブリダイゼーション複合体を、還元剤に曝露することによって実施される、項目 4 9 に記載の方法。

(項目 5 9)

前記還元剤が、TCEPである、項目 5 8 に記載の方法。

(項目 6 0)

3' - O - (メチルチオメチル) - 5' - O - (tert - ブチルジメチルシリル) - 2' - デオキシヌクレオシドを調製する方法であって、a) 5' - O - (tert - ブチルジメチルシリル) - 2' - デオキシヌクレオシド [ここで、前記 5' - O - (tert - ブチルジメチルシリル) - 2' - デオキシヌクレオシドは、核酸塩基および糖を含む]、および ii) メチルチオメチル供与体を用意するステップと、b) 前記 5' - O - (tert - ブチルジメチルシリル) - 2' - デオキシヌクレオシドを、3' - O - (メチルチオメチル) - 5' - O - (tert - ブチルジメチルシリル) - 2' - デオキシヌクレオシドが生じるような条件下で処理するステップとを含む、方法。

(項目 6 1)

前記メチルチオメチル供与体が、DMSOである、項目 6 0 に記載の方法。

(項目 6 2)

前記条件が、酸性条件を含む、項目 6 0 に記載の方法。

(項目 6 3)

前記 5' - O - (tert - ブチルジメチルシリル) - 2' - デオキシヌクレオシドが、前記ヌクレオシドの前記核酸塩基上に保護基を含む、項目 6 0 に記載の方法。

(項目 6 4)

前記 3' - O - (メチルチオメチル) - 5' - O - (tert - ブチルジメチルシリル) - 2' - デオキシヌクレオシドを、カラムクロマトグラフィーで精製する、項目 6 0 に記載の方法。

(項目 6 5)

3' - O - (R置換ジチオメチル) - 5' - O - (tert - ブチルジメチルシリル) - 2' - デオキシヌクレオシドを調製する方法であって、a) i) 3' - O - (メチルチオメチル) - 5' - O - (tert - ブチルジメチルシリル) - 2' - デオキシヌクレオシド、および ii) R - SH [ここで、Rは、アルキルまたは置換アルキルを含む]を用意するステップと、b) 前記 3' - O - (メチルチオメチル) - 5' - O - (tert - ブチルジメチルシリル) - 2' - デオキシヌクレオシドを、3' - O - (R置換ジチオメ

チル) - 5' - O - (tert - ブチルジメチルシリル) - 2' - デオキシヌクレオシドが生じるような条件下で処理するステップとを含む、方法。

(項目 66)

前記 R - SH が、エタンチオールである、項目 65 に記載の方法。

(項目 67)

前記条件が、塩基性条件を含む、項目 65 に記載の方法。

(項目 68)

3' - O - (R 置換ジチオメチル) - 2' - デオキシヌクレオシドを調製する方法であって、a) 3' - O - (R 置換ジチオメチル) - 5' - O - (tert - ブチルジメチルシリル) - 2' - デオキシヌクレオシドを用意するステップと、b) 前記 3' - O - (R 置換ジチオメチル) - 5' - O - (tert - ブチルジメチルシリル) - 2' - デオキシヌクレオシドを、3' - O - (R 置換ジチオメチル) - 2' - デオキシヌクレオシドが生じるような条件下で処理するステップとを含む、方法。

(項目 69)

前記条件が、前記 3' - O - (R 置換ジチオメチル) - 2' - デオキシヌクレオシドを NH_4F に曝露することを含む、項目 68 に記載の方法。

(項目 70)

3' - O - (R 置換ジチオメチル) - 2' - デオキシヌクレオシドのトリホスフェートを調製する方法であって、a) 3' - O - (R 置換ジチオメチル) - 2' - デオキシヌクレオシドを用意するステップと、b) 前記 3' - O - (R 置換ジチオメチル) - 2' - デオキシヌクレオシドを、3' - O - (R 置換ジチオメチル) - 2' - デオキシヌクレオシドのトリホスフェートが生じるような条件下で処理するステップとを含む、方法。

(項目 71)

前記条件が、前記 3' - O - (R 置換ジチオメチル) - 2' - デオキシヌクレオシドを、 POCl_3 および Bu_3N をとともに $(\text{MeO})_3\text{PO}$ に曝露することを含む、項目 70 に記載の方法。

(項目 72)

c) 前記核酸塩基保護基の除去のステップをさらに含む、項目 70 に記載の方法。

(項目 73)

前記保護基が、N - トリフルオロアセチル - アミノプロパルギル保護基を含む、項目 72 に記載の方法。

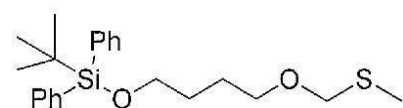
(項目 74)

前記 N - トリフルオロアセチル - アミノプロパルギル保護基を、加溶媒分解によって除去して、5' - O - (トリホスフェート) - 3' - O - (R 置換ジチオメチル) - 5 - (アミノプロパルギル) - 2' - デオキシヌクレオシドを生成する、項目 73 に記載の方法。

°
(項目 75)

構造が、

【化 103】

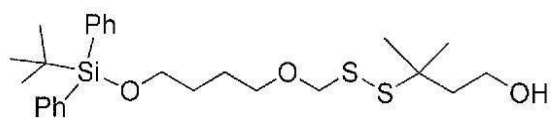


である、化合物。

(項目 76)

構造が、

【化 1 0 4】

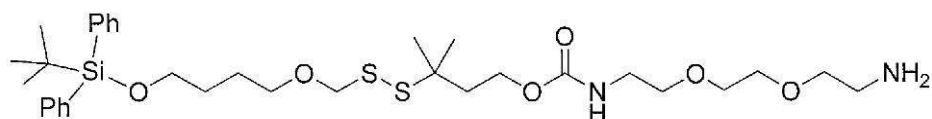


である、化合物。

(項目 7 7)

構造が、

【化 1 0 5】

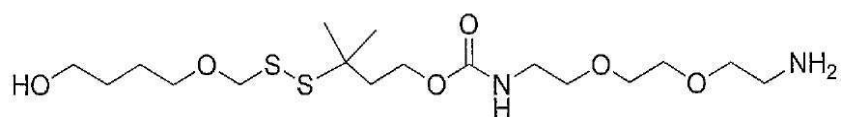


である、化合物。

(項目 7 8)

構造が、

【化 1 0 6】

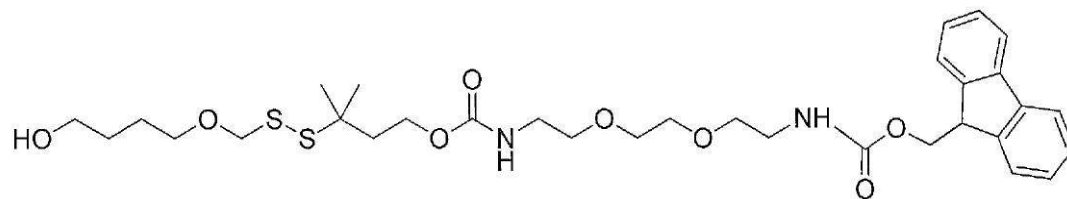


である、化合物。

(項目 7 9)

構造が、

【化 1 0 7】

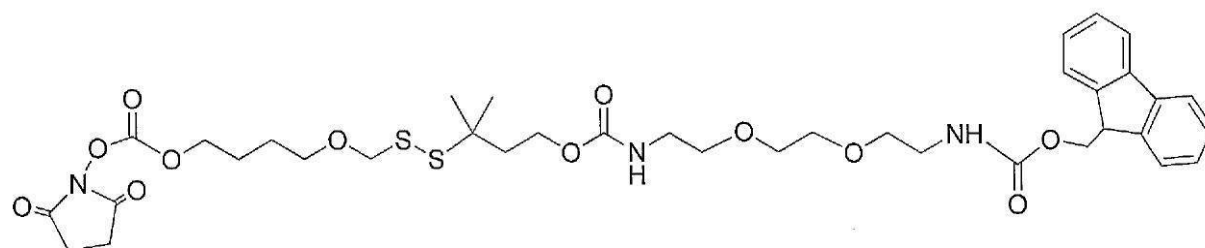


である、化合物。

(項目 8 0)

構造が、

【化 1 0 8】



である、化合物。