

【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

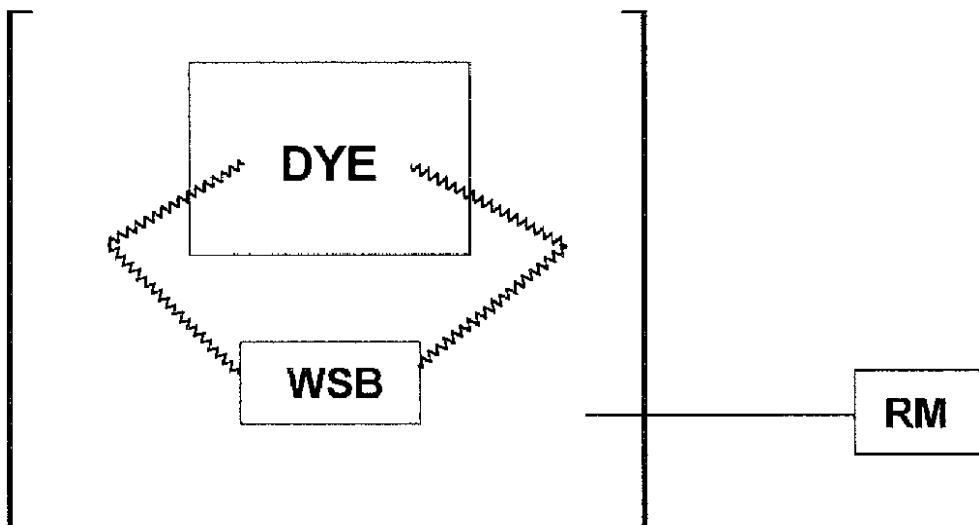
【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

式：

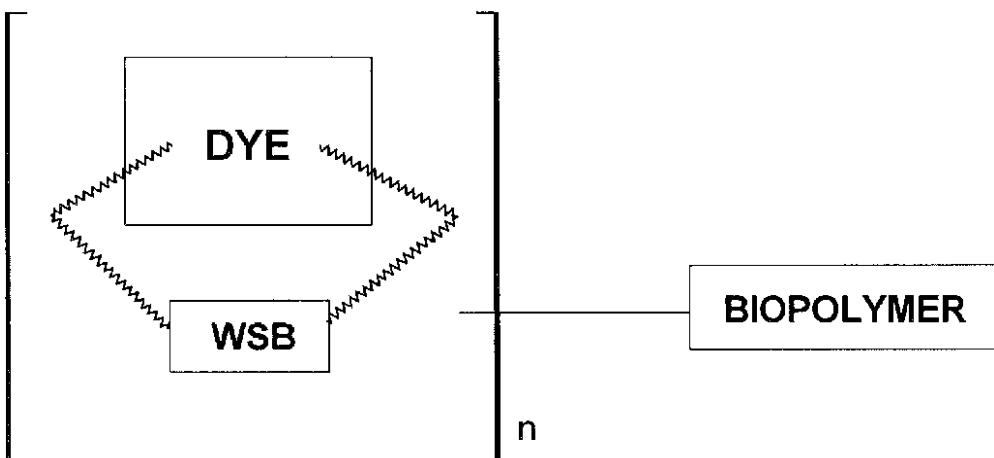
【化 1】



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、DYEは、発光性色素を表し、RMは、化学的に反応性の高い部分であり、かつ、WSB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、WSB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、DYEは、発光性色素を表し；WSB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；BIOPOLYMERは、1000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、1～30の整数であり、但し、DYEは、直接的に、またはリンカー「L」を介して間接的にBIOPOLYMERと共有結合しており；かつ、Lは、0～30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、DYE 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、RM 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、アシリアルアジド、アシリルニトリル、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ーレン誘導体であることを特徴とする化合物。

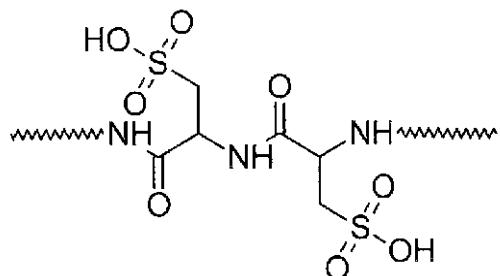
【請求項 4】

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、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 5】

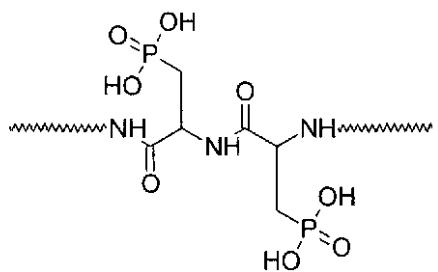
前記請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載の化合物であって、WSB は、下記の構造またはそれらの類似体：

【化 3 - 1】

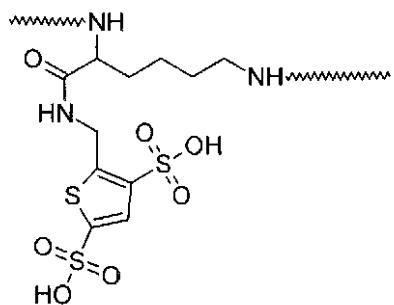


または

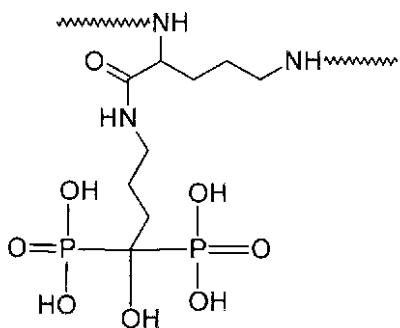
【化3-2】



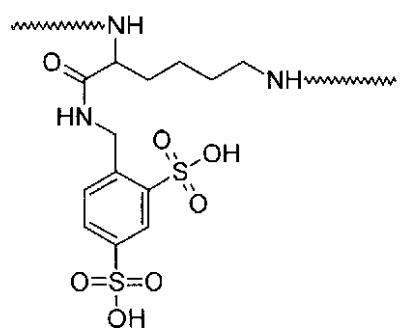
または



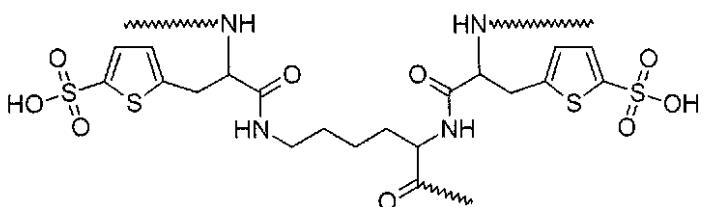
または



または

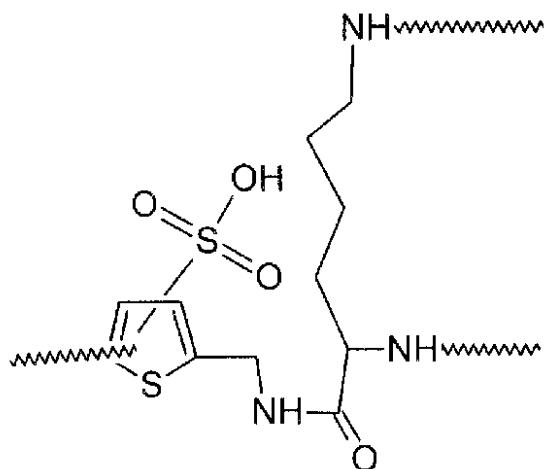


または



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。

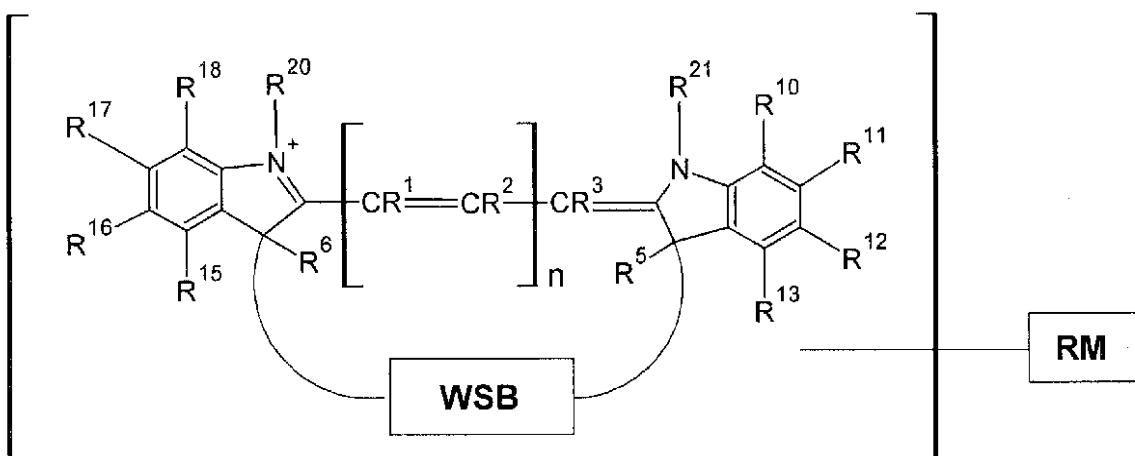
【請求項6】

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：

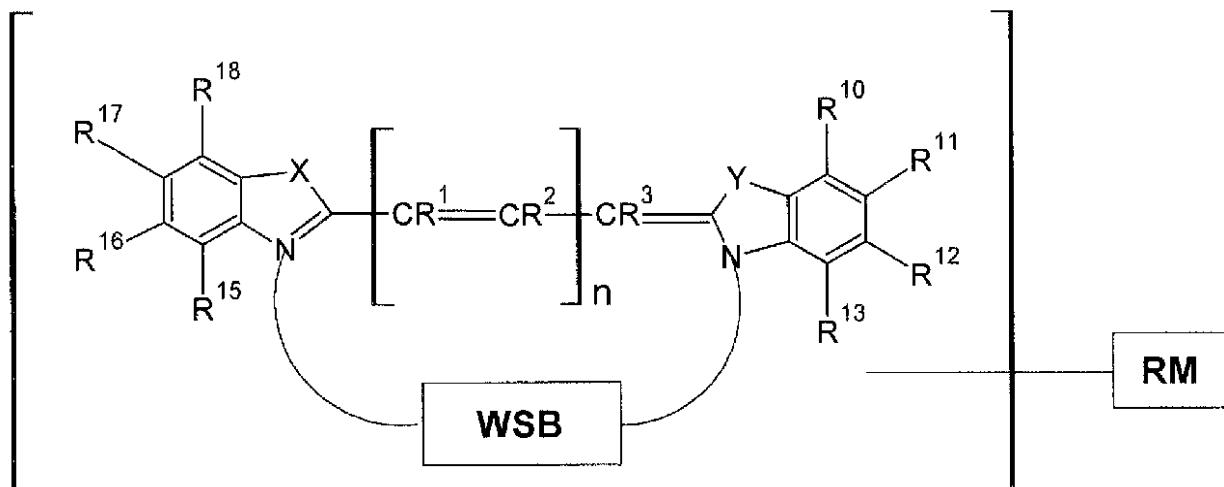
【化4】



(式中、R¹からR³は、独立に、水素、ハロゲン、1～20個の炭素を有するアルキル、アリール、ヘテロアリールまたはRMであり；R⁵およびR⁶は、独立に、1～20個の炭素を有するアルキル、アリール、ヘテロアリールまたはRMであり；R¹⁰からR¹⁹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；R²⁰およびR²¹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；R¹⁰およびR²¹、R¹⁰およびR¹¹、R¹¹およびR¹²、R¹²およびR¹³、R⁵およびR¹³、R⁶およびR¹⁵、R¹⁵およびR¹⁶、R¹⁶およびR¹⁷、R¹⁷およびR¹⁸、またはR¹⁸およびR²⁰の1つまたは複数は、任意選択的に組み合わさって、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：

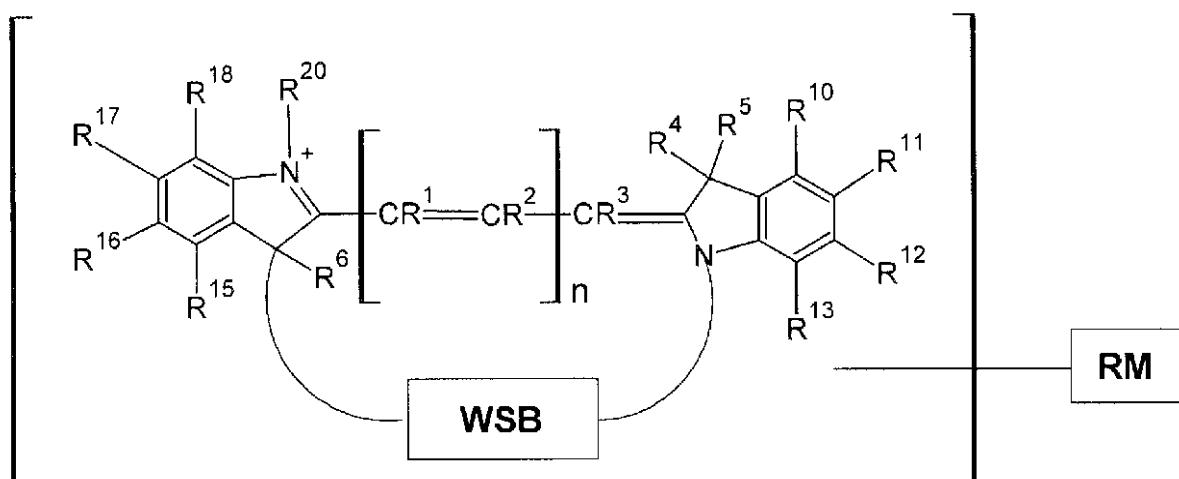
【化5】



(式中、XおよびYは、独立に、O、S、SeまたはCR²⁰R²¹であり；nは0から3であり；R¹からR³は、独立に、水素、ハロゲン、1～20個の炭素を有するアルキル、アリール、ヘテロアリールまたはRMであり；R¹⁰からR¹⁹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；R²⁰およびR²¹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R¹⁰、R¹⁰およびR¹¹、R¹¹およびR¹²、R¹²およびR¹³、XおよびR¹⁸、R¹⁵およびR¹⁶、R¹⁶およびR¹⁷、またはR¹⁷およびR¹⁸の1つまたは複数は、任意選択的に組み合わさって、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；R²⁰およびR²¹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；R²⁰およびR²¹は、任意選択的に組み合わさって、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】

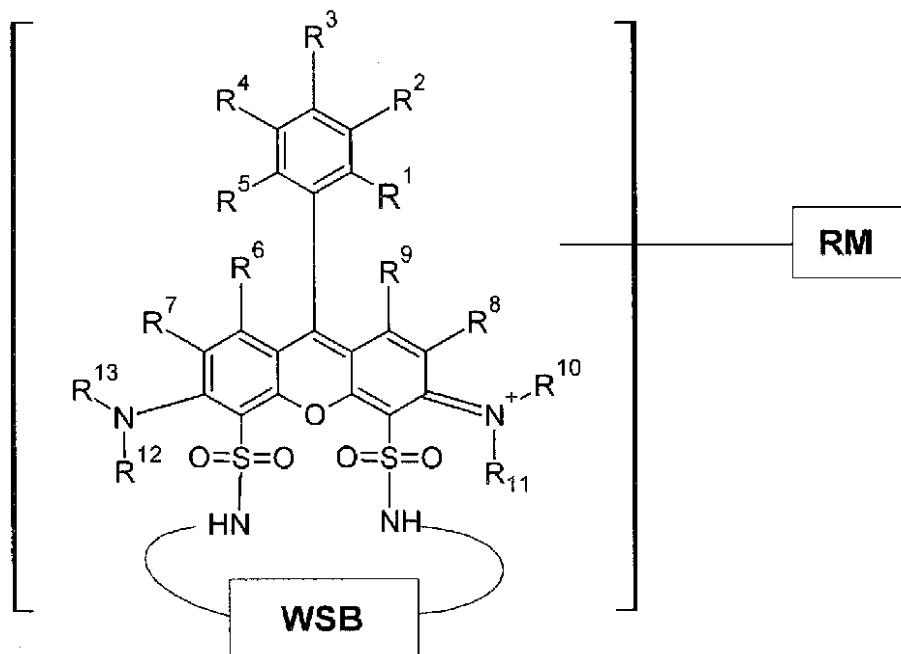


(式中、R¹からR³は、独立に、水素、ハロゲン、1～20個の炭素を有するアルキル、アリール、ヘテロアリールまたはRMであり；R⁴からR⁶は、独立に、1～20個の炭素を有するアルキル、アリール、ヘテロアリールまたはRMであり；R¹⁰からR¹⁹は、独立に、水素、1～20個の炭素を有するアルキル、1～20個の炭素を有するアルコキシ、トリフルオロメチル、ハロゲン、メチルチオ、スルホニル、ボロニル、ホスホニル、シアノ、カルボニル、ヒドロキシ、アミノ、チオール、アリール、ヘテロアリールまたはRMであり；R²⁰およびR²¹は、独立に、アルキル、アリールアルキル、アルコキシアルキル、ポリエチレングリコールまたはRMであり；R²⁰およびR²¹は、任意選択的に組み合わさって、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)；

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；R²⁰は、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；R⁴およびR¹⁰、R⁵およびR¹⁰、R¹⁰およびR¹¹、R¹¹およびR¹²、R¹²およびR¹³、R⁶およびR¹⁵、R¹⁵およびR¹⁶、R¹⁶およびR¹⁷、R¹⁷およびR¹⁸、またはR¹⁸およびR²⁰の1つまたは複数は、任意選択的に組み合わさせて、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；nは0から3である）；

第4の式：

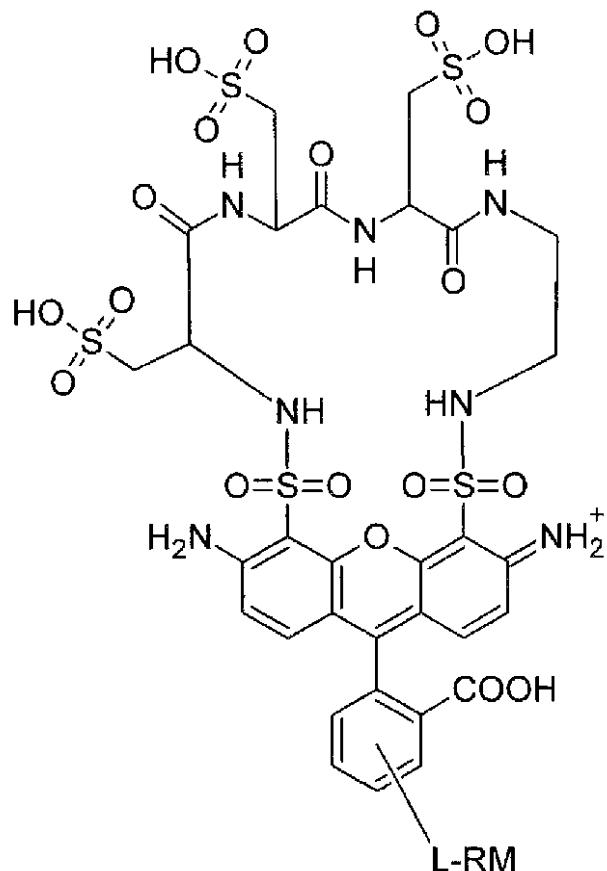
【化7】



（式中、R¹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；R²からR⁹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；R¹⁰、R¹¹、R¹²およびR¹³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、アルコキシアルキル、ポリエチレングリコールまたはRMであり；R⁸およびR¹⁰、またはR⁷およびR¹³の1つまたは複数は、組み合わせて、5から8員環を形成し；R⁶およびR⁷、またはR⁸およびR⁹の1つまたは複数は、組み合わせて、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：

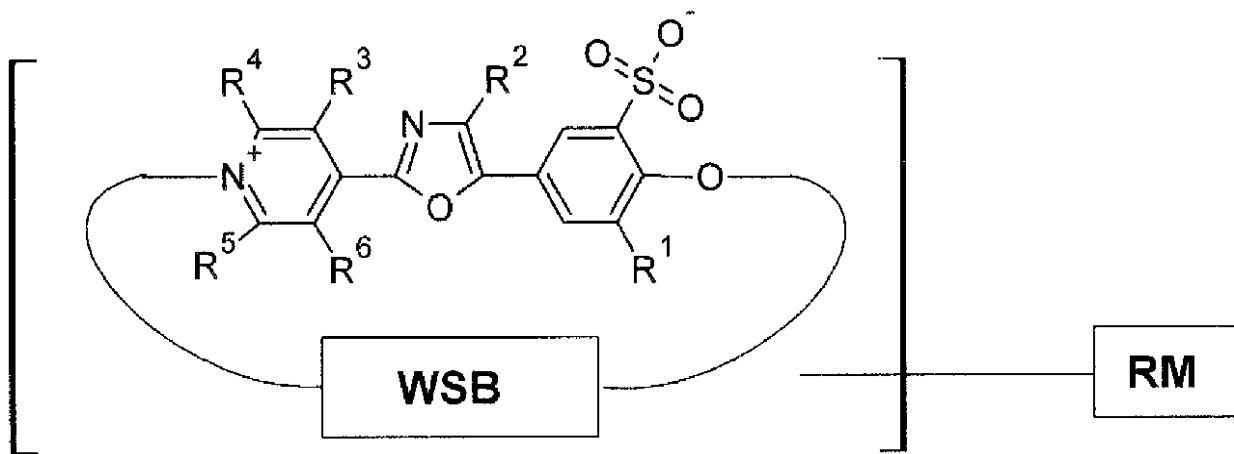
【化 8】



(式中、Lは、0～30原子の長さのリンカーであり；かつ、RMは、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、ヒドロキシリアルアミン、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：

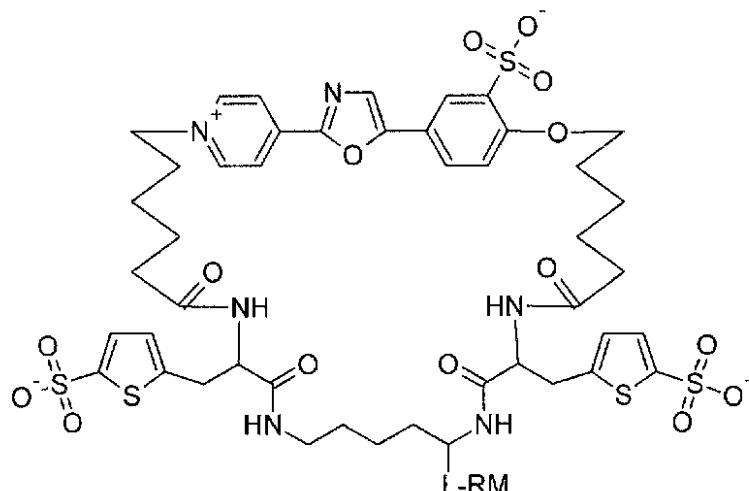
【化9】



(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10】



(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、ヒドロキシリアルミン、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、ヒドロキシリアルミン、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、R¹²およびR¹⁶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、R¹¹およびR¹⁷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、R¹、R³およびR⁴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、リポソーム、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 1 4】

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 BIOPOLYMER 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 1 5】

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 1 4 に記載の方法。

【請求項 1 6】

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 BIOPOLYMER 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相關させるステップとを含むことを特徴とする方法。

【請求項 1 7】

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相關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 1 6 に記載の方法。

【請求項 1 8】

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。