

【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 07 H	19/10	(2006.01)
C 09 B	11/28	(2006.01)
C 09 B	23/00	(2006.01)
C 07 F	7/18	(2006.01)
C 07 C	323/12	(2006.01)
C 07 H	19/14	(2006.01)

【F I】

C 07 H	19/10	C S P
C 09 B	11/28	E
C 09 B	23/00	L
C 07 F	7/18	Q
C 07 C	323/12	
C 07 H	19/14	
C 09 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

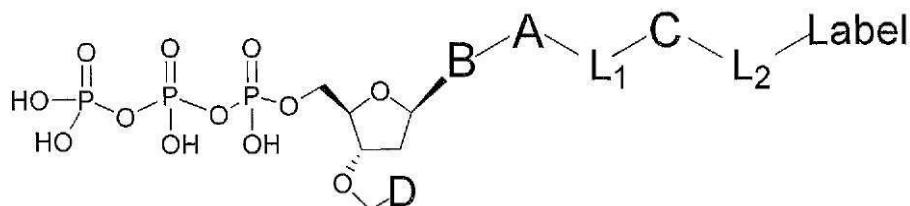
【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

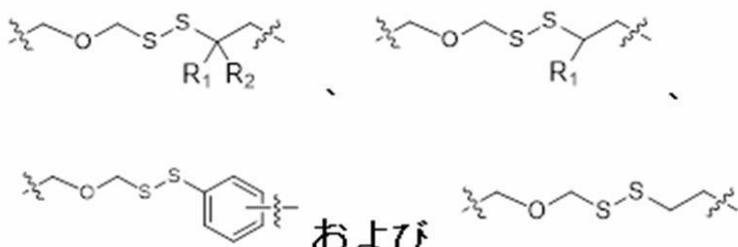
下記の構造：

【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、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<sub>1</sub>およびR<sub>2</sub>は、独立して選択されるアルキル基であり；L<sub>1</sub>およびL<sub>2</sub>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。

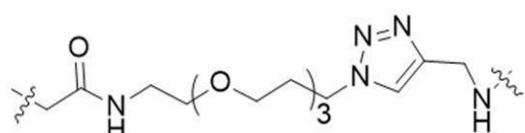
## 【請求項3】

L<sub>1</sub>が、-CONH(CH<sub>2</sub>)<sub>x</sub>-、-CO-O(CH<sub>2</sub>)<sub>x</sub>-、-CONH-(OC(H<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O))<sub>x</sub>-、-CO-O(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>x</sub>-および-CO(CH<sub>2</sub>)<sub>x</sub>-[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<sub>2</sub>が、

## 【化A】

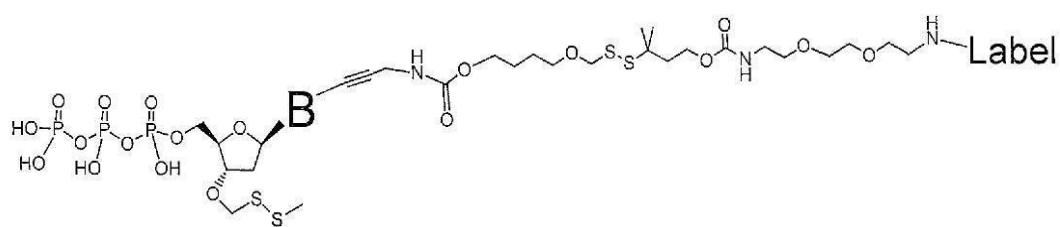


-NH-、-(CH<sub>2</sub>)<sub>x</sub>-NH-、-C(Me)<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>x</sub>NH-、-CH(Me)(CH<sub>2</sub>)<sub>x</sub>NH-、-C(Me)<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>x</sub>CO-、-CH(Me)(CH<sub>2</sub>)<sub>x</sub>CO-、-(CH<sub>2</sub>)<sub>x</sub>OCONH(CH<sub>2</sub>)<sub>y</sub>O(CH<sub>2</sub>)<sub>z</sub>NH-、-(CH<sub>2</sub>)<sub>x</sub>CONH(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>y</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>z</sub>NH-、-CONH(CH<sub>2</sub>)<sub>x</sub>-、および-CO(CH<sub>2</sub>)<sub>x</sub>-[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80】

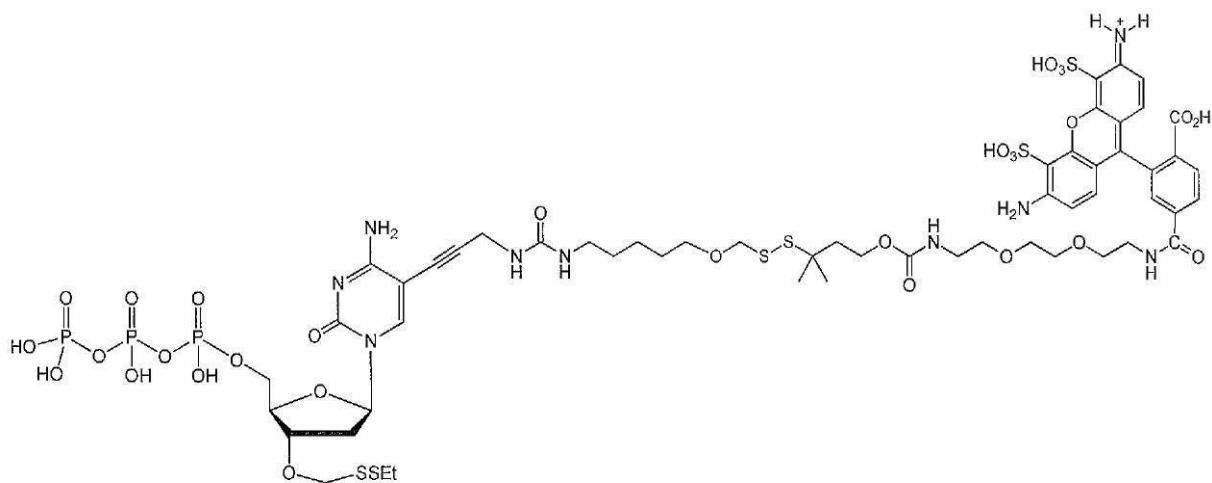


[式中、前記標識は色素である]を有する、請求項1に記載の標識されたデオキシヌクレオシドトリホスフェート。

### 【請求項 6】

## 構造：

【化 8 1】

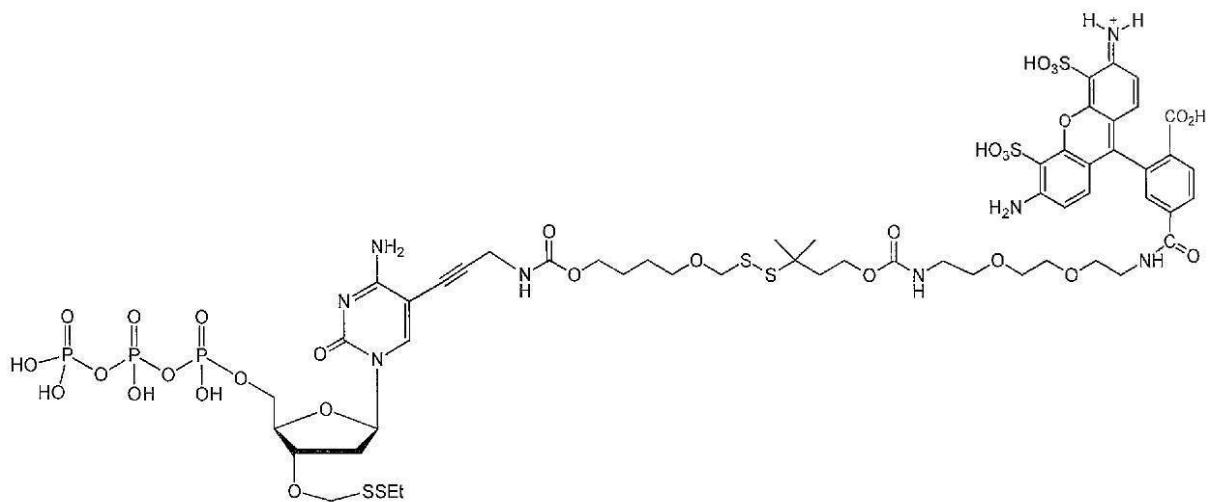


を有する、請求項1に記載の標識されたデオキシヌクレオシドトリホスフェート。

## 【請求項 7】

## 構造：

【化 8 2】

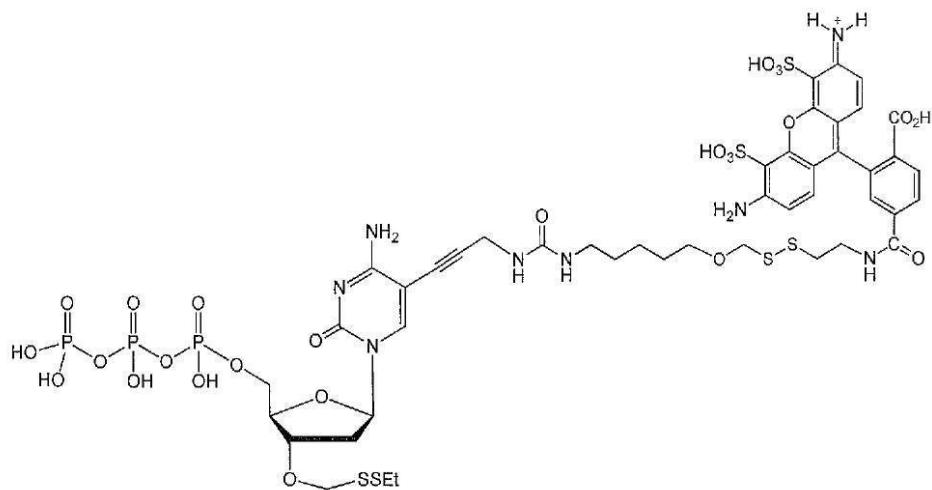


を有する、請求項1に記載の標識されたデオキシヌクレオシドトリホスフェート。

### 【請求項8】

## 構造：

【化 8 3】

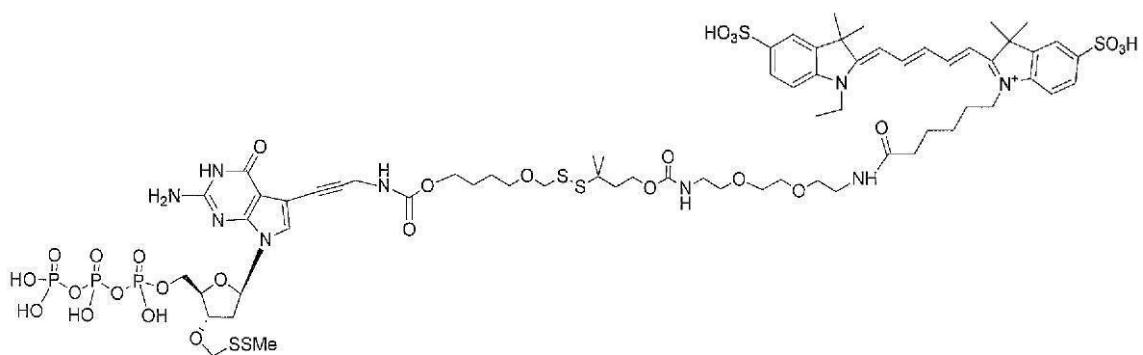


を有する、請求項 1 に記載の標識されたデオキシヌクレオシドトリホスフェート。

【請求項 9】

構造 :

【化 8 4】

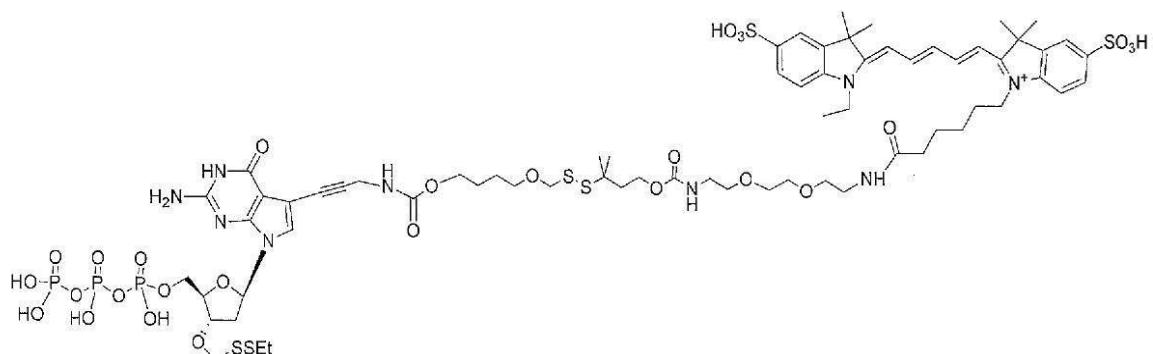


を有する、請求項 1 に記載の標識されたデオキシヌクレオシドトリホスフェート。

【請求項 10】

構造 :

【化 8 5】

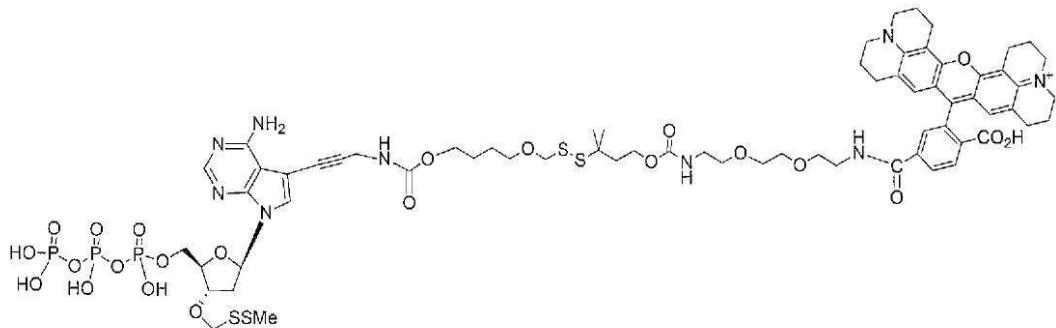


を有する、請求項 1 に記載の標識されたデオキシヌクレオシドトリホスフェート。

【請求項 11】

構造 :

【化 8 6】

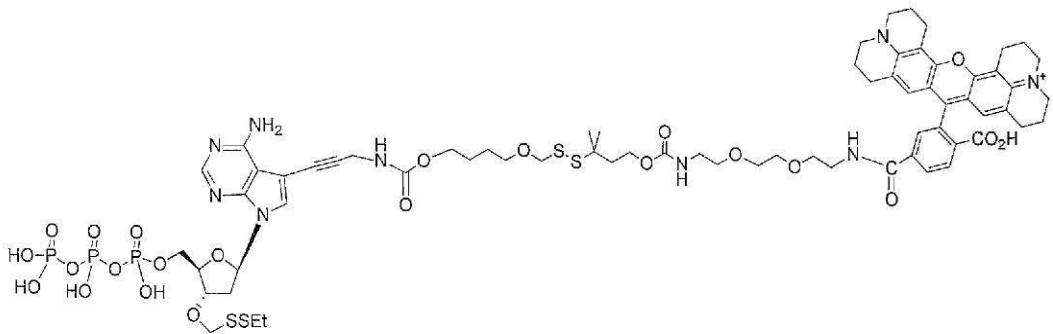


を有する、請求項1に記載の標識されたデオキシヌクレオシドトリホスフェート。

## 【請求項 1 2】

## 構造：

【化 8 7】

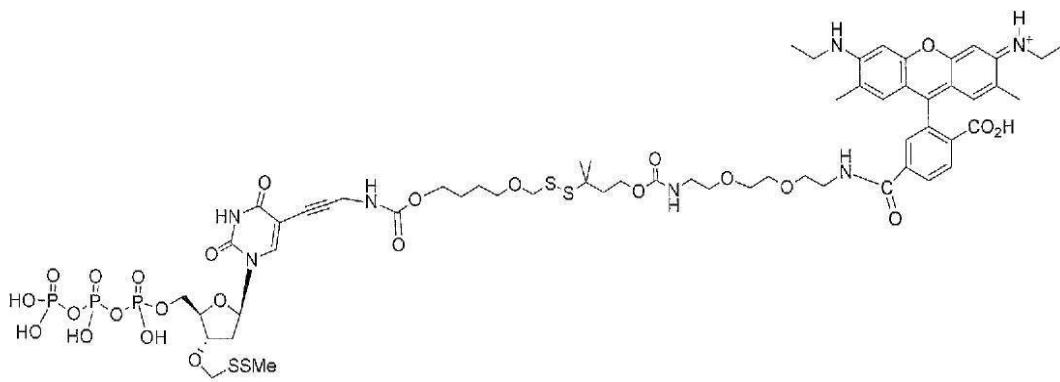


を有する、請求項1に記載の標識されたデオキシヌクレオシドトリホスフェート。

### 【請求項 1 3】

## 構造：

【化 8 8】

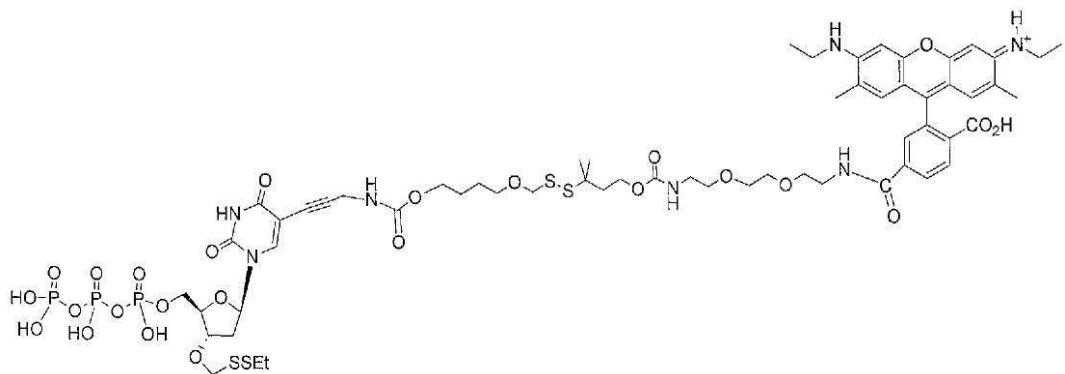


を有する、請求項 1 に記載の標識されたデオキシヌクレオシドトリホスフェート。

## 【請求項14】

## 構造：

【化 8 9】

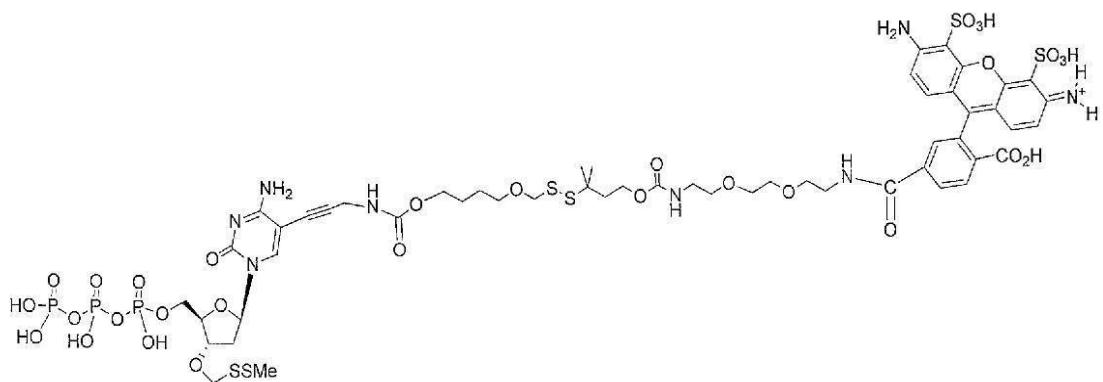


を有する、請求項 1 に記載の標識されたデオキシヌクレオシドトリホスフェート。

【請求項 1 5】

構造 :

【化 9 0】

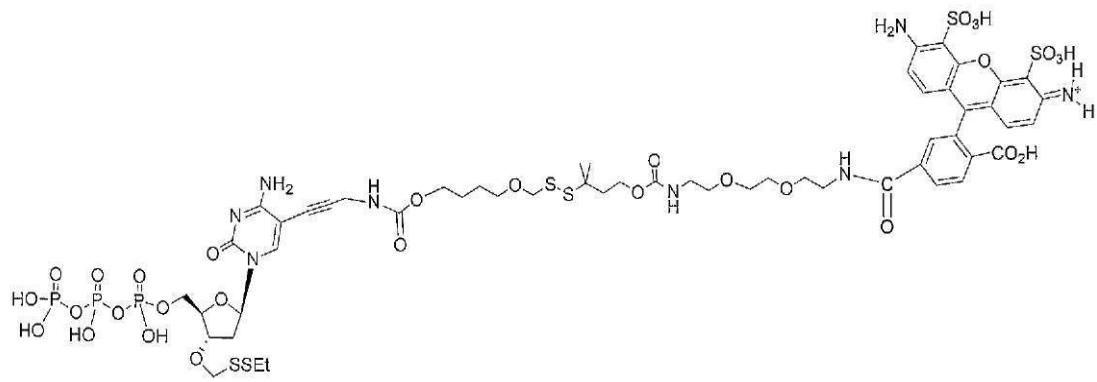


を有する、請求項 1 に記載の標識されたデオキシヌクレオシドトリホスフェート。

【請求項 1 6】

構造 :

【化 9 1】

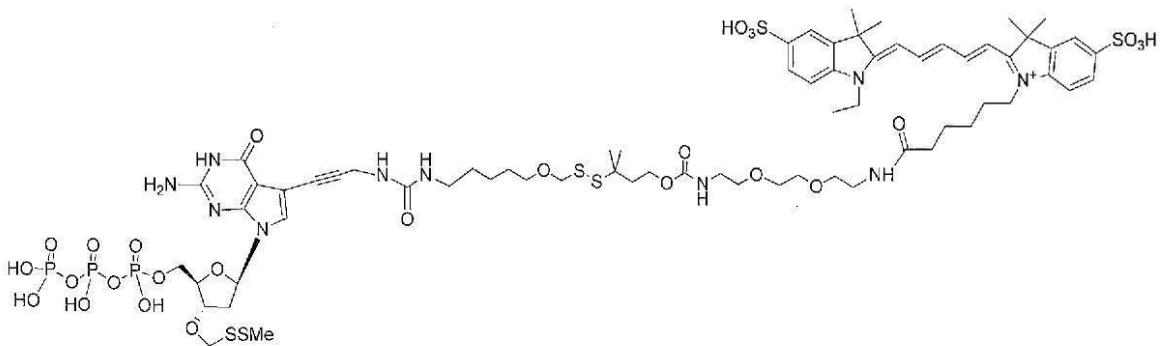


を有する、請求項 1 に記載の標識されたデオキシヌクレオシドトリホスフェート。

【請求項 1 7】

構造 :

【化 9 2】

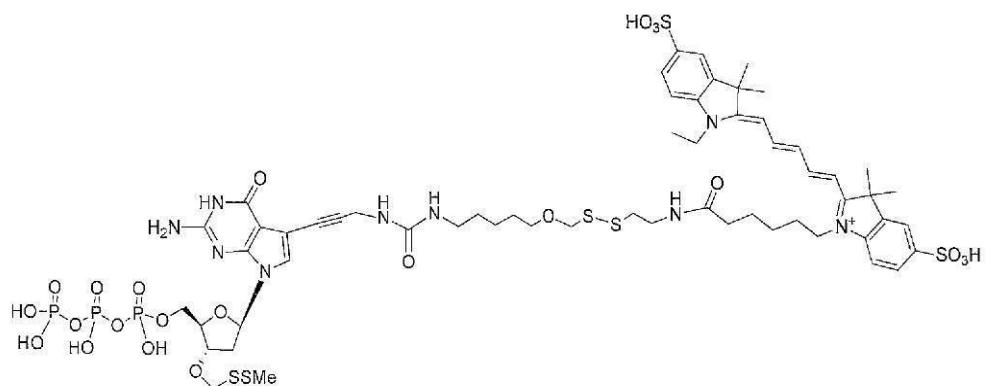


を有する、請求項1に記載の標識されたデオキシヌクレオシドトリホスフェート。

## 【請求項 18】

## 構造：

【化 9 3】

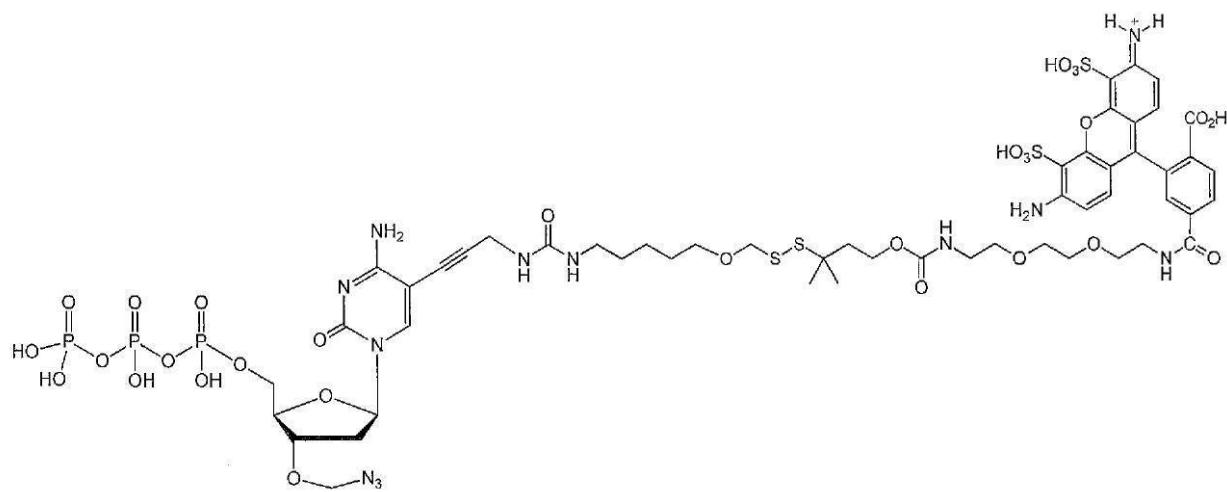


を有する、請求項1に記載の標識されたデオキシヌクレオシドトリホスフェート。

### 【請求項19】

## 構造：

【化 9 4】

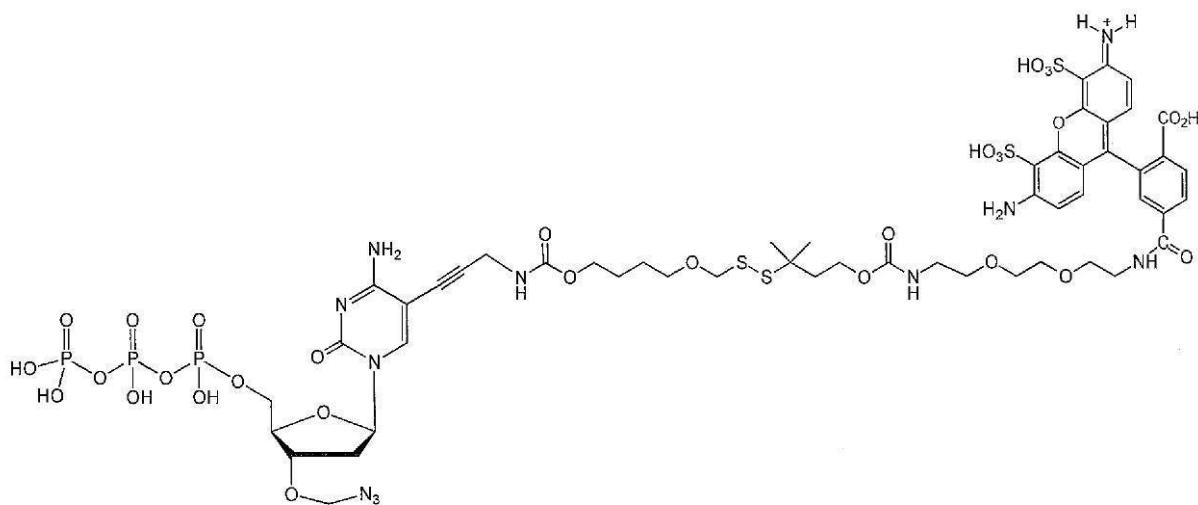


を有する、請求項1に記載の標識されたデオキシヌクレオシドトリホスフェート。

## 【請求項 20】

## 構造：

## 【化95】

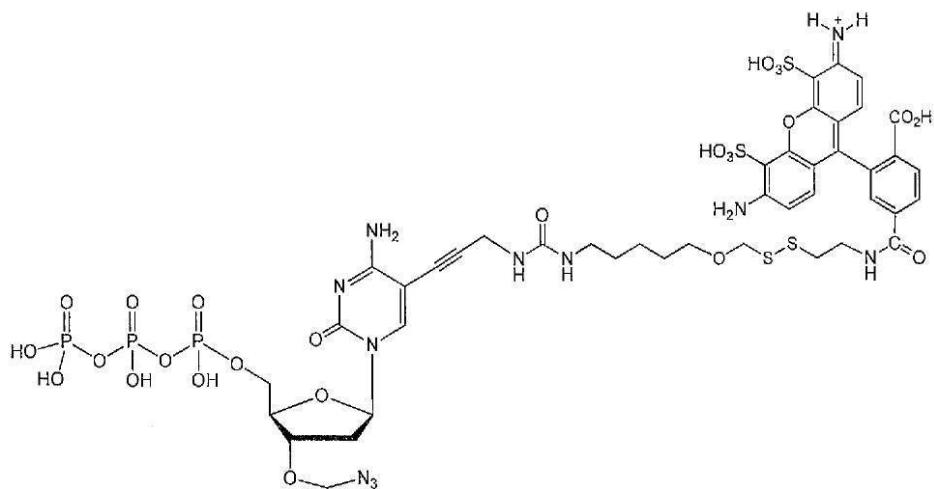


を有する、請求項1に記載の標識されたデオキシヌクレオシドトリホスフェート。

## 【請求項21】

構造：

## 【化96】

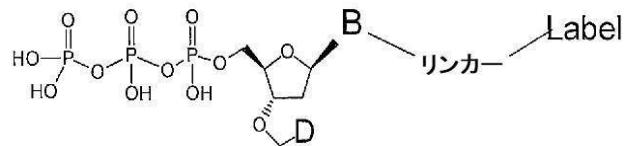


を有する、請求項1に記載の標識されたデオキシヌクレオシドトリホスフェート。

## 【請求項22】

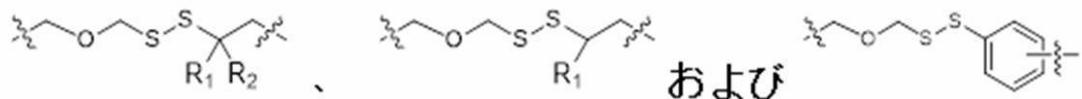
下記の構造：

## 【化98】



[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99】



(式中、R<sub>1</sub> および R<sub>2</sub> 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、ビオチンおよびハブ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10gP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10gP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10gP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、核酸錆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。

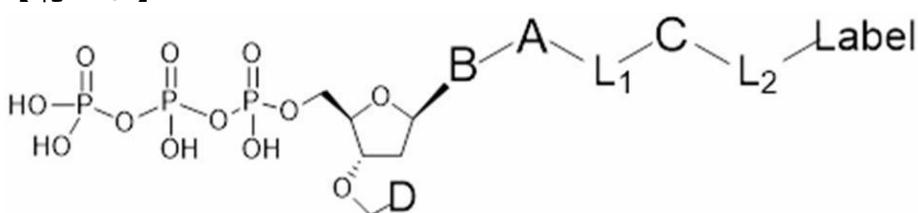
## 【請求項31】

前記核酸錆型が、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】

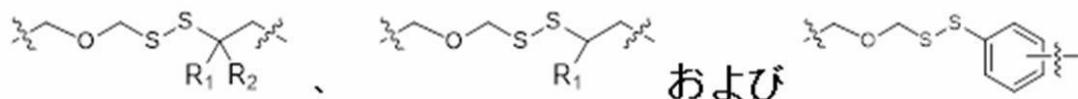
下記の構造：

## 【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、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<sub>1</sub>およびR<sub>2</sub>は、独立して選択されるアルキル基であり；L<sub>1</sub>およびL<sub>2</sub>は、接続基であり、L<sub>1</sub>は、-CO-NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>x</sub>-、-CO-O-(CH<sub>2</sub>)<sub>x</sub>-、-CONH-(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>x</sub>-、-CO-O-(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>x</sub>-および-CO-(CH<sub>2</sub>)<sub>x</sub>-からなる群から選択され、ここで、xは0～10であり、L<sub>2</sub>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<sub>2</sub>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クマ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。

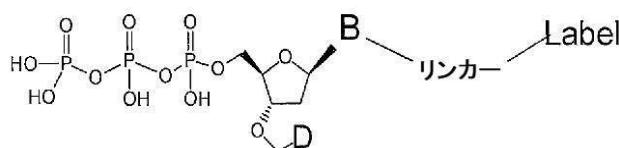
【請求項36】

プライマーがハイブリダイズされている核酸錠型と、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クマ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錠型、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：

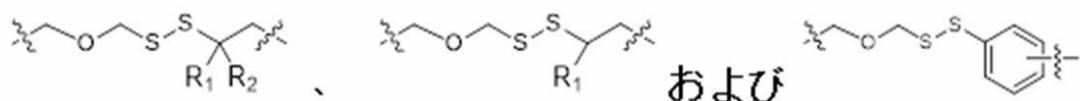
【化98】



[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<sub>1</sub>およびR<sub>2</sub>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37に記載の方法。

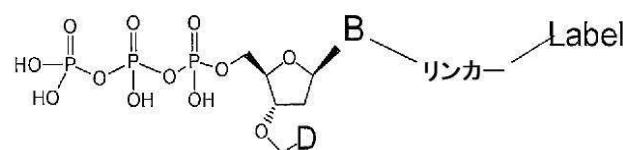
【請求項 3 9】

DNA配列を分析するための方法であって、

a)プライマー／鑄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鑄型を用意するステップと、

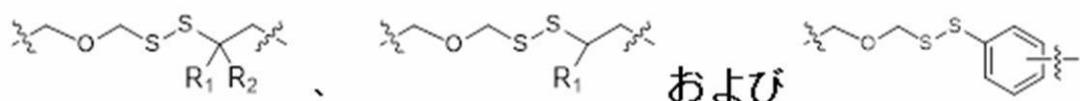
b)DNAポリメラーゼと、第1のデオキシヌクレオシドトリホスフェートとを添加するステップであり、前記第1のデオキシヌクレオシドトリホスフェートは、下記の構造：

【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<sub>1</sub>およびR<sub>2</sub>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／鑄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／鑄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39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  $10 \text{ g P}$  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  $10 \text{ g P}$  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  $10 \text{ g P}$  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。

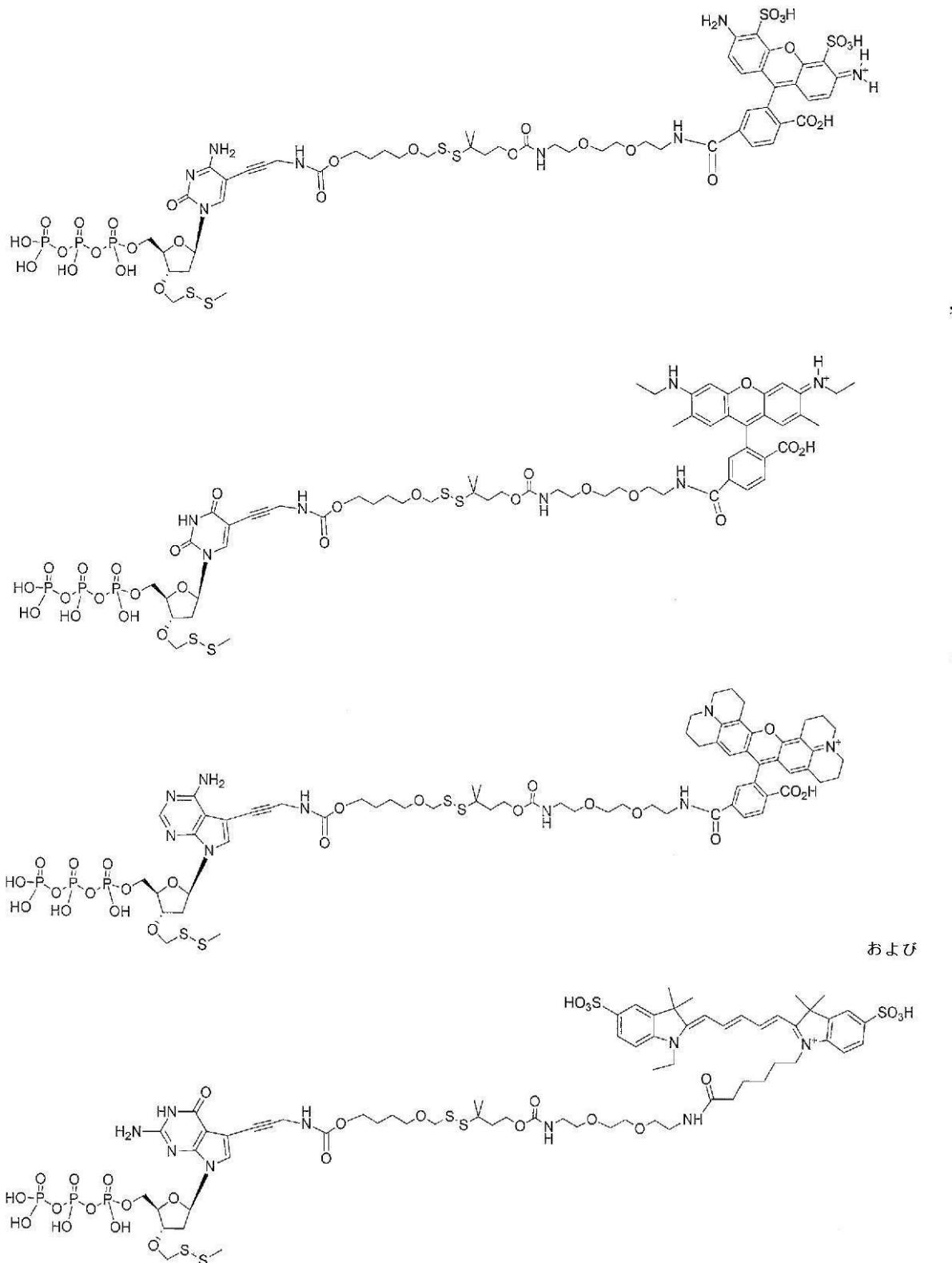
**【請求項 4 6】**

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 つの異なる標識された  $3' - \text{O}$  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 つの異なる標識された  $3' - \text{O}$  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】

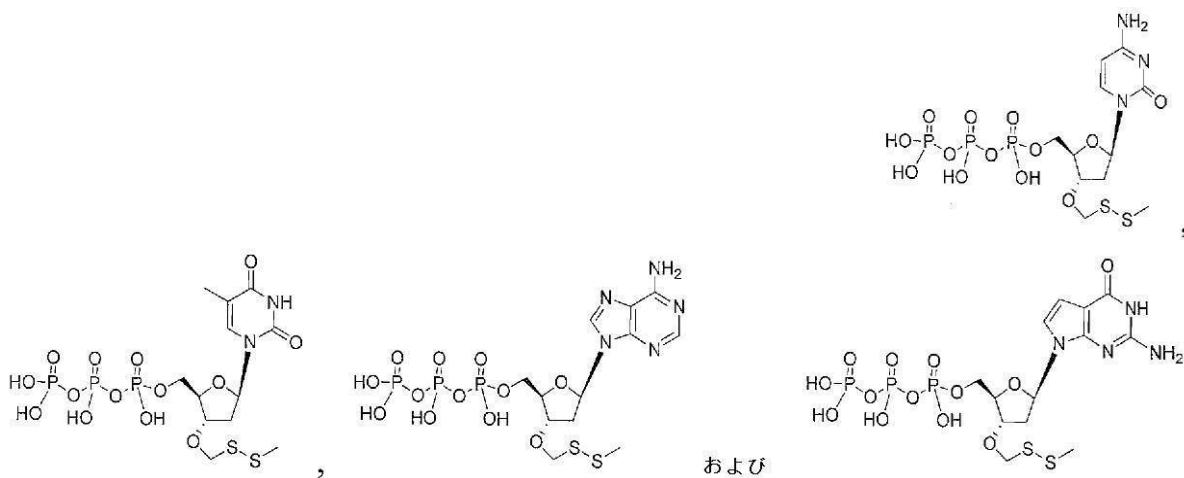


を有する、請求項40に記載の方法。

【請求項48】

構造：

## 【化102】



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 4 7 に記載の方法。

## 【請求項 4 9】

ステップ e ) が、前記改変されたプライマー / 鑄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 4 0 に記載の方法。

## 【請求項 5 0】

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 4 9 に記載の方法。

## 【請求項 5 1】

3' - O - ( R 置換ジチオメチル ) - 5' - O - ( t e r t - 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 - ( t e r t - 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 - S H [ 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 - ( t e r t - 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 - ( t e r t - 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 5 2】

前記 R - S H が、エタンチオールである、請求項 5 1 に記載の方法。

## 【請求項 5 3】

前記条件が、塩基性条件を含む、請求項 5 1 に記載の方法。

## 【請求項 5 4】

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 - ( t e r t - 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 - ( t e r t - 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 5 5】

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 N H<sub>4</sub> F に曝露することを含む、請求項 5 4 に記載の方法。

## 【請求項 5 6】

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<sub>3</sub>およびBu<sub>3</sub>Nをとともに(MeO)<sub>3</sub>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。

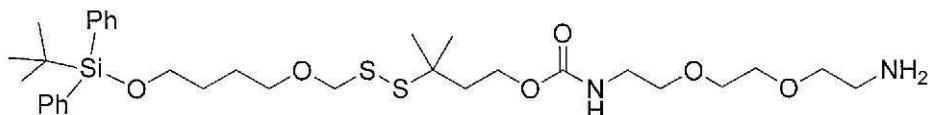
【請求項60】

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】

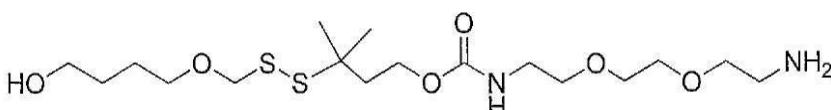


である、化合物。

【請求項62】

構造が、

【化106】

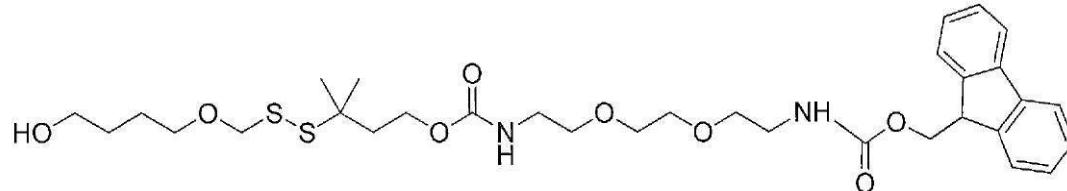


である、化合物。

【請求項63】

構造が、

【化107】

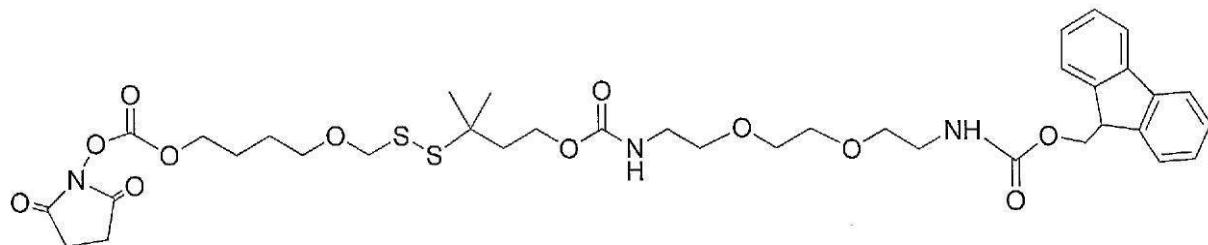


である、化合物。

【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 / 鑄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<sub>1</sub> が、 - C O N H ( C H<sub>2</sub> )<sub>x</sub> - 、 - C O - O ( C H<sub>2</sub> )<sub>x</sub> - 、 - C O N H - ( O C H<sub>2</sub> C H<sub>2</sub> O )<sub>x</sub> - 、 - C O - O ( C H<sub>2</sub> C H<sub>2</sub> O )<sub>x</sub> - および - C O ( C H<sub>2</sub> )<sub>x</sub> - [ ここで、 x は、 0 ~ 1 0 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】

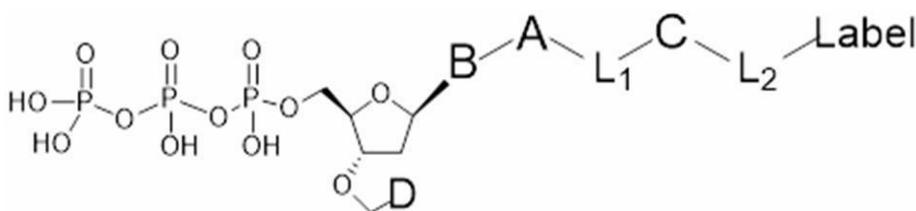
L<sub>2</sub> が、 - C O - 、 - C O N H - 、 - N H C O N H - 、 - O - 、 - S - 、 - C = N および - N = N - 、アルキル、アリール、分枝鎖アルキルおよび分枝鎖アリールからなる群から選択される、請求項 1 に記載の標識されたデオキシヌクレオシドトリホスフェート。

## 【請求項 6 8】

D N A 合成反応を実施する方法であって、

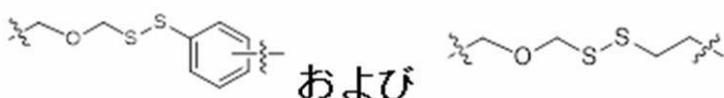
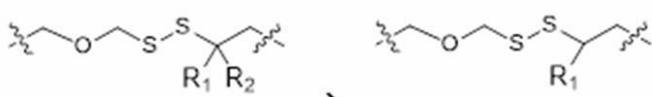
a ) プライマーがハイブリダイズされている核酸鑄型、 D N A ポリメラーゼ、少なくとも 1 つのデオキシヌクレオシドトリホスフェートを用意するステップであって、前記少なくとも 1 つのデオキシヌクレオシドトリホスフェートが、下記の構造 :

## 【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、

## 【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 6 9】

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 6 8 に記載の方法。

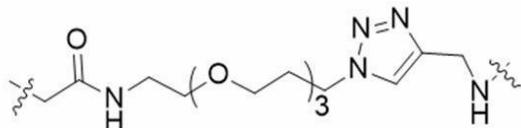
#### 【請求項 7 0】

$L_1$  が、 $-CONH(CH_2)_x-$ 、 $-CO-O(CH_2)_x-$ 、 $-CONH-(OCH_2CH_2O)_x-$ 、 $-CO-O(CH_2CH_2O)_x-$  および  $-CO(CH_2)_x-$  [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 6 8 に記載の方法。

#### 【請求項 7 1】

$L_2$  が、

#### 【化 A】



、 $-NH-$ 、 $- (CH_2)_x - NH-$ 、 $-C(Me)_2(CH_2)_x NH-$ 、 $-CH(Me)(CH_2)(CH_2)_x NH-$ 、 $-C(Me)_2(CH_2)_x CO-$ 、 $-CH(Me)(CH_2)(CH_2)_x CO-$ 、 $- (CH_2)_x OCONH(CH_2)_y O(CH_2)_z NH-$ 、 $- (CH_2)_x CONH(CH_2CH_2O)_y (CH_2)_z NH-$ 、 $-CONH(CH_2)_x-$  および  $-CO(CH_2)_x-$  [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 6 8 に記載の方法。

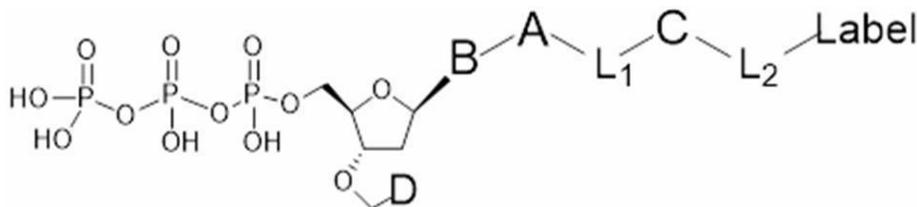
#### 【請求項 7 2】

DNA 配列を分析するための方法であって、

a) プライマー / 鑄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鑄型を用意するステップと、

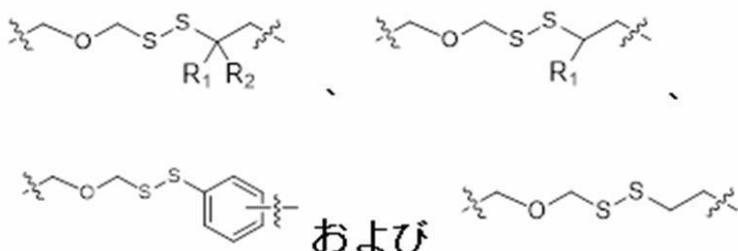
b) DNA ポリメラーゼと、第 1 のデオキシヌクレオシドトリホスフェートとを添加するステップであり、前記第 1 のデオキシヌクレオシドトリホスフェートが、下記の構造：

#### 【化 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、

## 【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<sub>1</sub>およびR<sub>2</sub>は、独立して選択されるアルキル基であり；L<sub>1</sub>およびL<sub>2</sub>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、

c) 改変されたプライマー／鑄型ハイブリダイゼーション複合体が生じるよう、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／鑄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。

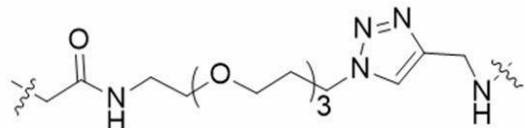
## 【請求項73】

L<sub>1</sub>が、-CONH(CH<sub>2</sub>)<sub>x</sub>-、-CO-O(CH<sub>2</sub>)<sub>x</sub>-、-CONH-(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>x</sub>-、-CO-O(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>x</sub>-および-CO(CH<sub>2</sub>)<sub>x</sub>-【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72に記載の方法。

## 【請求項74】

L<sub>2</sub>が、

## 【化A】

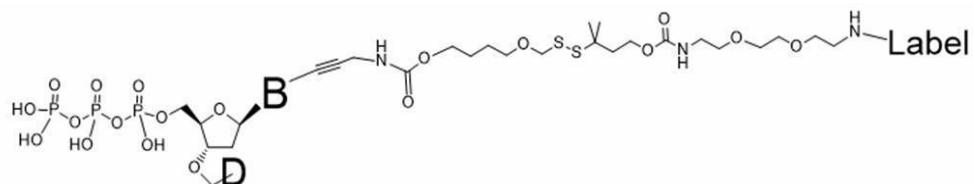


、-NH-、-(CH<sub>2</sub>)<sub>x</sub>-NH-、-C(Me)<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>x</sub>NH-、-CH(Me)(CH<sub>2</sub>)<sub>x</sub>NH-、-C(Me)<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>x</sub>CO-、-CH(Me)(CH<sub>2</sub>)<sub>x</sub>CO-、-(CH<sub>2</sub>)<sub>x</sub>CONH(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>y</sub>O(CH<sub>2</sub>)<sub>z</sub>NH-、-(CH<sub>2</sub>)<sub>x</sub>CONH(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>y</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>z</sub>NH-、-CONH(CH<sub>2</sub>)<sub>x</sub>-および-CO(CH<sub>2</sub>)<sub>x</sub>-【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72に記載の方法。

## 【請求項75】

下記の構造：

## 【化100A】



[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

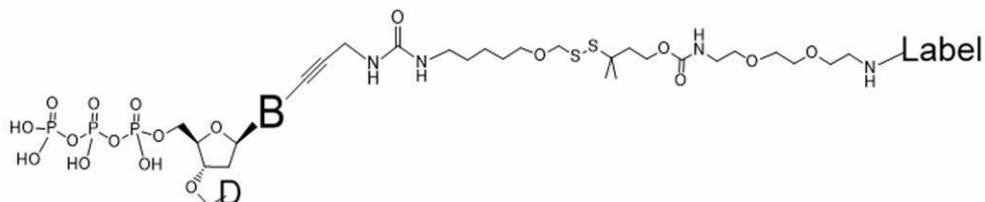
から選択される開裂可能な保護基であり；前記 L a b e l は色素であり、B は核酸塩基である]

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 7 6】

### 下記の構造：

【化 1 0 0 B 】



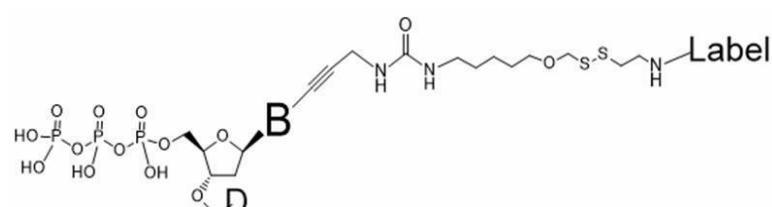
[式中、Dは、アジド、ジスルフィドアルキル、ジスルフィド置換アルキル基からなる群から選択される開裂可能な保護基であり；前記Labelは色素であり、Bは核酸塩基である。]

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 7 7】

### 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Label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

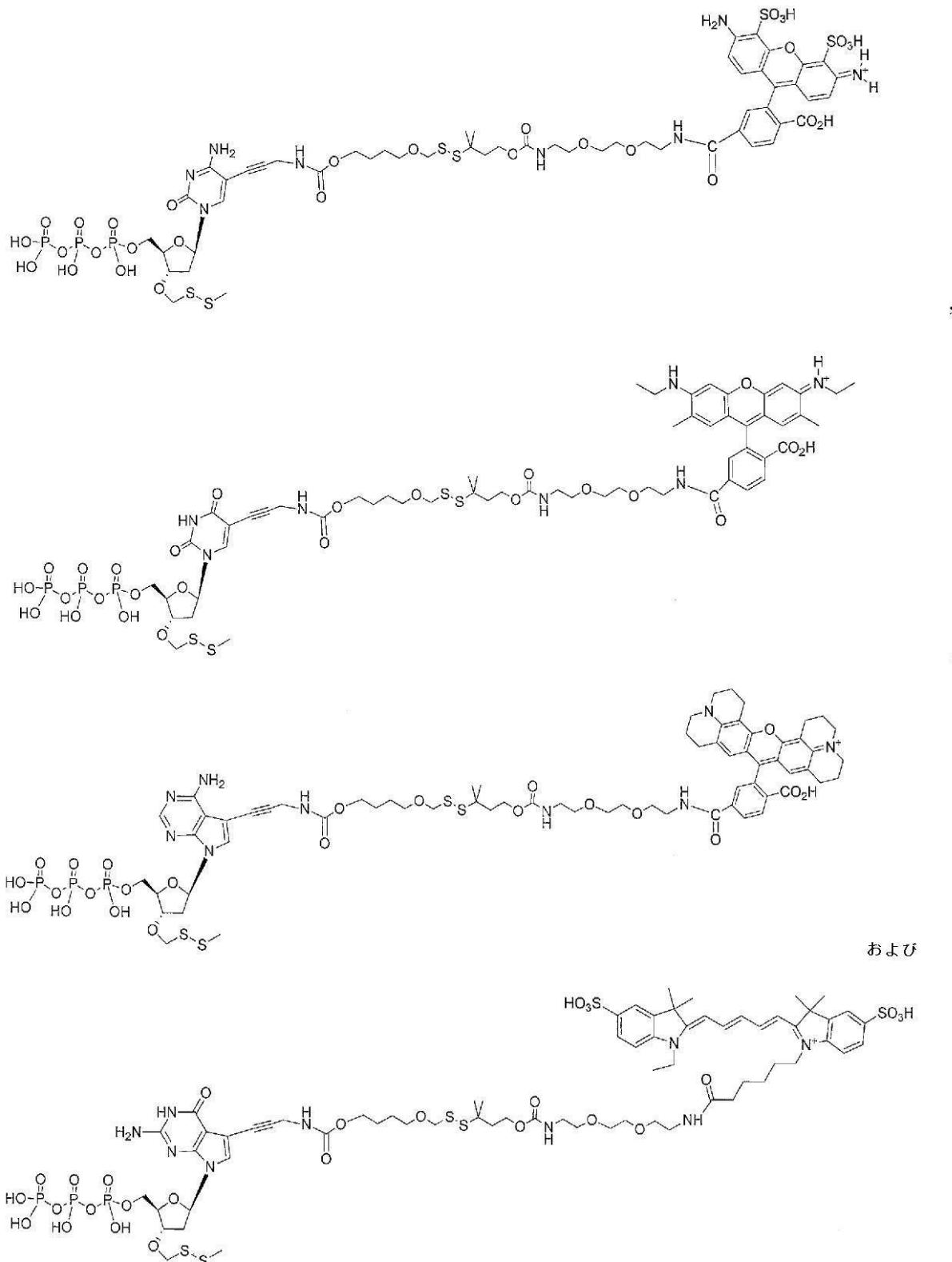
## 【 請求項 7 8 】

DNA配列を分析するための方法であって

a) プライマー / 鑄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鑄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】



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プ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/鑄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 / 鑄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、

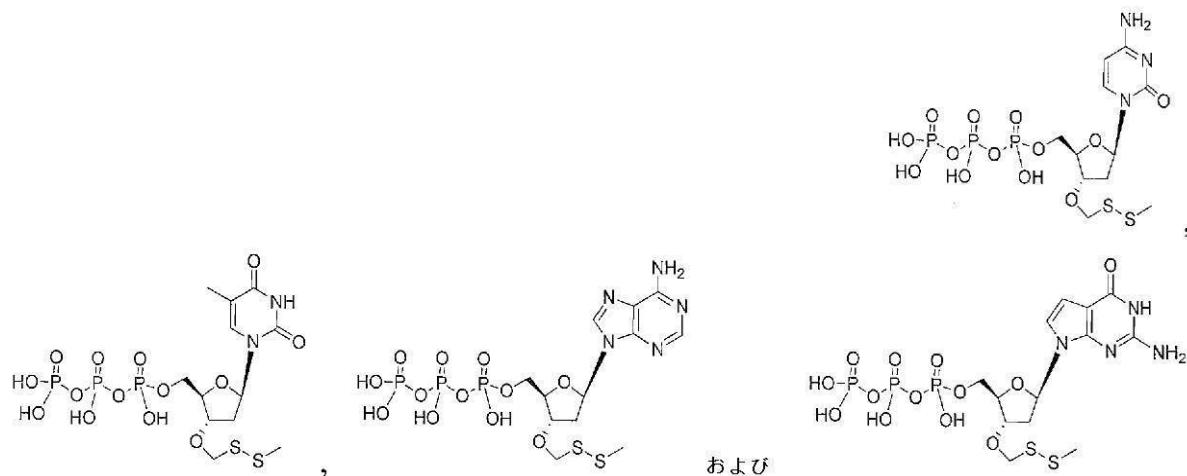
f ) ステップ b ) から e ) を少なくとも 1 回繰り返すステップと、

を含む、方法。

【請求項 7 9】

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 1 0 2】



を有する、ステップをさらに含む、請求項 7 8 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】0 0 8 2

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 0 8 2】

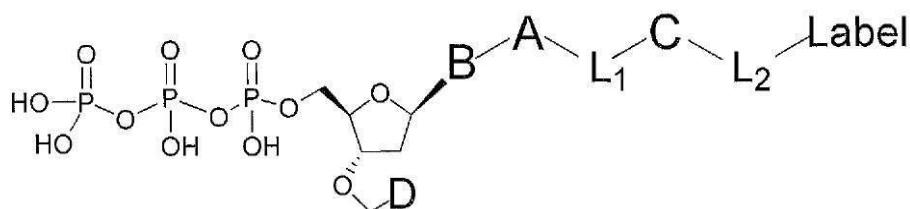
本明細書に組み込まれてその一部を形成する添付図は、本発明のいくつかの実施形態を例証し、記述と一緒に、本発明の原理を説明する役割を果たす。図は、本発明の好ましい実施形態を例証することのみを目的としており、本発明を限定するものとして解釈すべきではない。

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 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<sub>1</sub>およびL<sub>2</sub>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。

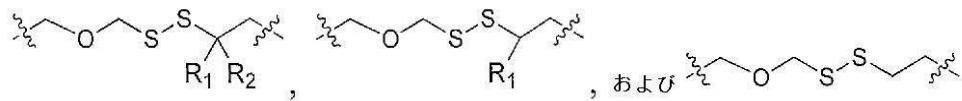
(項目3)

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79】



[式中、R<sub>1</sub>およびR<sub>2</sub>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<sub>1</sub>が、-CONH(CH<sub>2</sub>)<sub>x</sub>-、-CO-O(CH<sub>2</sub>)<sub>x</sub>-、-CONH-(OC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>x</sub>-、-CO-O(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>x</sub>-および-CO(CH<sub>2</sub>)<sub>x</sub>-[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<sub>2</sub>が、-NH-、-(CH<sub>2</sub>)<sub>x</sub>-NH-、-C(Me)<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>x</sub>NH-、-CH(Me)(CH<sub>2</sub>)<sub>x</sub>NH-、-C(Me)<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>x</sub>CO-、-CH(Me)(CH<sub>2</sub>)<sub>x</sub>CO-、-(CH<sub>2</sub>)<sub>x</sub>CONH(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>y</sub>O(CH<sub>2</sub>)<sub>z</sub>NH-、-(CH<sub>2</sub>)<sub>x</sub>CONH(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>y</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>z</sub>NH-および-CO(NH(CH<sub>2</sub>)<sub>x</sub>CO(CH<sub>2</sub>)<sub>x</sub>-[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。

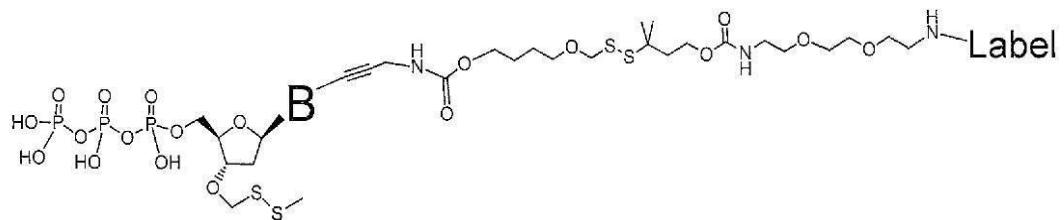
(項目7)

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】

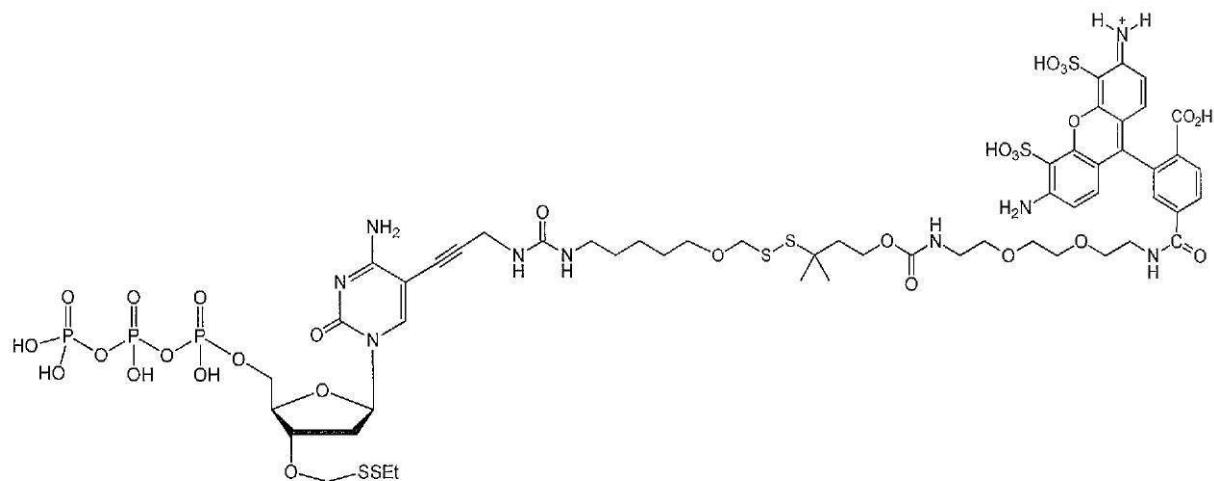


[式中、前記標識は色素である]を有する、項目1に記載の標識されたデオキシヌクレオシドトリホスフェート。

(項目9)

前記化合物が、構造：

【化 8 1】

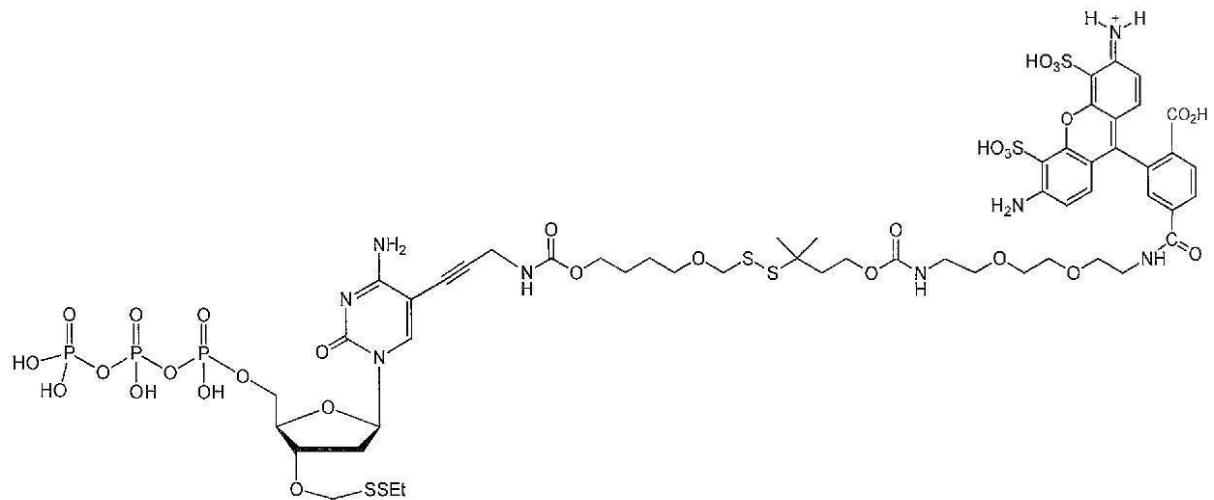


を有する、項目1に記載の標識されたデオキシヌクレオシドトリホスフェート。

(項目10)

前記化合物が、構造：

【化 8 2】

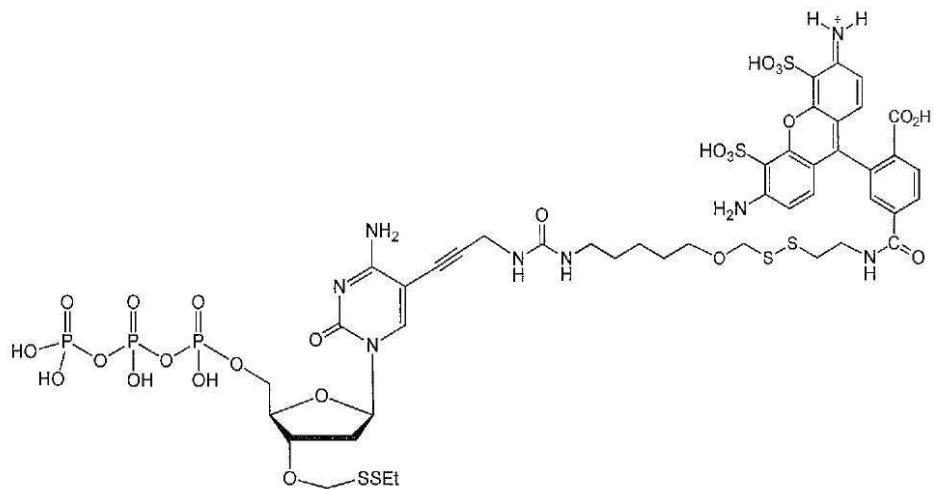


を有する、項目1に記載の標識されたデオキシヌクレオシドトリホスフェート。

### (項目11)

## 前記化合物が、構造：

【化 8 3】

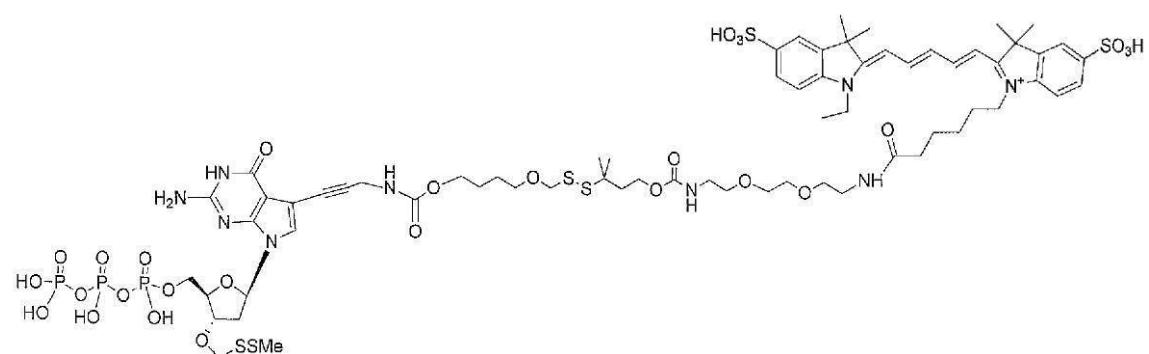


を有する、項目1に記載の標識されたデオキシヌクレオシドトリホスフェート。

( 項目 1 2 )

### 前記化合物が、構造：

【化 8 4】

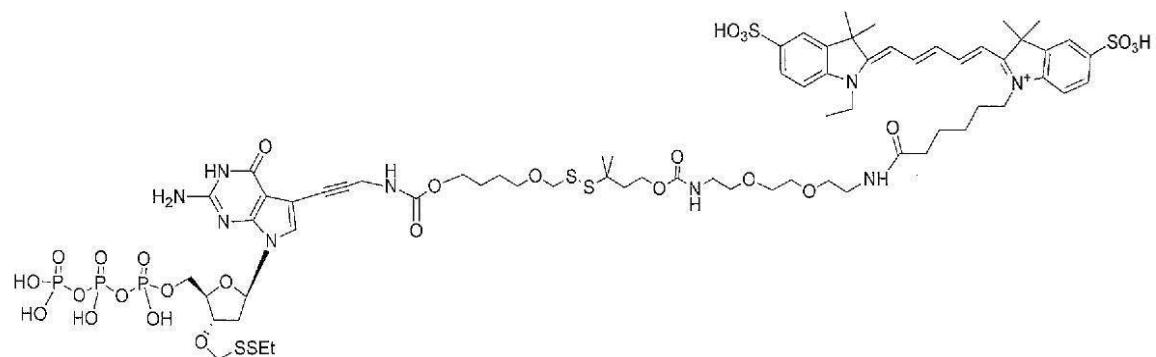


を有する、項目1に記載の標識されたデオキシヌクレオシドトリホスフェート。

（項目13）

### 前記化合物が、構造：

【化 8 5 】

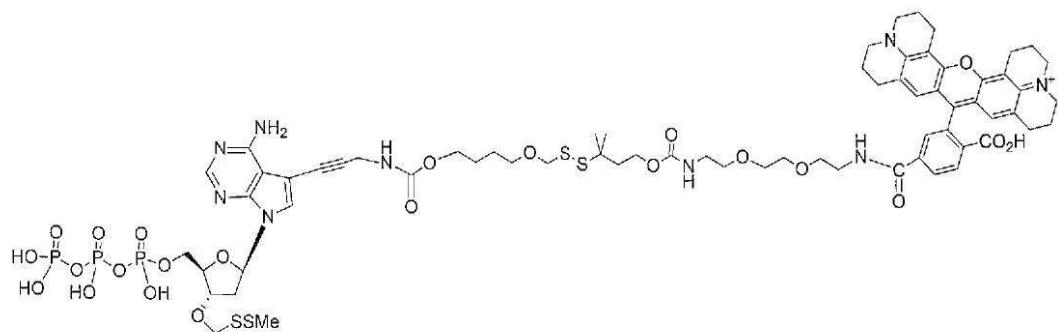


を有する、項目1に記載の標識されたデオキシヌクレオシドトリホスフェート。

( 項目 1 4 )

前記化合物が、構造：

【化 8 6】

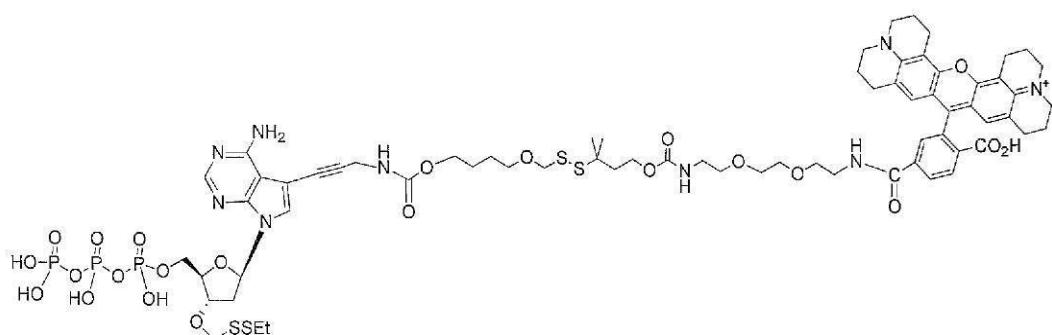


を有する、項目1に記載の標識されたデオキシヌクレオシドトリホスフェート。

( 項目 15 )

### 前記化合物が、構造：

【化 8 7】

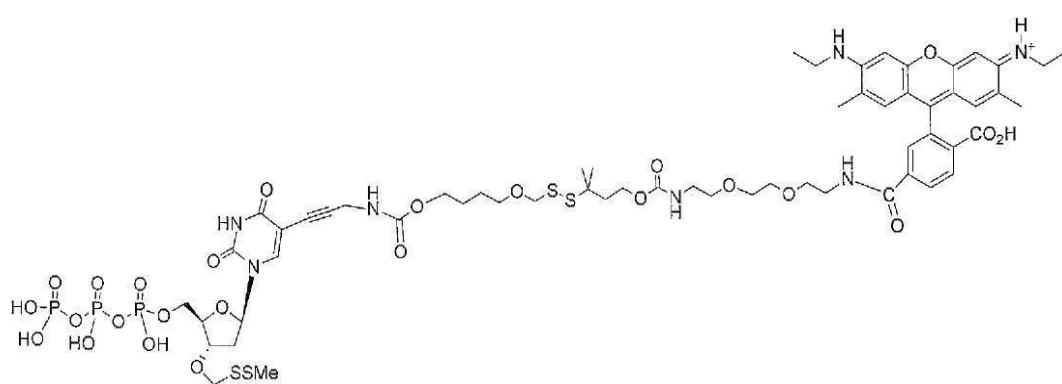


を有する、項目1に記載の標識されたデオキシヌクレオシドトリホスフェート。

( 項 目 1 6 )

### 前記化合物が、構造：

【化 8 8】

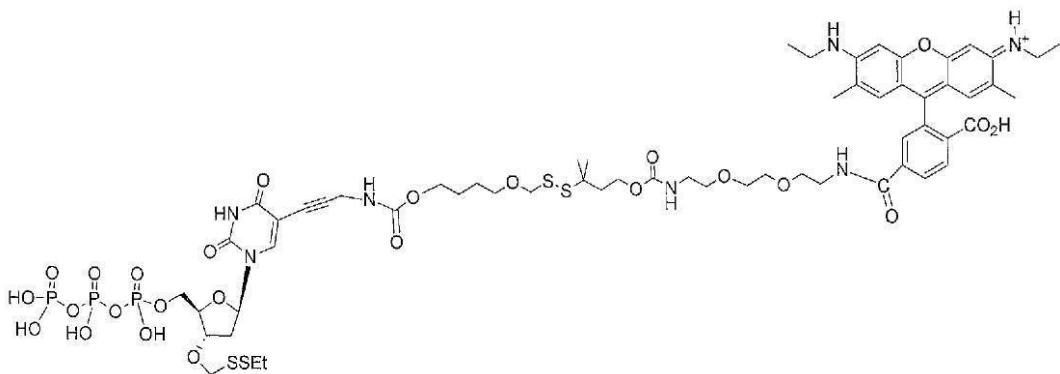


を有する、項目1に記載の標識されたデオキシヌクレオシドトリホスフェート。

## ( 項目 17 )

前記化合物が、構造：

【化 8 9】

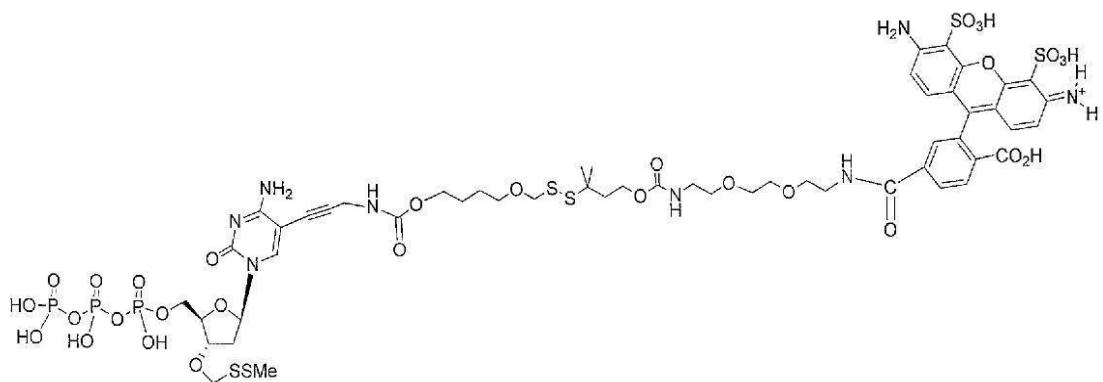


を有する、項目1に記載の標識されたデオキシヌクレオシドトリホスフェート。

(項目18)

前記化合物が、構造：

【化 9 0】

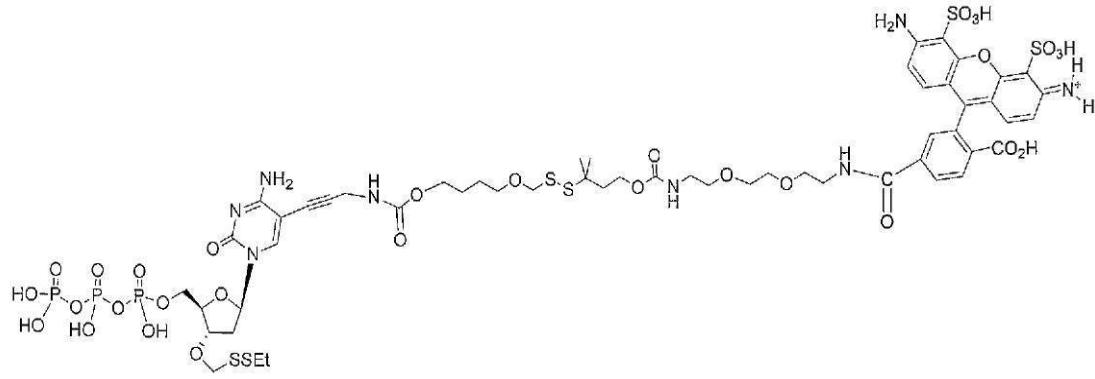


を有する、項目1に記載の標識されたデオキシヌクレオシドトリホスフェート。

( 項目 19 )

前記化合物が、構造：

【化 9 1】

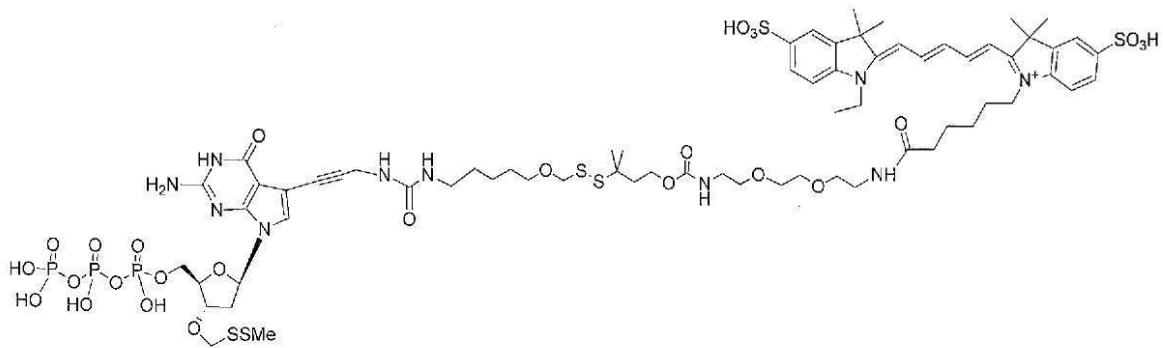


を有する、項目1に記載の標識されたデオキシヌクレオシドトリホスフェート。

( 項目 20 )

### 前記化合物が、構造：

【化92】

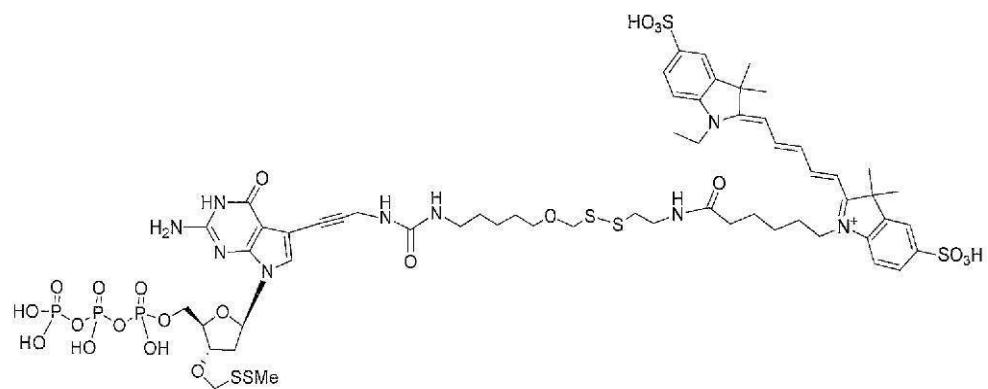


を有する、項目1に記載の標識されたデオキシヌクレオシドトリホスフェート。

(項目21)

前記化合物が、構造：

【化93】

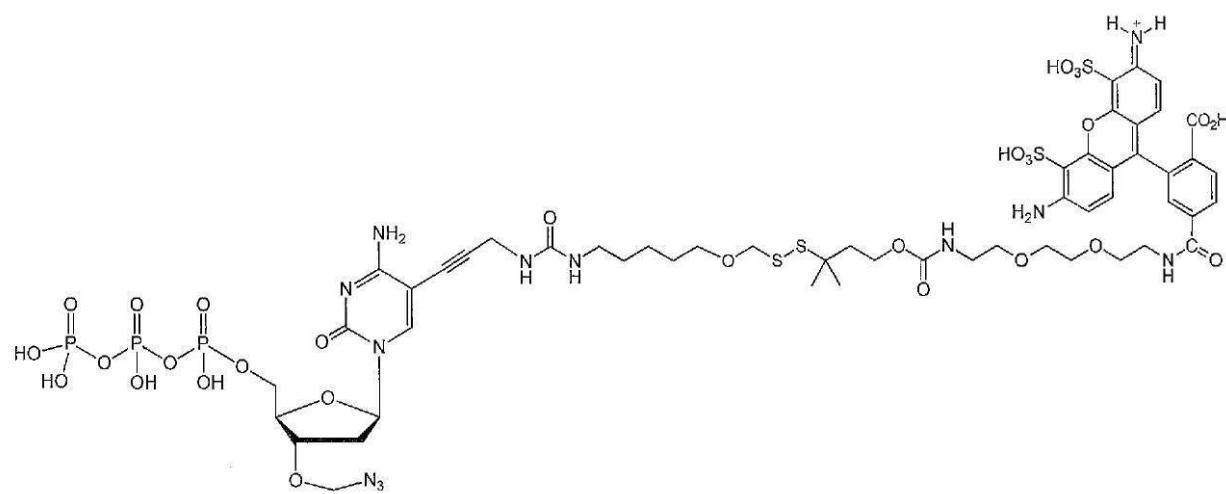


を有する、項目1に記載の標識されたデオキシヌクレオシドトリホスフェート。

(項目22)

前記化合物が、構造：

【化94】

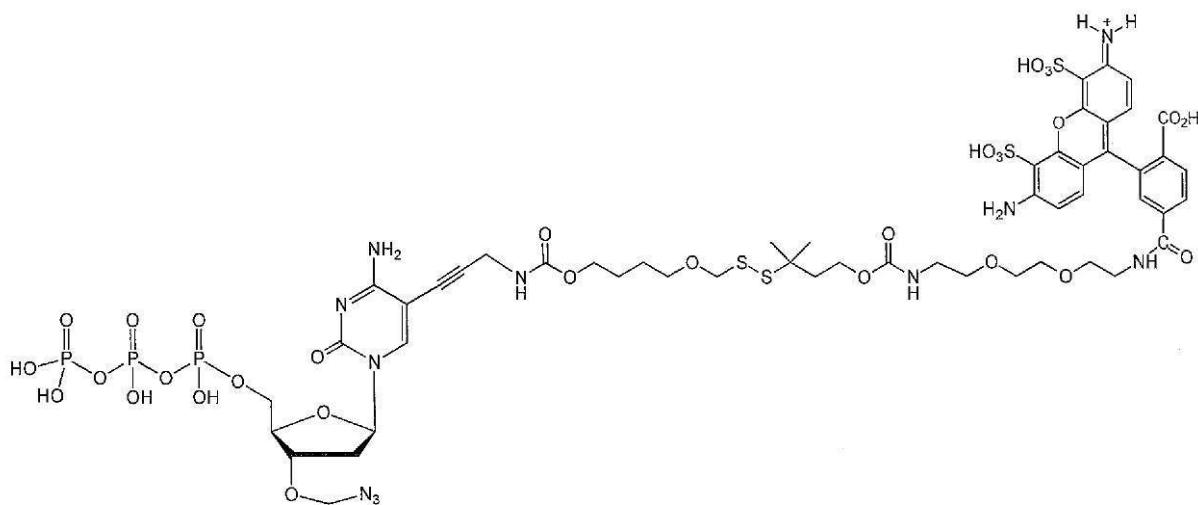


を有する、項目1に記載の標識されたデオキシヌクレオシドトリホスフェート。

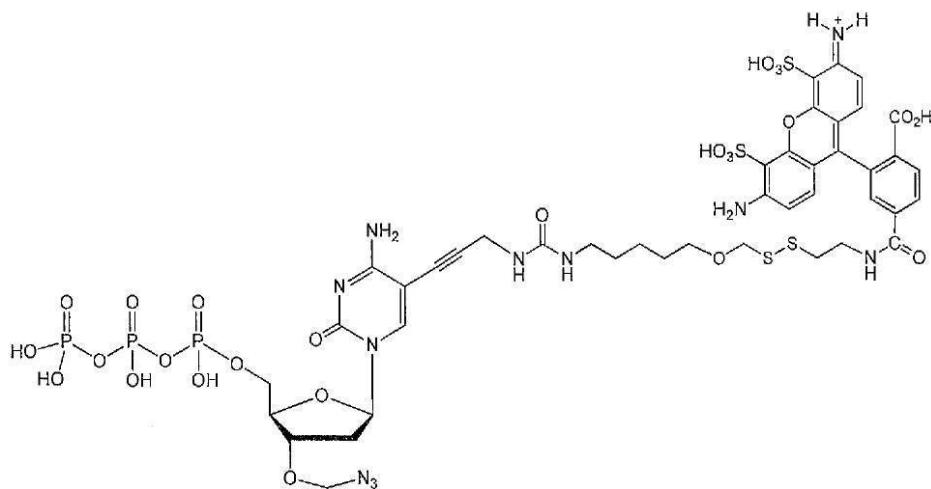
(項目23)

前記化合物が、構造：

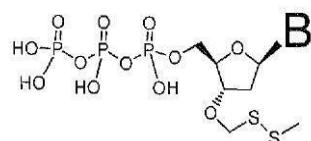
【化95】

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24)前記化合物が、構造：

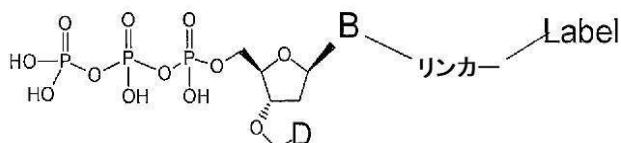
【化96】

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25)下記の構造：

【化97】

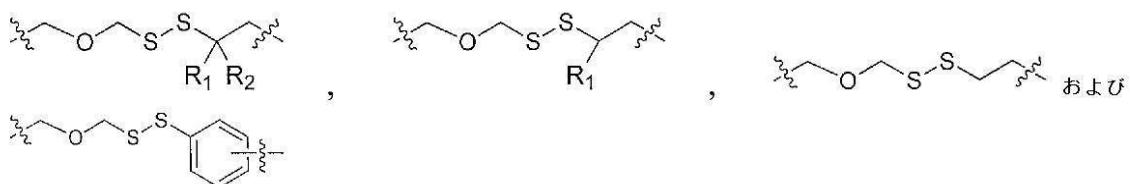
[式中、Bは、核酸塩基である]に従う、デオキシヌクレオシドトリホスフェート。(項目26)下記の構造：

## 【化98】



[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99】



(式中、R<sub>1</sub>およびR<sub>2</sub>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27)

前記リンカーが、0よりも大きいlogP値を有する、項目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。

(項目28)

前記リンカーが、0.1よりも大きいlogP値を有する、項目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。

(項目29)

前記リンカーが、1.0よりも大きいlogP値を有する、項目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。

(項目30)

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31)

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30に記載のデオキシヌクレオシドトリホスフェート。

(項目32)

前記ヌクレオシドの前記核酸塩基が、非天然である、項目30に記載のデオキシヌクレオシドトリホスフェート。

(項目33)

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32に記載のデオキシヌクレオシドトリホスフェート。

(項目34)

前記開裂可能な保護基が、式-C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>-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30に記載のデオキシヌクレオシドトリホスフェート。

(項目35)

前記混合物が、プライマーをさらに含む、項目31に記載のデオキシヌクレオシドトリホスフェート。

(項目36)

前記プライマーが、核酸鑄型にハイブリダイズされている、項目35に記載のデオキシヌクレオシドトリホスフェート。

(項目37)

前記検出可能な標識が、蛍光標識である、項目30に記載のデオキシヌクレオシドトリホスフェート。

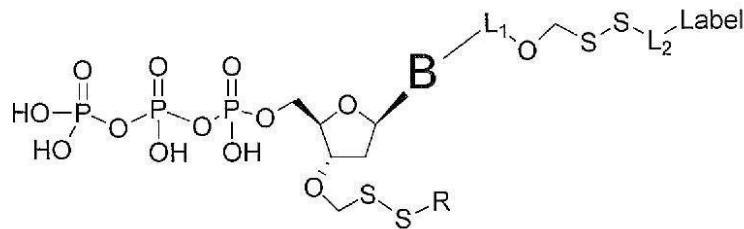
(項目38)

前記核酸鑄型が、固定化されている、項目36に記載のデオキシヌクレオシドトリホスフェート。

(項目39)

下記の構造:

【化100】



[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<sub>1</sub>およびL<sub>2</sub>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40)

L<sub>1</sub>およびL<sub>2</sub>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39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41)

前記標識が、検出可能な標識である、項目39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42)

L<sub>2</sub>が、-S-ではない、項目40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43)

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39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44)

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ク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45)

プライマーがハイブリダイズされている核酸鑄型と、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。

(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鑄型、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、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/鑄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鑄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/鑄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/鑄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/鑄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、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10gP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10gP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10gP値を有する、項目50に記載の方法。

(項目54)

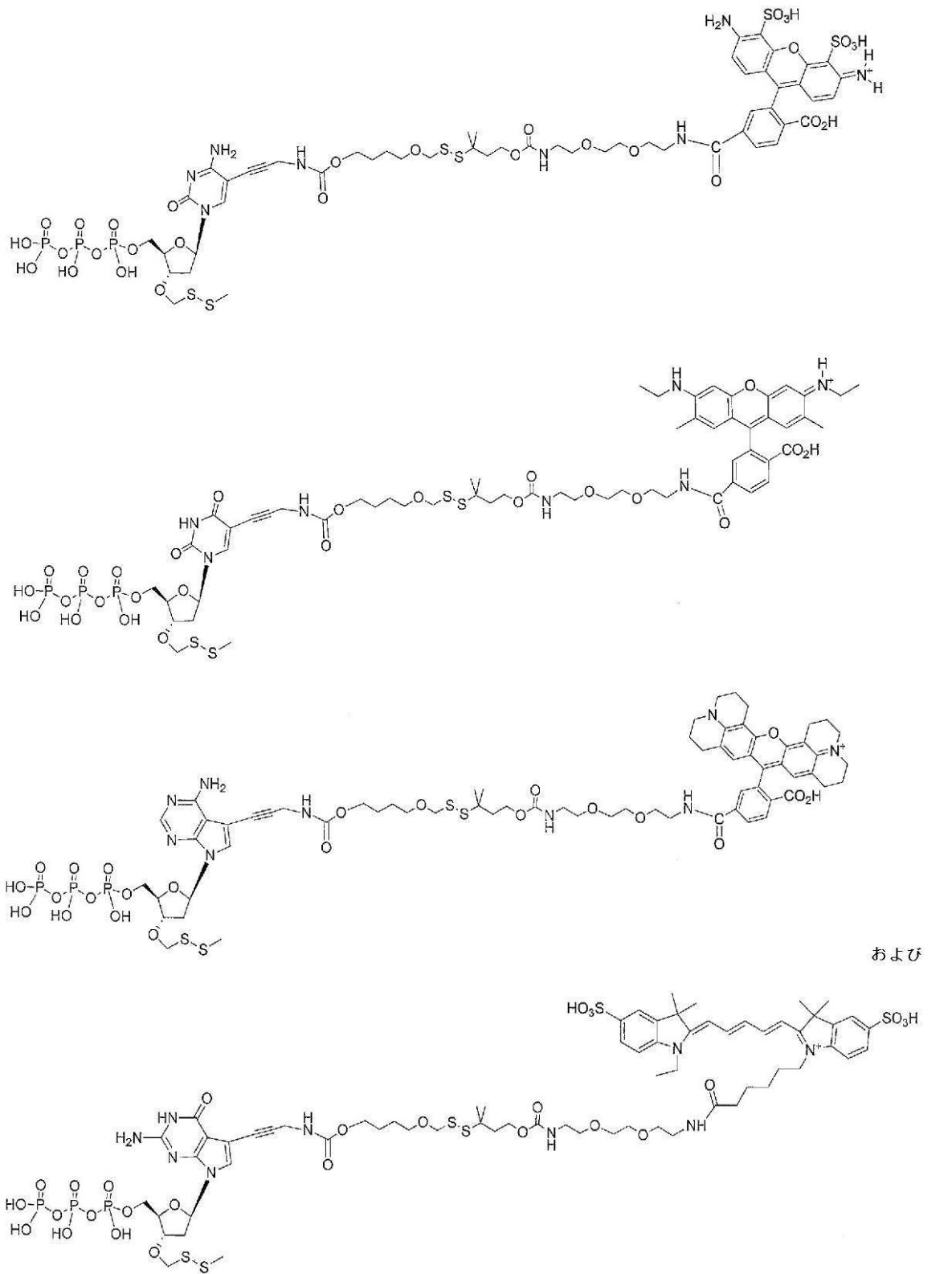
前記第2のデオキシヌクレオシドトリホスフェートの前記核酸塩基が、前記第1のデオキシヌクレオシドトリホスフェートの前記核酸塩基とは異なる、項目50に記載の方法。  
(項目55)

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】

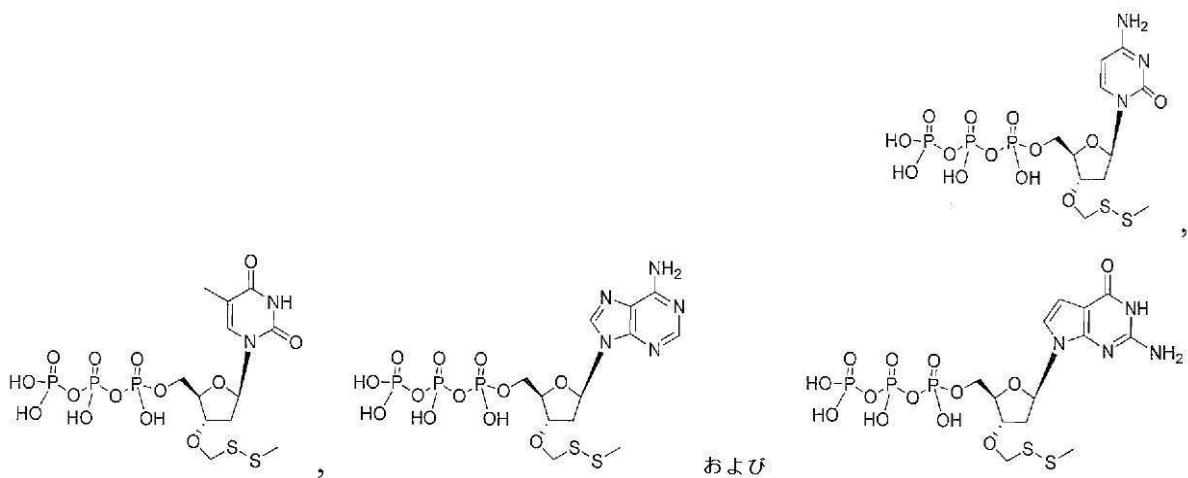


を有する、項目 4 9 に記載の方法。

(項目 5 7)

構造：

## 【化102】



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 / 鑄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、T C E P 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 i i ) 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、D M S O 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 i i ) R - S H [ 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<sub>4</sub>F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<sub>3</sub>およびBu<sub>3</sub>Nをとともに(MeO)<sub>3</sub>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。

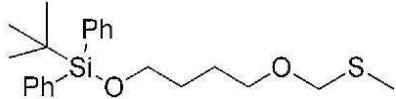
(項目74)

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】

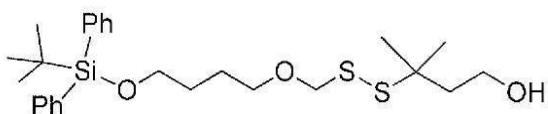


である、化合物。

(項目76)

構造が、

【化104】

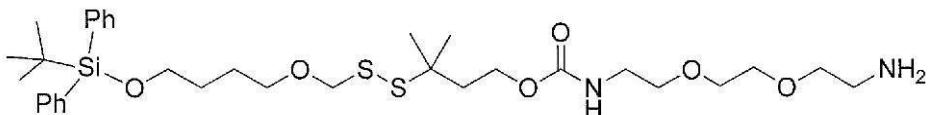


である、化合物。

(項目77)

構造が、

【化105】

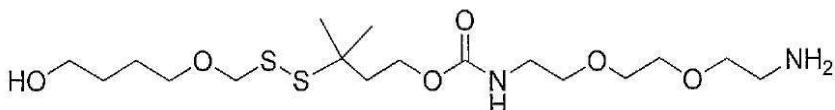


である、化合物。

(項目78)

構造が、

【化106】

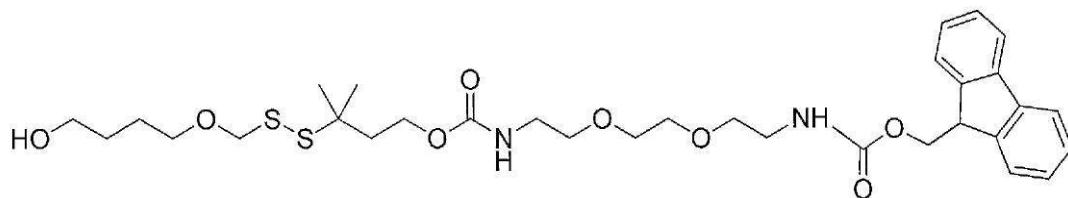


である、化合物。

(項目79)

構造が、

【化107】

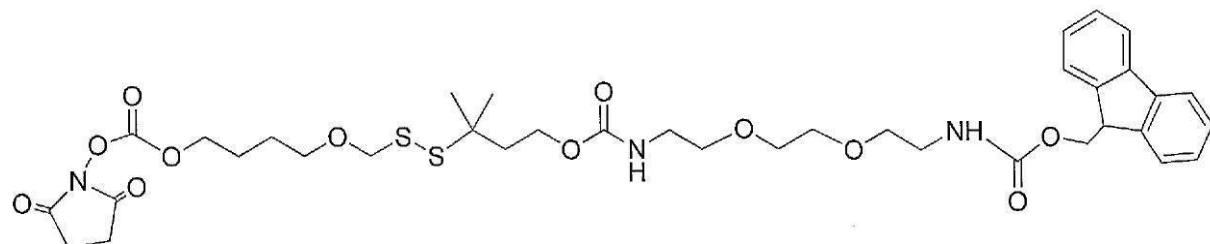


である、化合物。

(項目80)

構造が、

【化108】



である、化合物。