

【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】令和 1 年 11 月 21 日 (2019.11.21)

【公表番号】特表 2018-538511 (P2018-538511A)

【公表日】平成 30 年 12 月 27 日 (2018.12.27)

【年通号数】公開・登録公報 2018-050

【出願番号】特願 2018-513641 (P2018-513641)

【国際特許分類】

G 0 1 N 27/62 (2006.01)

【F I】

G 0 1 N 27/62 V

G 0 1 N 27/62 Z

【手続補正書】

【提出日】令和 1 年 10 月 9 日 (2019.10.9)

【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

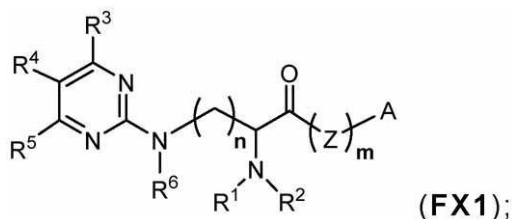
【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

質量分析に標識化試薬として用いられる、同位体が濃縮された化合物を含む組成物であって、前記化合物が、式 (F X 1) を有し：

【化 1】



式中、A が、アミン反応性基、カルボニル反応性基、又はチオール反応性基であり；

Z が結合基であり；

R<sup>3</sup> ~ R<sup>5</sup> が、それぞれ独立して、水素、C<sub>1</sub> ~ C<sub>4</sub> アルキル若しくは C<sub>1</sub> ~ C<sub>4</sub> アセチルであり、又は R<sup>3</sup> ~ R<sup>5</sup> のうちの少なくとも 2 つが、5 員若しくは 6 員の芳香族若しくは脂環式の環を形成するように結合しており；

R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>、及び R<sup>6</sup> が、それぞれ独立して、水素、C<sub>1</sub> ~ C<sub>4</sub> アルキル、又は C<sub>1</sub> ~ C<sub>4</sub> アセチルであり；

前記化合物中の任意の数の炭素が、<sup>12</sup>C 又は <sup>13</sup>C であり；

前記化合物中の任意の数の窒素が、<sup>14</sup>N 又は <sup>15</sup>N であり；

前記化合物中の任意の数の水素が、<sup>1</sup>H 又は <sup>2</sup>H であり；

前記化合物中の任意の数の酸素が、<sup>16</sup>O 又は <sup>18</sup>O であり；

n が、1 ~ 5 の範囲から選択される整数であり；

m が、0 又は 1 であり；

但し、炭素原子、窒素原子、酸素原子、及び水素原子から独立して選択される、式 (F X 1) のうちの少なくとも 2 つの原子が、独立して重同位体であることを条件とし；同位体が濃縮された前記化合物が、天然の同位体存在量を超える量で存在する、組成物。

【請求項 2】

同位体が濃縮された、複数の異なる化合物を含み、同位体が濃縮された、異なる前記化合物が、それぞれ独立して、式 ( F X 1 ) を有し；同位体が濃縮された、異なる前記化合物が、同位体種である、請求項 1 に記載の組成物。

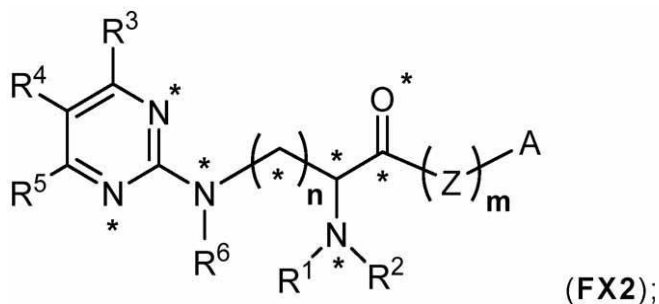
【請求項 3】

同位体が濃縮された前記化合物が、  
 少なくとも 2 つの  $^{13}\text{C}$  同位体；又は  
 少なくとも 1 つの  $^{13}\text{C}$  同位体及び少なくとも 1 つの  $^{15}\text{N}$  同位体；又は  
 少なくとも 1 つの  $^{13}\text{C}$  同位体及び少なくとも 1 つの  $^2\text{H}$  同位体；又は  
 少なくとも 1 つの  $^{13}\text{C}$  同位体及び少なくとも 1 つの  $^{18}\text{O}$  同位体；又は  
 少なくとも 2 つの  $^{15}\text{N}$  同位体；又は  
 少なくとも 1 つの  $^{15}\text{N}$  同位体及び少なくとも 1 つの  $^2\text{H}$  同位体；又は  
 少なくとも 1 つの  $^{15}\text{N}$  同位体及び少なくとも 1 つの  $^{18}\text{O}$  同位体；又は  
 少なくとも 2 つの  $^2\text{H}$  同位体；又は  
 少なくとも 1 つの  $^2\text{H}$  同位体及び少なくとも 1 つの  $^{18}\text{O}$  同位体；少なくとも 2 つの  $^{18}\text{O}$  同位体；又は  
 少なくとも 1 つの  $^{13}\text{C}$  同位体、少なくとも 1 つの  $^{15}\text{N}$  同位体、及び少なくとも 1 つの  $^2\text{H}$  同位体；又は  
 少なくとも 1 つの  $^{13}\text{C}$  同位体、少なくとも 1 つの  $^{15}\text{N}$  同位体、及び少なくとも 1 つの  $^{18}\text{O}$  同位体  
 を有する式 ( F X 1 ) によって特徴付けられる、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 4】

同位体が濃縮された前記化合物が、式 ( F X 2 ) によって特徴付けられ：

【化 2】

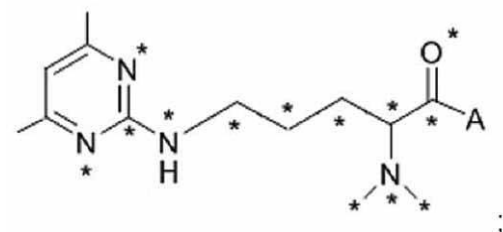


式中、符号 \* が、それぞれ独立して、前記重同位体のうちの 1 つであってもよい原子を示す、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 5】

同位体が濃縮された前記化合物が、下記式によって特徴付けられ：

【化 3】

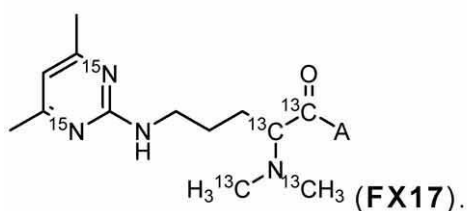
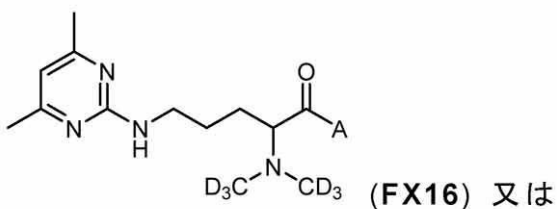
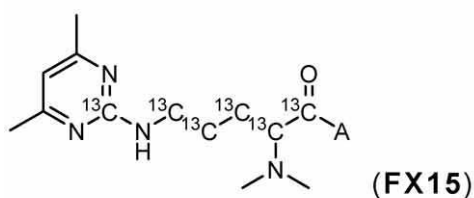
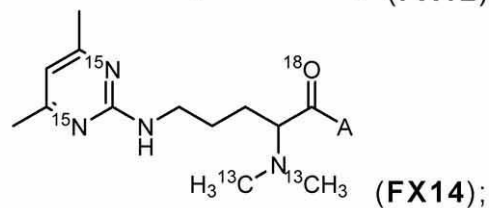
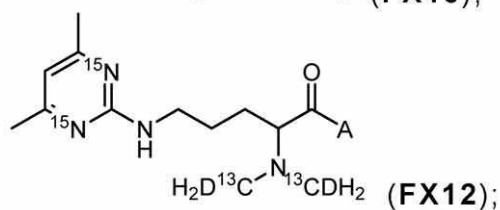
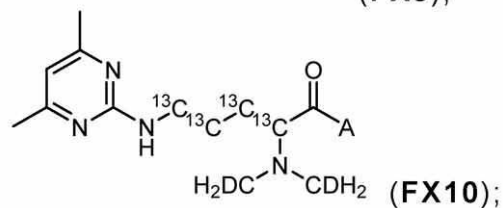
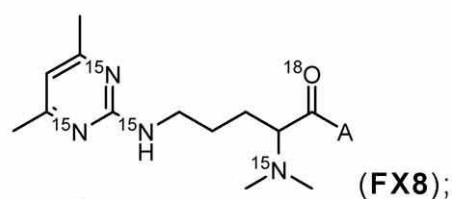


式中、符号 \* が、それぞれ独立して、前記重同位体のうちの 1 つであってもよい原子を示す、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 6】

同位体が濃縮された前記化合物が、式 ( F X 7 )、( F X 8 )、( F X 9 )、( F X 10 )、( F X 11 )、( F X 12 )、( F X 13 )、( F X 14 )、( F X 15 )、( F

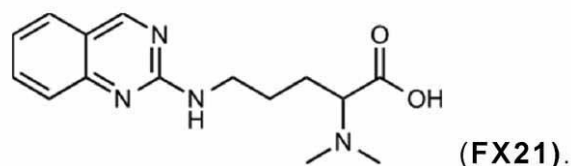
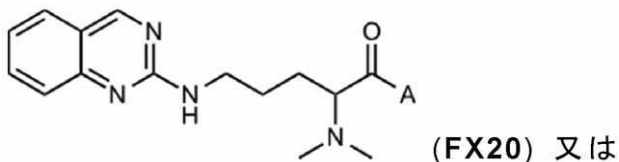
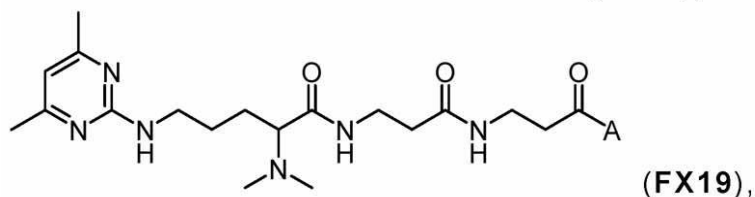
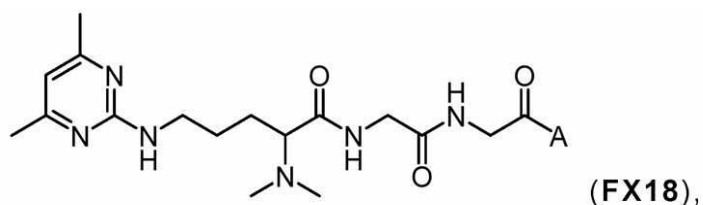
【化 4】



【請求項 7】

同位体が濃縮された前記化合物が、式 ( F X 1 8 )、式 ( F X 1 9 )、式 ( F X 2 0 ) 又は ( F X 2 1 ) によって特徴付けられる、請求項 1 に記載の組成物：

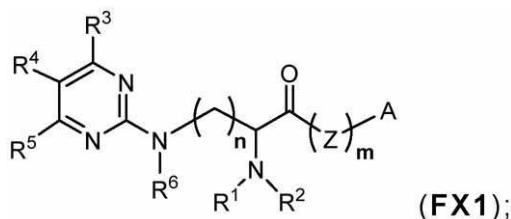
## 【化 5】



## 【請求項 8】

質量分析用の標識化試薬として用いられる、同位体が濃縮された、複数の異なる同位体種を含むキットであって、同位体が濃縮された前記同位体種が、独立して、式 ( F X 1 ) を有し：

## 【化 6】



式中、A が、アミン反応性基、カルボニル反応性基、又はチオール反応性基であり；

Z が結合基であり；

R<sup>3</sup> ~ R<sup>5</sup> が、それぞれ独立して、水素、C<sub>1</sub> ~ C<sub>4</sub> アルキル若しくは C<sub>1</sub> ~ C<sub>4</sub> アセチルであり、又は R<sup>3</sup> ~ R<sup>5</sup> のうちの少なくとも 2 つが、5 員若しくは 6 員の芳香族若しくは脂環式の環を形成するように結合しており；

R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>、及び R<sup>6</sup> が、それぞれ独立して、水素、C<sub>1</sub> ~ C<sub>4</sub> アルキル、又は C<sub>1</sub> ~ C<sub>4</sub> アセチルであり；

前記化合物中の任意の数の炭素が、<sup>12</sup>C 又は <sup>13</sup>C であり；

前記化合物中の任意の数の窒素が、<sup>14</sup>N 又は <sup>15</sup>N であり；

前記化合物中の任意の数の水素が、<sup>1</sup>H 又は <sup>2</sup>H であり；

前記化合物中の任意の数の酸素が、<sup>16</sup>O 又は <sup>18</sup>O であり；

n が、1 ~ 5 の範囲から選択される整数であり；

m が、0 又は 1 であり；

前記同位体種の少なくとも一部が、55 mDa 以下の質量差異によって特徴付けられ；

同位体が濃縮された前記同位体種が、天然の同位体存在量を超える量で存在する、キット。

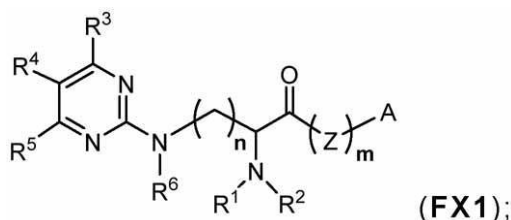
## 【請求項 9】

質量分析技術を用いて標的分子を分析する方法であって、

a) 前記標的分子を、複数の異なるサンプル中に与えるステップと；

b) 各サンプル中の前記標的分子を、同位体が濃縮された、異なる同位体種と反応させることによって、同位体で標識化された標的分子を含むサンプルを生じさせるステップであり、同位体が濃縮された、異なる前記同位体種が、それぞれ独立して、式(FX1)を有し；

【化7】



式中、Aが、アミン反応性基、カルボニル反応性基、又はチオール反応性基であり；

Zが結合基であり；

R<sup>3</sup> ~ R<sup>5</sup>が、それぞれ独立して、水素、C<sub>1</sub> ~ C<sub>4</sub>アルキル若しくはC<sub>1</sub> ~ C<sub>4</sub>アセチルであり、又はR<sup>3</sup> ~ R<sup>5</sup>のうちの少なくとも2つが、5員若しくは6員の芳香族若しくは脂環式の環を形成するように結合しており；

R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>、及びR<sup>6</sup>が、それぞれ独立して、水素、C<sub>1</sub> ~ C<sub>4</sub>アルキル、又はC<sub>1</sub> ~ C<sub>4</sub>アセチルであり；

前記化合物中の任意の数の炭素が、<sup>12</sup>C又は<sup>13</sup>Cであり；

前記化合物中の任意の数の窒素が、<sup>14</sup>N又は<sup>15</sup>Nであり；

前記化合物中の任意の数の水素が、<sup>1</sup>H又は<sup>2</sup>Hであり；

前記化合物中の任意の数の酸素が、<sup>16</sup>O又は<sup>18</sup>Oであり；

nが、1 ~ 5の範囲から選択される整数であり；

mが、0又は1であり；

但し、炭素原子、窒素原子、酸素原子、及び水素原子から独立して選択される、式(FX1)のうちの少なくとも2つの原子が、独立して重同位体であることを条件とし；前記同位体種の少なくとも一部が、55 mDa以下の質量差異によって特徴付けられる、ステップと；

c) 前記質量分析技術を用いて、各サンプルについて、同位体で標識化された前記標的分子を分析するステップとを含む方法。

【請求項10】

前記同位体種の少なくとも一部が、ペプチド、タンパク質、グリカン、若しくは代謝物質のアミン基、ペプチド、タンパク質、グリカン、若しくは代謝物質のカルボニル基、又はペプチド、タンパク質、若しくは代謝物質のチオール基と反応性である、請求項9に記載の方法。

【請求項11】

同位体が濃縮された前記同位体種が、

少なくとも2つの<sup>13</sup>C同位体；又は

少なくとも1つの<sup>13</sup>C同位体及び少なくとも1つの<sup>15</sup>N同位体；又は

少なくとも1つの<sup>13</sup>C同位体及び少なくとも1つの<sup>2</sup>H同位体；又は

少なくとも1つの<sup>13</sup>C同位体及び少なくとも1つの<sup>18</sup>O同位体；又は

少なくとも2つの<sup>15</sup>N同位体；又は

少なくとも1つの<sup>15</sup>N同位体及び少なくとも1つの<sup>2</sup>H同位体；又は

少なくとも1つの<sup>15</sup>N同位体及び少なくとも1つの<sup>18</sup>O同位体；又は

少なくとも2つの<sup>2</sup>H同位体；又は

少なくとも1つの<sup>2</sup>H同位体及び少なくとも1つの<sup>18</sup>O同位体；少なくとも2つの<sup>1</sup>

<sup>8</sup>O 同位体；又は

少なくとも1つの<sup>13</sup>C 同位体、少なくとも1つの<sup>15</sup>N 同位体、及び少なくとも1つの<sup>2</sup>H 同位体；又は

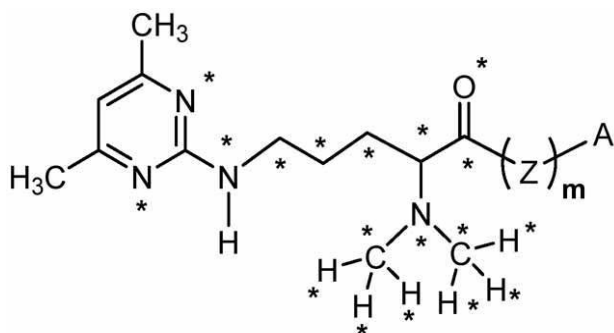
少なくとも1つの<sup>13</sup>C 同位体、少なくとも1つの<sup>15</sup>N 同位体、及び少なくとも1つの<sup>18</sup>O 同位体

を有する式 (F X 1) によって独立して特徴付けられる、請求項 9 に記載の方法。

【請求項 1 2】

同位体が濃縮された前記同位体種が、それぞれ独立して、式 (F X 4) によって特徴付けられ：

【化 8】



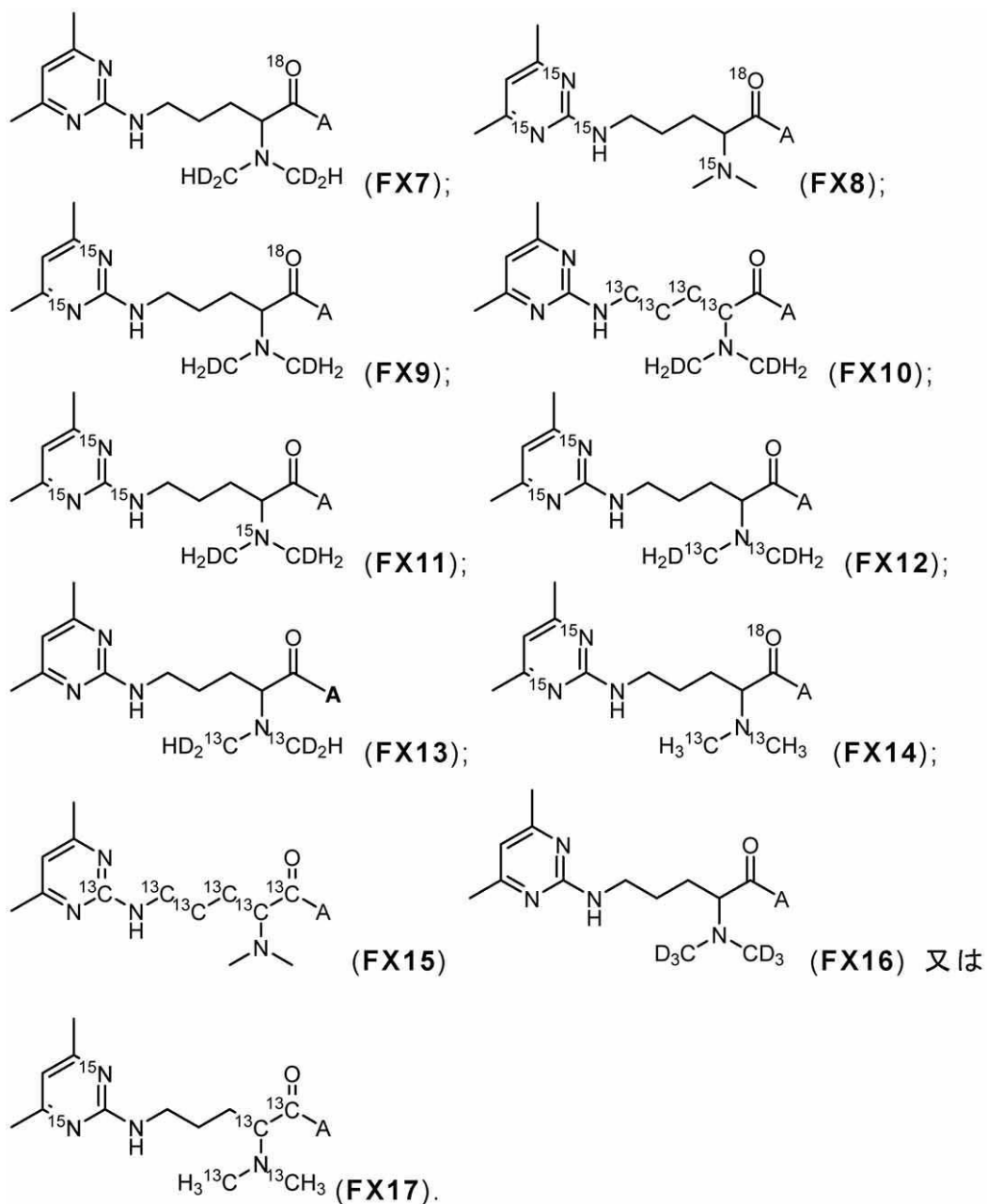
(FX4);

式中、符号 \* が、それぞれ独立して、前記重同位体のうちの1つであってもよい原子を示す、請求項 9 に記載の方法。

【請求項 1 3】

同位体が濃縮された前記同位体種が、それぞれ独立して、式 (F X 7)、(F X 8)、(F X 9)、(F X 10)、(F X 11)、(F X 12)、(F X 13)、(F X 14)、(F X 15)、(F X 16)、又は (F X 17) によって特徴付けられる、請求項 9 に記載の方法：

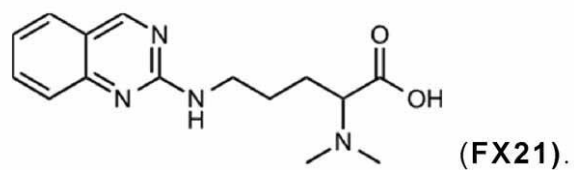
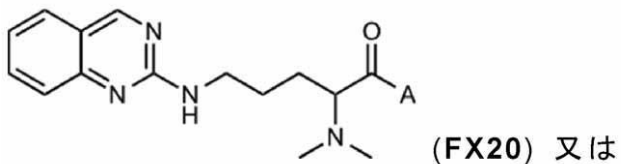
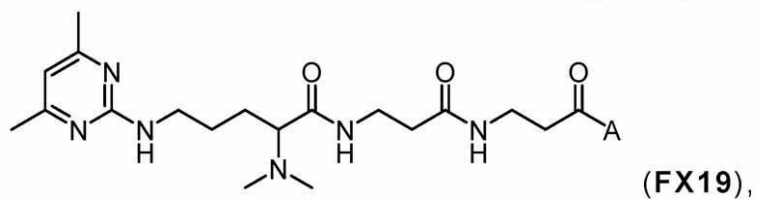
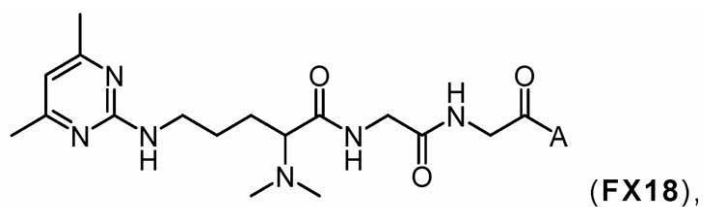
## 【化 9】



## 【請求項 14】

同位体が濃縮された前記同位体種が、それぞれ独立して、式 (FX18)、式 (FX19)、式 (FX20) 又は 式 (FX21) によって特徴付けられる、請求項 9 に記載の方法：

## 【化 10】



## 【請求項 15】

前記異なるサンプル中の、標識化された前記標的分子の相対量を定量化するステップをさらに含む、請求項9に記載の方法。