

【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26年9月4日 (2014.9.4)

【公表番号】特表2013-539015(P2013-539015A)

【公表日】平成25年10月17日 (2013.10.17)

【年通号数】公開・登録公報2013-057

【出願番号】特願2013-520854(P2013-520854)

【国際特許分類】

G 0 1 N 33/58 (2006.01)

G 0 1 N 33/53 (2006.01)

G 0 1 N 33/566 (2006.01)

G 0 1 N 33/569 (2006.01)

G 0 1 N 33/533 (2006.01)

C 1 2 Q 1/02 (2006.01)

C 1 2 Q 1/68 (2006.01)

C 0 7 K 16/00 (2006.01)

C 0 7 F 5/02 (2006.01)

C 0 9 K 11/06 (2006.01)

C 0 7 D 487/22 (2006.01)

C 0 7 D 498/08 (2006.01)

C 0 7 D 405/12 (2006.01)

C 0 7 D 403/12 (2006.01)

C 0 7 D 487/04 (2006.01)

C 0 7 F 5/00 (2006.01)

C 0 7 F 15/00 (2006.01)

【 F I 】

G 0 1 N 33/58 Z

G 0 1 N 33/53 U

G 0 1 N 33/566

G 0 1 N 33/569

G 0 1 N 33/533

C 1 2 Q 1/02

C 1 2 Q 1/68 Z

C 0 7 K 16/00

C 0 7 F 5/02 C S P D

C 0 9 K 11/06

C 0 7 D 487/22

C 0 7 D 498/08

C 0 7 D 405/12

C 0 7 D 403/12

C 0 7 D 487/04 1 5 7

C 0 7 F 5/00 D

C 0 7 F 15/00 A

【手続補正書】

【提出日】平成26年7月17日 (2014.7.17)

【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

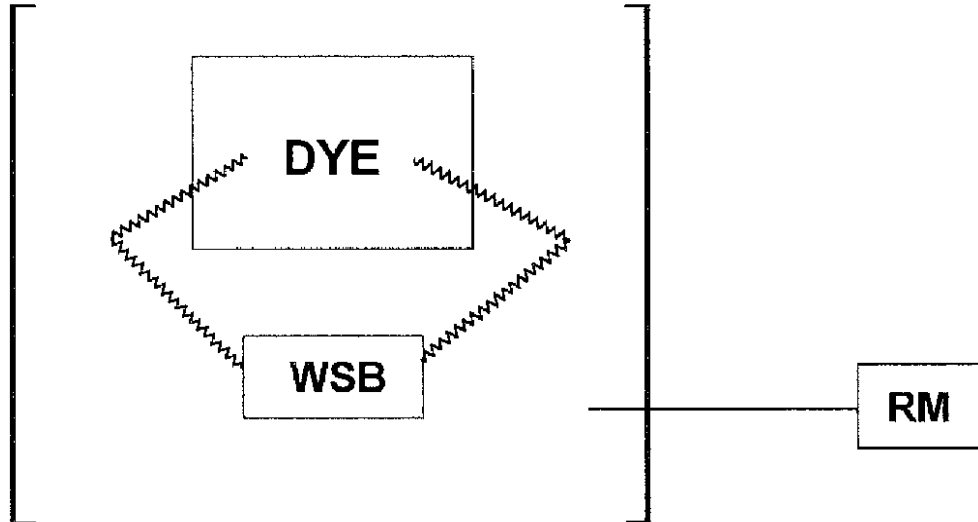
【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

式：

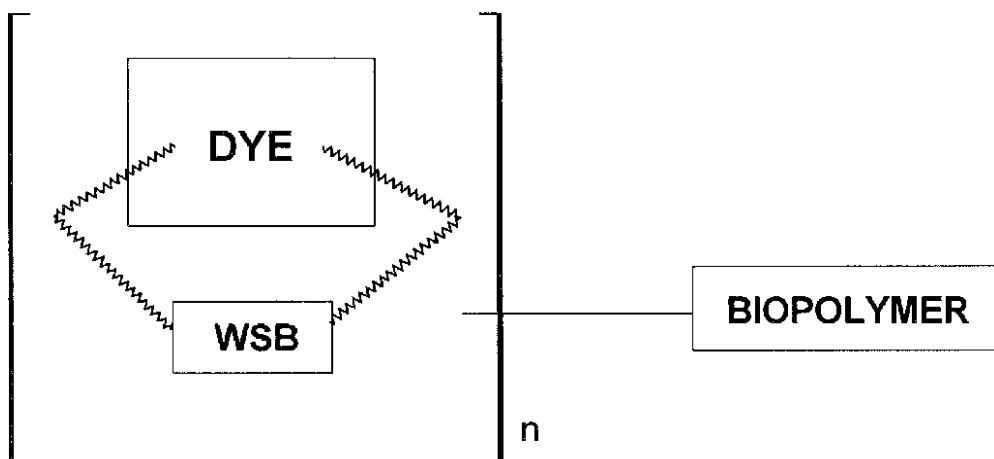
【化 1】



を有する化学的に反応性の高い発光性色素であって、式中、D Y E は、発光性色素を表し、R M は、化学的に反応性の高い部分であり、かつ、W S B は、発光性色素の同じ環の 2 つの巨大な置換基を架橋するため、または発光性色素の 2 つの異なる環を架橋するためのいずれかに使用される水溶性の橋であり、但し、W S B は少なくとも 1 つのスルホネートまたはホスホネート基を含有することを特徴とする発光性色素、または

式：

【化 2】



を有する複合体であって、式中、D Y E は、発光性色素を表し；W S B は、発光性色素の同じ環の 2 つの巨大な置換基を架橋するため、または発光性色素の 2 つの異なる環を架橋するために使用される水溶性の橋であり、かつ、少なくとも 1 つのスルホネートまたはホスホネート基を含有し；B I O P O L Y M E R は、1 0 0 0 ダルトンより大きい分子量を有する生物学的物質であり；n は、1 ~ 3 0 の整数であり、但し、D Y E は、直接的に、またはリンカー「L」を介して間接的にB I O P O L Y M E R と共有結合しており；かつ、L は、0 ~ 3 0 原子の長さのリンカーであることを特徴とする複合体、である化合物。

【請求項 2】

請求項 1 に記載の化合物であって、D Y E は、シアニン、フルオレセイン、ローダミン、オキサジン、オキサゾール、ボディピー、フタロシアニンまたは金属錯体誘導体であることを特徴とする化合物。

【請求項 3】

前記請求項 1 または 2 に記載の化合物であって、前記化合物は前記化学的に反応性の高い発光性色素であり、R M は、アクリルアミド、アミン、カルボン酸、カルボン酸の活性化エステル、アシルアジド、アシルニトリル、アルデヒド、ハロゲン化アルキル、無水物、ハロゲン化アリール、アジド、アジリジン、ボロネート、ジアゾアルカン、ハロアセトアミド、ハロトリアジン、ヒドラジン、ヒドロキシルアミン、イミドエステル、イソシアネート、イソチオシアネート、マレイミド、反応性白金錯体、ハロゲン化スルホニルまたはソラレーン誘導体であることを特徴とする化合物。

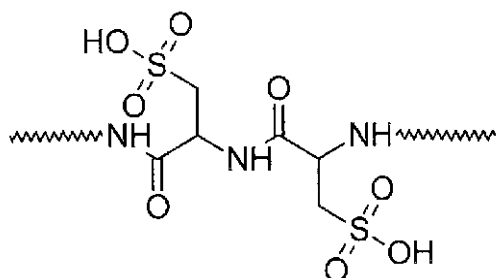
【請求項 4】

前記請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載の化合物であって、W S B は、スルホネートおよびホスホネート基から選択される少なくとも 2 つの基を含有することを特徴とする化合物。

【請求項 5】

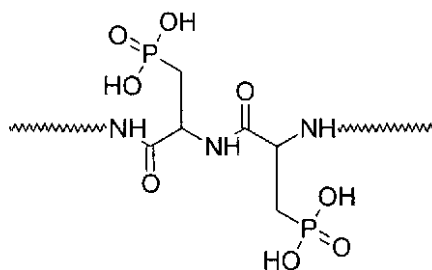
前記請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載の化合物であって、W S B は、下記の構造またはそれらの類似体：

【化 3 - 1】

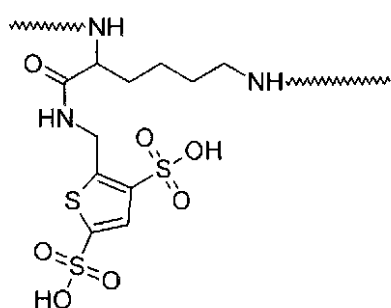


または

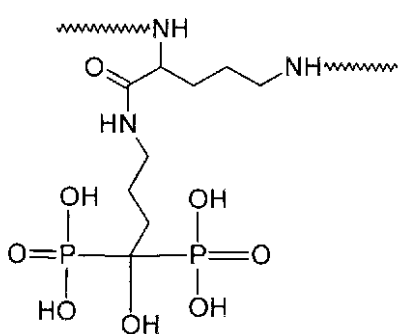
【化 3 - 2】



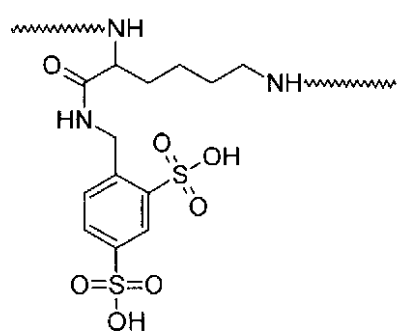
または



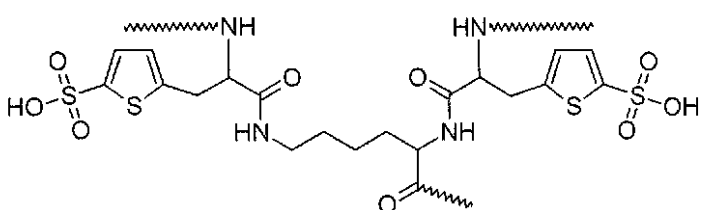
または



または

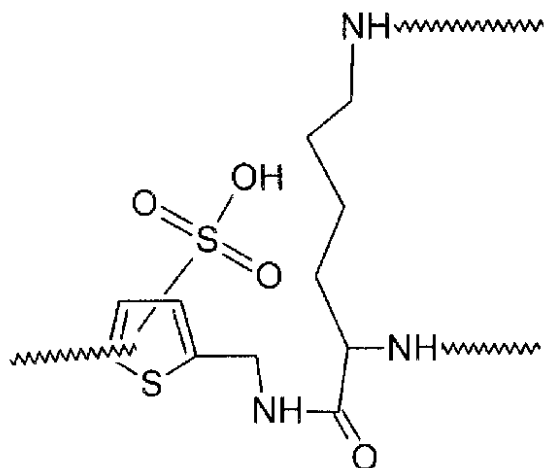


または



または

【化 3 - 3】



の 1 つを含有することを特徴とする化合物。

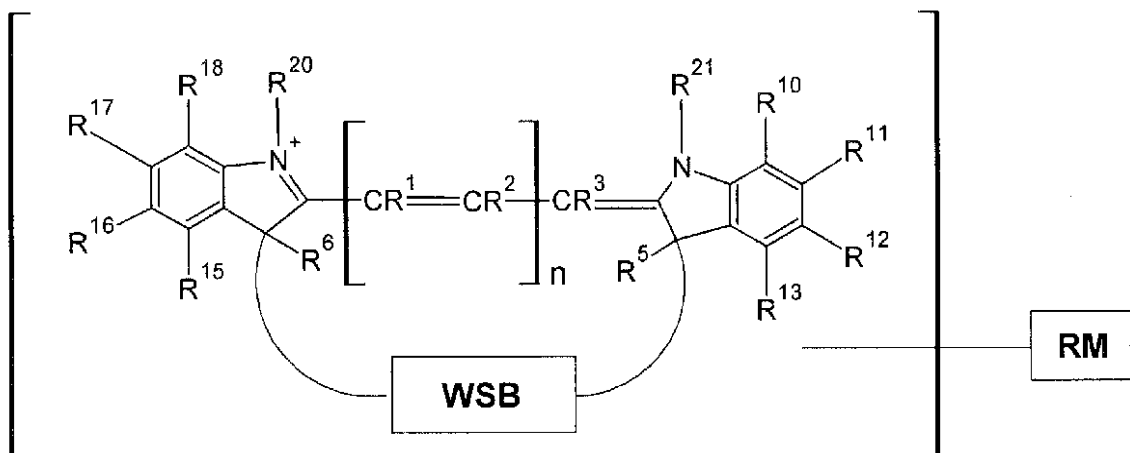
【請求項 6】

請求項 1 に記載の化合物であって、

前記化合物は前記化学的に反応性の高い発光性色素であって、

第 1 の式：

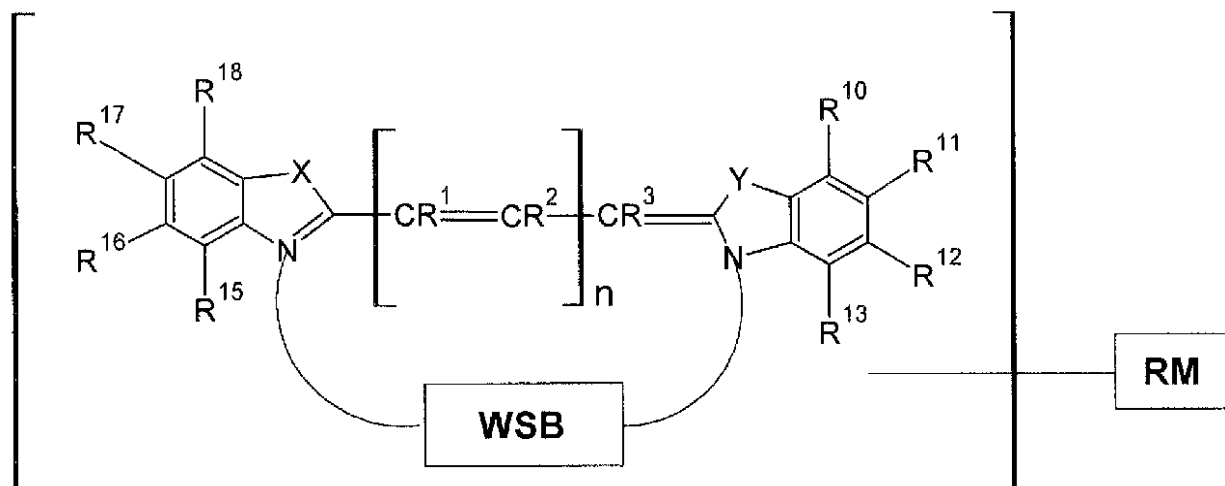
【化 4】



(式中、 R^1 から R^3 は、独立に、水素、ハロゲン、1 ~ 20 個の炭素有するアルキル、アリール、ヘテロアリールまたは RM であり； R^5 および R^6 は、独立に、1 ~ 20 個の炭素有するアルキル、アリール、ヘテロアリールまたは RM であり； R^{10} から R^{19} は、独立に、水素、1 ~ 20 個の炭素有するアルキル、1 ~ 20 個の炭素有するアルコキシ、トリフルオロメチル、ハロゲン、メチルチオ、スルホニル、ボロニル、ホスホニル、シアノ、カルボニル、ヒドロキシ、アミノ、チオール、アリール、ヘテロアリールまたは RM であり； R^{20} および R^{21} は、独立に、アルキル、アリールアルキル、アルコキシアルキル、ポリエチレングリコールまたは RM であり； R^{10} および R^{21} 、 R^{10} および R^{11} 、 R^{11} および R^{12} 、 R^{12} および R^{13} 、 R^5 および R^{13} 、 R^6 および R^{15} 、 R^{15} および R^{16} 、 R^{16} および R^{17} 、 R^{17} および R^{18} 、または R^{18} および R^{20} の 1 つまたは複数は、任意選択的に組み合わせさせて、シクロアルキル、ヘテロ環、アリールまたはヘテロアリール環を形成し；RM は、化学的に反応性の高い部分であり；かつ、 n は 0 から 3 である)；

第 2 の式：

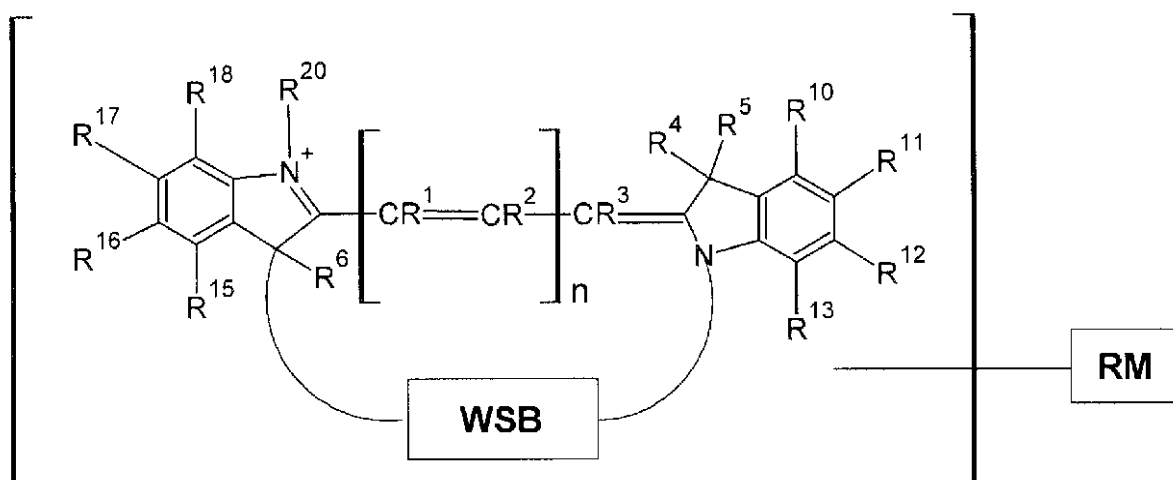
【化 5】



(式中、XおよびYは、独立に、O、S、Seまたは $CR^{20}R^{21}$ であり；nは0から3であり； R^1 から R^3 は、独立に、水素、ハロゲン、1～20個の炭素有するアルキル、アリール、ヘテロアリールまたはRMであり； R^{10} から R^{19} は、独立に、水素、1～20個の炭素有するアルキル、1～20個の炭素有するアルコキシ、トリフルオロメチル、ハロゲン、メチルチオ、スルホニル、ボロニル、ホスホニル、シアノ、カルボニル、ヒドロキシ、アミノ、チオール、アリール、ヘテロアリールまたはRMであり； R^{20} および R^{21} は、独立に、アルキル、アリールアルキル、アルコキシアルキル、ポリエチレングリコールまたはRMであり；Yおよび R^{10} 、 R^{10} および R^{11} 、 R^{11} および R^{12} 、 R^{12} および R^{13} 、Xおよび R^{18} 、 R^{15} および R^{16} 、 R^{16} および R^{17} 、または R^{17} および R^{18} の1つまたは複数は、任意選択的に組み合わせ、シクロアルキル、ヘテロ環、アリールまたはヘテロアリール環を形成し； R^{20} および R^{21} は、独立に、アルキル、シクロアルキル、ヘテロ環、アリールアルキル、アルコキシアルキル、ポリエチレングリコールまたはRMであり； R^{20} および R^{21} は、任意選択的に組み合わせ、シクロアルキルまたはヘテロ環を形成し；かつ、RMは、化学的に反応性の高い部分である）；

第3の式：

【化 6】

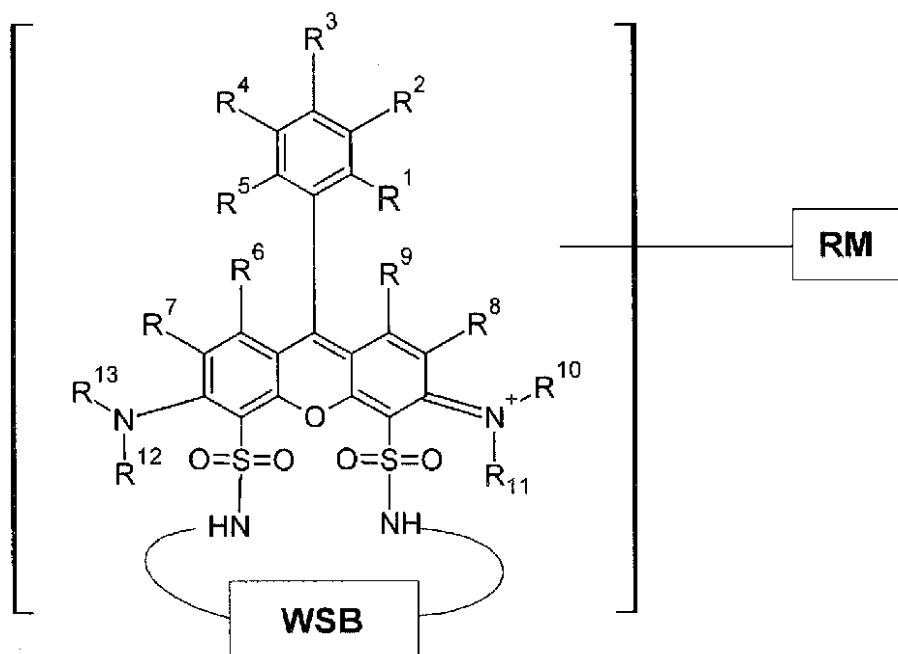


(式中、 R^1 から R^3 は、独立に、水素、ハロゲン、1～20個の炭素有するアルキル、アリール、ヘテロアリールまたはRMであり； R^4 から R^6 は、独立に、1～20個の炭素有するアルキル、アリール、ヘテロアリールまたはRMであり； R^{10} から R^{19} は、独立に、水素、1～20個の炭素有するアルキル、1～20個の炭素有するアルコキシ、トリフルオロメチル、ハロゲン、メチルチオ、スルホニル、ボロニル、ホスホニル、シア

ノ、カルボニル、ヒドロキシ、アミノ、チオール、アリール、ヘテロアリールまたはRMであり； R^{20} は、アルキル、アリールアルキル、アルコシアルキル、ポリエチレングリコールまたはRMであり； R^4 および R^{10} 、 R^5 および R^{10} 、 R^{10} および R^{11} 、 R^{11} および R^{12} 、 R^{12} および R^{13} 、 R^6 および R^{15} 、 R^{15} および R^{16} 、 R^{16} および R^{17} 、 R^{17} および R^{18} 、または R^{18} および R^{20} の1つまたは複数は、任意選択的に組み合わせ、シクロアルキル、ヘテロ環、アリールまたはヘテロアリール環を形成し；RMは、化学的に反応性の高い部分であり；nは0から3である）；

第4の式：

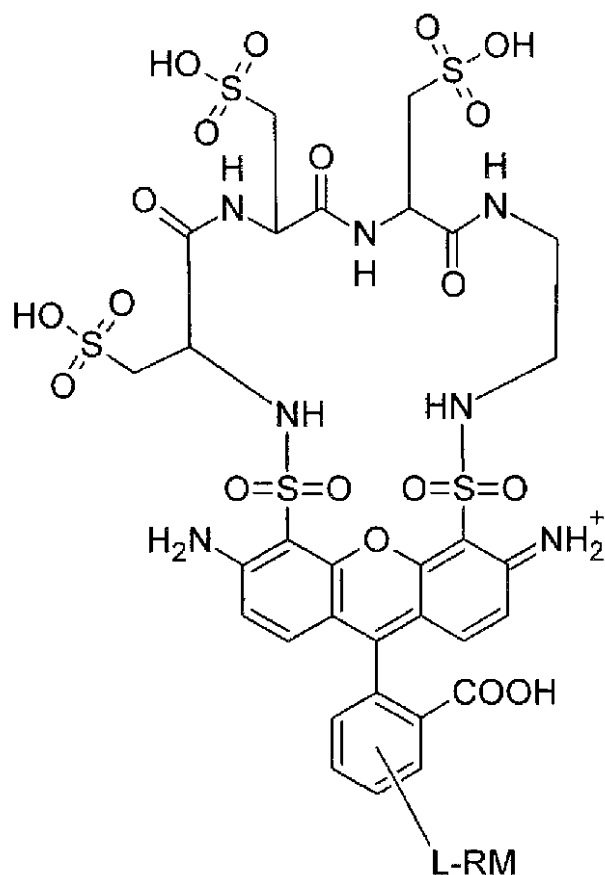
【化7】



（式中、 R^1 は、水素、アルキル、アルコキシ、カルボキシまたはスルホであり； R^2 から R^9 は、独立に、水素、1～20個の炭素を有するアルキル、1～20個の炭素を有するアルコキシ、トリフルオロメチル、ハロゲン、メチルチオ、スルホニル、ボロニル、ホスホニル、シアノ、カルボニル、ヒドロキシ、アミノ、チオール、アリール、ヘテロアリールまたはRMであり； R^{10} 、 R^{11} 、 R^{12} および R^{13} は、独立に、アルキル、ハロゲン化アルキル、アリールアルキル、アルコシアルキル、ポリエチレングリコールまたはRMであり； R^8 および R^{10} 、または R^7 および R^{13} の1つまたは複数は、組み合わせ、5から8員環を形成し； R^6 および R^7 、または R^8 および R^9 の1つまたは複数は、組み合わせ、アリールまたはヘテロアリール環を形成し；かつ、RMは、化学的に反応性の高い部分である）；

第5の式：

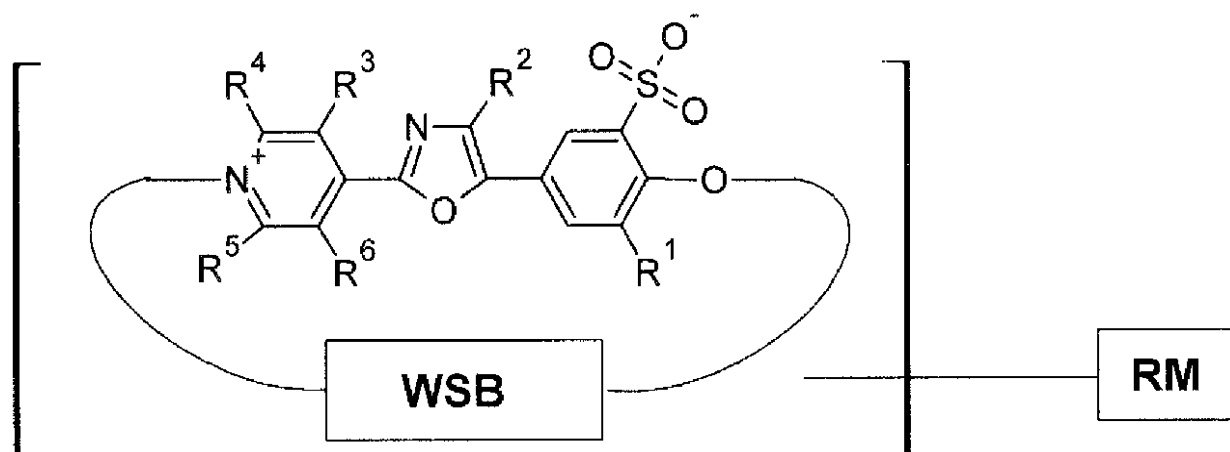
【化 8】



(式中、Lは、0～30原子の長さのリンカーであり；かつ、RMは、アミン、カルボン酸、カルボン酸の活性化エステル、ハロアセトアミド、ヒドラジン、ヒドロキシルアミン、イソチオシアネート、マレイミドまたはハロゲン化スルホニルである)；

第6の式：

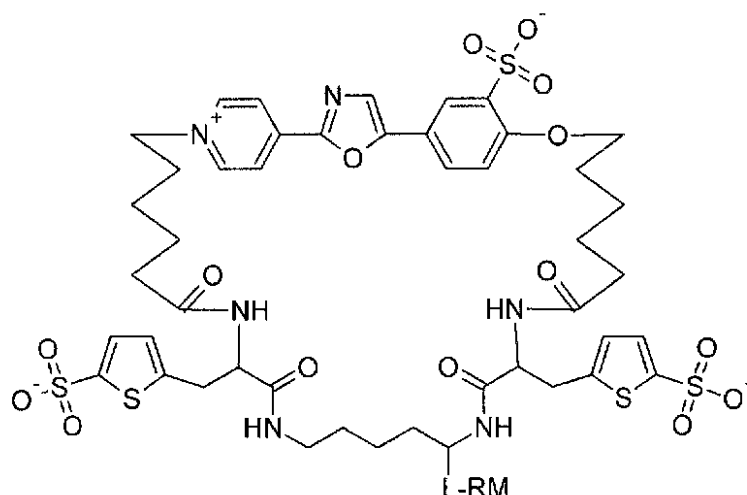
【化 9】



(式中、R¹からR⁶は、独立に、水素、1～20個の炭素を有するアルキル、1～20個の炭素を有するアルコキシ、トリフルオロメチル、ハロゲン、メチルチオ、スルホニル、ボロニル、ホスホニル、シアノ、カルボニル、ヒドロキシ、アミノ、チオール、アリール、ヘテロアリールまたはRMであり；かつ、RMは、化学的に反応性の高い部分である)；または

第7の式：

【化 1 0】



(式中、Lは、0～30原子の長さのリンカーであり；かつ、RMは、アミン、カルボン酸、カルボン酸の活性化エステル、ハロアセトアミド、ヒドラジン、ヒドロキシルアミン、イソチオシアネート、マレイミドまたはハロゲン化スルホニルである)
 を有する前記化学的に反応性の高い発光性色素であることを特徴とする化合物。

【請求項 7】

請求項 6 に記載の化合物であって、RMは、アミン、カルボン酸、カルボン酸の活性化エステル、ハロアセトアミド、ヒドラジン、ヒドロキシルアミン、イソチオシアネート、マレイミドまたはハロゲン化スルホニルであることを特徴とする化合物。

【請求項 8】

請求項 6 および 7 のいずれかに記載の化合物であって、WSBは、スルホネートおよびホスホネート基から選択される少なくとも 2 つの基を含有することを特徴とする化合物。

【請求項 9】

請求項 6～8 のいずれか一項に記載の化合物であって、WSBは、RMを含有することを特徴とする化合物。

【請求項 10】

請求項 6～9 のいずれか一項に記載の化合物であって、
 前記化学的に反応性の高い発光性色素が第 1 の式を有する場合、 R^{12} および R^{16} は、独立に、スルホネートまたはホスホネート基であり、
 前記化学的に反応性の高い発光性色素が第 2 の式を有する場合、 R^{11} および R^{17} は、独立に、スルホネートまたはホスホネート基であり、
 前記化学的に反応性の高い発光性色素が第 4 の式を有する場合、 R^1 、 R^3 および R^4 は、独立に、カルボキシまたはスルホネート基であることを特徴とする化合物。

【請求項 11】

請求項 6～10 のいずれか一項に記載の化合物であって、前記化合物は前記複合体であり、前記複合体は、式 1、2、3、4、5、6、または 7 を有する化学的に反応性の高い発光性色素と、BIOPOLYMERとの反応から誘導されることを特徴とする化合物。

【請求項 12】

請求項 1～2 および 11 のいずれか一項に記載の化合物であって、前記化合物は前記複合体であり、BIOPOLYMERは、ペプチド、タンパク質、多糖、オリゴヌクレオチド、核酸、脂質、リン脂質、リポタンパク質、リポ多糖、リボソーム、脂溶性高分子、高分子微粒子、動物細胞、植物細胞、細菌、酵母またはウイルスであることを特徴とする化合物。

【請求項 13】

請求項 1～2 および 11～12 のいずれか一項に記載の化合物であって、前記化合物は前記複合体であり、BIOPOLYMERは抗体であることを特徴とする化合物。

【請求項 14】

試料中における特異的な結合対の相補的メンバーを検出する方法であって、

- a) 前記試料に請求項 1 に記載の化合物を添加するステップであって、前記化合物は前記複合体であり、前記 B I O P O L Y M E R は、前記特異的な結合対の一方のメンバーを含むステップと、
- b) 前記複合体が前記試料中において前記相補的メンバーとの錯体を形成するための十分な時間を与え、前記錯体は検出可能な蛍光応答を呈するステップと、
- c) 蛍光機器で前記錯体を検出して前記相補的メンバーを位置づけるステップとを含むことを特徴とする方法。

【請求項 15】

前記特異的な結合対の第 1 のメンバーは、ペプチド、タンパク質、オリゴヌクレオチド、核酸高分子または多糖であること、または前記特異的な結合対の第 1 のメンバーは、抗体、抗体フラグメント、アビジン、ストレプトアビジン、レクチンまたは酵素を含むことを特徴とする、請求項 14 に記載の方法。

【請求項 16】

細胞機能をモニターする方法であって、

- a) 請求項 1 に記載の化合物を、細胞を含有する試料に添加するステップであって、前記化合物は前記複合体であり、前記 B I O P O L Y M E R は、特異的な結合対の一方のメンバーを含み、前記細胞は、前記特異的な結合対の他方のメンバーを含有するステップと、
- b) 前記試料を、前記複合体が前記特異的な結合対の前記他方のメンバーとの錯体を形成するための十分な時間にわたってインキュベートするステップと、
- c) 前記試料を、前記複合体からの蛍光応答を発生させる波長で照射するステップと、
- d) 前記複合体からの蛍光応答を検出するステップと、
- e) 前記蛍光応答を細胞機能と関連させるステップとを含むことを特徴とする方法。

【請求項 17】

- a) 前記細胞を刺激するステップと、
 - b) 前記複合体からの前記蛍光応答の強度における変化をモニターするステップと、
 - c) 前記蛍光強度における前記変化を細胞機能と関連させるステップと
- をさらに含むことを特徴とする、請求項 16 に記載の方法。

【請求項 18】

請求項 1 に記載の化合物と、
第 2 のアッセイ構成要素と
を含む細胞アッセイを実施するためのキットであって、
前記化合物は前記複合体であることを特徴とするキット。