

【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6部門第1区分

【発行日】平成21年9月3日(2009.9.3)

【公表番号】特表2009-512837(P2009-512837A)

【公表日】平成21年3月26日(2009.3.26)

【年通号数】公開・登録公報2009-012

【出願番号】特願2008-533937(P2008-533937)

【国際特許分類】

G 0 1 N 21/78 (2006.01)

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

C 1 2 Q 1/68 (2006.01)

C 1 2 M 1/00 (2006.01)

C 0 9 K 11/06 (2006.01)

C 0 7 F 9/655 (2006.01)

G 0 1 N 21/64 (2006.01)

【F I】

G 0 1 N 21/78 C

C 1 2 N 15/00 A

C 1 2 Q 1/68 A

C 1 2 M 1/00 A

C 0 9 K 11/06

C 0 7 F 9/655

G 0 1 N 21/64 F

【手続補正書】

【提出日】平成21年7月17日(2009.7.17)

【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】

少なくとも1つのオリゴヌクレオチド又は少なくとも1つのポリヌクレオチドを含んで成り、且つ4',5'-ジメトキシ-6-カルボキシフルオレセイン、4',5'-ジメトキシ-5-カルボキシフルオレセイン、6-カルボキシ-アミノペンタクロロフルオレセイン、又は5-カルボキシ-アミノペンタクロロフルオレセインのうち1又は複数を含んで成る、少なくとも1つの実質的に蛍光を出さないドナー部分を含んでいて、少なくとも1つのアクセプタ部分がその実質的に蛍光を出さないドナー部分に十分に近いときに非蛍光性エネルギーをそのアクセプタ部分に移動させることができるため、そのアクセプタ部分が、受け取った非蛍光性エネルギーに応答して光を発生させる構成の生体分子において、その実質的に蛍光を出さないドナー部分とそのアクセプタ部分の可視光吸光度のピーク位置が、互いに100nm以上異なっている生体分子。

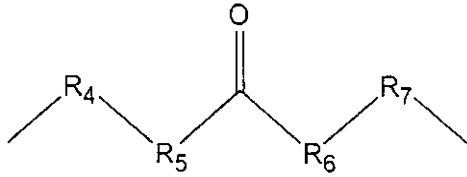
【請求項2】

6-カルボキシフルオレセイン部分と実質的に蛍光を出さない上記ドナー部分の濃度が実質的に同じであるとき、その6-カルボキシフルオレセイン部分からの検出可能な蛍光の絶対値とその実質的に蛍光を出さないドナー部分からの検出可能な蛍光の絶対値の比が、約1000:1以上である、請求項1に記載の生体分子。

【請求項3】

アクセプタ部分を含んでいて、少なくとも1つのリンカー部分を介して実質的に蛍光を出さないドナー部分及び/又はアクセプタ部分と結合していて、上記リンカー部分に構造：

【化1】



が欠けている（ただし、

R₄は、実質的に蛍光を出さない上記ドナー部分に結合したC₁ - 5アルキルであり；

R₅は、NH、S、Oからなるグループの中から選択され；

R₆は、アルケンと、ジエンと、アルキンと、少なくとも1つの不飽和結合を有するか、カルボニルの炭素に結合した縮合環構造を有する5～6員の環とからなるグループの中から選択され；

R₇は、上記リンカー部分を上記アクセプタ部分に結合させる官能基を含む）、請求項1に記載の生体分子。

【請求項4】

少なくとも1つのヌクレオチド、および/または少なくとも1つのプライマー核酸、および/または少なくとも1つの第1のプローブ核酸を含む反応混合物であって、上記ヌクレオチド、上記プライマー核酸、上記第1のプローブ核酸のうちの1つ又は複数が、4',5'-ジメトキシ-6-カルボキシフルオレセイン、4',5'-ジメトキシ-5-カルボキシフルオレセイン、6-カルボキシ-アミノペンタクロロフルオレセイン、又は5-カルボキシ-アミノペンタクロロフルオレセインのうちの1つ又は複数を含んで成る少なくとも1つの実質的に蛍光を出さないドナー部分を備えていて、少なくとも1つのアクセプタ部分がその実質的に蛍光を出さないドナー部分に十分に近いときに非蛍光性エネルギーをそのアクセプタ部分に移動させることができるため、そのアクセプタ部分が、受け取った非蛍光性エネルギーに応答して光を発生させる構成の反応混合物。

【請求項5】

標的核酸を含んで成る標的生体分子を検出する方法であって、

(a) 4',5'-ジメトキシ-6-カルボキシフルオレセイン、4',5'-ジメトキシ-5-カルボキシフルオレセイン、6-カルボキシ-アミノペンタクロロフルオレセイン、又は5-カルボキシ-アミノペンタクロロフルオレセインのうちの1つ又は複数から成る少なくとも1つの実質的に蛍光を出さないドナー部分と、少なくとも1つのアクセプタ部分とを含む少なくとも1つのプローブ生体分子を標的生体分子に結合させることで、そのアクセプタ部分が、その実質的に蛍光を出さないドナー部分から移動した非蛍光性エネルギーを受け取り、その受け取った非蛍光性エネルギーに応答して光を発生させ；

(b) 上記アクセプタ部分から出る光を検出することによって標的核酸を含んで成る上記標的生体分子を検出する操作を含む方法。

【請求項6】

標的核酸を含んで成る標的生体分子を検出する方法であって、

(a) 4',5'-ジメトキシ-6-カルボキシフルオレセイン、4',5'-ジメトキシ-5-カルボキシフルオレセイン、6-カルボキシ-アミノペンタクロロフルオレセイン、又は5-カルボキシ-アミノペンタクロロフルオレセインのうちの1つ又は複数を含んで成る少なくとも1つの実質的に蛍光を出さないドナー部分を含む第1のプローブ生体分子と、少なくとも1つのアクセプタ部分を含む第2のプローブ生体分子とを少なくとも用意し；

(b) その第1のプローブ生体分子と第2のプローブ生体分子を標的生体分子に結合させることで、そのアクセプタ部分が、その実質的に蛍光を出さないドナー部分から移動した非蛍光性エネルギーを受け取り、その受け取った非蛍光性エネルギーに応答して光を発生させ；そして、

(c) 上記アクセプタ部分から出る光を検出することによって標的核酸を含んで成る上記標的生体分子を検出する操作を含む方法。

【請求項 7】

プライマー核酸を伸長させる方法であって、
標的核酸を、

(a) 少なくとも1つの伸長可能なヌクレオチドおよび／または少なくとも1つのターミネータ・ヌクレオチド、

(b) 少なくとも1つのヌクレオチド組み込み生体触媒、及び

(c) 上記標的核酸の少なくとも1つの部分配列と少なくとも一部が相補的な少なくとも1つのプライマー核酸

とともに、上記ヌクレオチド組み込み生体触媒がプライマー核酸を伸長させる条件下でインキュベートすることにより、上記伸長可能なヌクレオチドおよび／または上記ターミネータ・ヌクレオチドを伸長しているプライマー核酸の端部に組み込んで伸長した少なくとも1つのプライマー核酸を生成させ、ただし、上記プライマー核酸、および／または上記伸長可能なヌクレオチド、および／または上記ターミネータ・ヌクレオチドは、4',5'-ジメトキシ-6-カルボキシフルオレセイン、4',5'-ジメトキシ-5-カルボキシフルオレセイン、6-カルボキシ-アミノペンタクロロフルオレセイン、又は5-カルボキシ-アミノペンタクロロフルオレセインのうちの1つ又は複数を含んで成る少なくとも1つの実質的に蛍光を出さないドナー部分を含んでいて、少なくとも1つのアクセプタ部分がその実質的に蛍光を出さないドナー部分に十分に近いときに非蛍光性エネルギーをそのアクセプタ部分に移動させることができるため、そのアクセプタ部分が、受け取った非蛍光性エネルギーに応答して光を発生させ、

そのことによって上記プライマー核酸を伸長させる操作を含む方法。

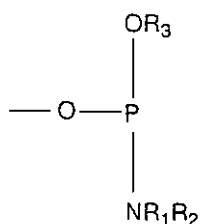
【請求項 8】

ホスホロアミダイトを製造する方法であって、

(a) 少なくとも1つの実質的に蛍光を出さないドナー部分を、少なくとも1つの保護基を含む化合物に結合させ、ただし、その実質的に蛍光を出さないドナー部分は、4',5'-ジメトキシ-6-カルボキシフルオレセイン、4',5'-ジメトキシ-5-カルボキシフルオレセイン、6-カルボキシ-アミノペンタクロロフルオレセイン、又は5-カルボキシ-アミノペンタクロロフルオレセインのうちの1つ又は複数を含んで成り、少なくとも1つのアクセプタ部分がその実質的に蛍光を出さないドナー部分に十分に近いときに非蛍光性エネルギーをそのアクセプタ部分に移動させることができるため、そのアクセプタ部分が、受け取った非蛍光性エネルギーに応答して光を発生させ；そして、

(b) 一般式：

【化 2】



(ただし、

R_1 と R_2 は、メチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、ペンチル、ヘキシル、ヘプチル、オクチル、ノニルからなるグループの中から独立に選択されたアルキル基であり；

R_3 は、 $(CH_2)_2CN$ または CH_3 である)を含む基を結合させることによってホスホロアミダイトを生成させる操作を含む方法。

【請求項 9】

少なくとも1つのオリゴヌクレオチド又は少なくとも1つのポリヌクレオチドを含んで成り、且つ4',5'-ジメトキシ-6-カルボキシフルオレセイン、4',5'-ジメトキシ-5-カルボキシフルオレセイン、6-カルボキシ-アミノペンタクロロフルオレセイン、又は5-カルボキシ-アミノペンタクロロフルオレセインのうちの1つ又は複数を含んで成る少なくとも1つの実質的に蛍光を出さないドナー部分を含む少なくとも1つの第1の生体分子を含んでいて、少なくとも1つのアクセプタ部分はその実質的に蛍光を出さないドナー部分に十分に近いときに非蛍光性エネルギーをそのアクセプタ部分に移動させることができるため、そのアクセプタ部分が、受け取った非蛍光性エネルギーに応答して光を発生させる構成のキット。

【請求項 10】

(a) 少なくとも1つのオリゴヌクレオチド又は少なくとも1つのポリヌクレオチドを含んで成り、且つ1つ又は複数の4',5'-ジメトキシ-6-カルボキシフルオレセイン、4',5'-ジメトキシ-5-カルボキシフルオレセイン、6-カルボキシ-アミノペンタクロロフルオレセイン、又は5-カルボキシ-アミノペンタクロロフルオレセインを含んで成る少なくとも1つの実質的に蛍光を出さないドナー部分を含んでいて、少なくとも1つのアクセプタ部分はその実質的に蛍光を出さないドナー部分に十分に近いときに非蛍光性エネルギーをそのアクセプタ部分に移動させることができるため、そのアクセプタ部分が、受け取った非蛍光性エネルギーに応答して光を発生させる構成の少なくとも1つの生体分子を収容する少なくとも1つの容器および/または固体支持体と；

(b) 電磁波を上記ドナー部分に向ける構成の少なくとも1つの照射源と；

(c) 上記アクセプタ部分はその実質的に蛍光を出さないドナー部分に十分に近いときにそのアクセプタ部分から出る光を検出する構成の少なくとも1つの検出素子とを備えるシステム。