

【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2年9月10日(2020.9.10)

【公開番号】特開2020-109088(P2020-109088A)
 【公開日】令和2年7月16日(2020.7.16)
 【年通号数】公開・登録公報2020-028
 【出願番号】特願2020-16082(P2020-16082)
 【国際特許分類】

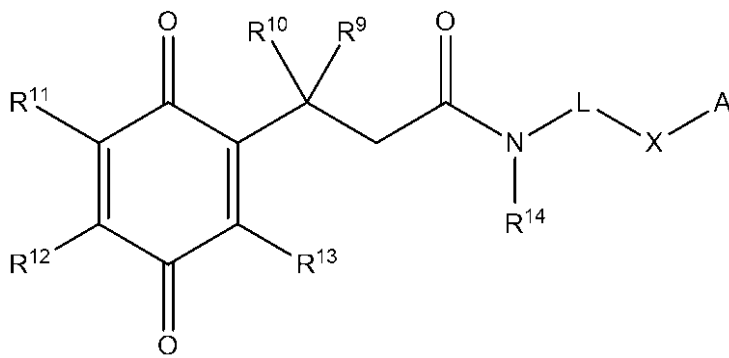
C 0 7 D 487/04 (2006.01)
 C 0 7 D 417/12 (2006.01)
 C 0 7 J 43/00 (2006.01)
 C 0 7 D 493/10 (2006.01)
 C 0 7 D 417/14 (2006.01)
 C 0 9 B 57/00 (2006.01)
 C 0 9 B 11/28 (2006.01)
 C 1 2 Q 1/04 (2006.01)
 C 1 2 Q 1/66 (2006.01)
 C 1 2 Q 1/68 (2018.01)

【F I】

C 0 7 D 487/04 1 4 4
 C 0 7 D 417/12 C S P
 C 0 7 J 43/00
 C 0 7 D 493/10 E
 C 0 7 D 417/14
 C 0 9 B 57/00 C
 C 0 9 B 11/28 D
 C 1 2 Q 1/04
 C 1 2 Q 1/66
 C 1 2 Q 1/68

【手続補正書】
 【提出日】令和2年7月31日(2020.7.31)
 【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】

次式(I)で示される化合物、またはその塩。



(I)

(式中、

Aは、ルシフェリン、プロルシフェリン、アミノルシフェリン、キノリル-ルシフェリン、ナフチルルシフェリン、クロロルシフェリン、セレンテラジン、フリマジン、セレンテラジン-n、セレンテラジン-f、セレンテラジン-h、セレンテラジン-hcp、セレンテラジン-cp、セレンテラジン-c、セレンテラジン-e、セレンテラジン-fcp、ビス-デオキシセレンテラジン(「セレンテラジン-hh」)、セレンテラジン-i、セレンテラジン-icp、セレンテラジン-v、2-メチルセレンテラジン、R110、DDAO、レゾルフィン、クレシルバイオレット、シリルキサンテン、ローダミン123、ローダミンX、Alexa Fluor-350、Alexa Fluor-430、Alexa Fluor-488、Alexa Fluor-660、DyLight 594、スルホローダミンB、スルホローダミン101、Texas Red、フルオレセイン、6-カルボキシフルオレセイン(6-FAM)、5-カルボキシフルオレセイン(5-Fam)、5-もしくは6-カルボキシ-4,7,2',7'-テトラクロロフルオレセイン(TET)、5-もしくは6-カルボキシ-4'5'2'4'5'7'ヘキサクロロフルオレセイン(HEX)、5'もしくは6'-カルボキシ-4',5'-ジクロロ-2',7'-ジメトキシフルオレセイン(JOE)、6-JOE、5-カルボキシ-2',4',5',7'-テトラクロロフルオレセイン(ZOE)ロドール、フルオレセインイソチオシアネート、クマリン、7-アミノ-4-メチルクマリン、アミノクマリン、ヒドロキシクマリン、シリルキサンテン及びカルボピロニンの部分からなる群から選択されたレポーター部分であり；

R¹⁴は、H、アルキル、ヒドロキシアルキル、アルコキシ、カルボキシアルキル、またはアミドアルキルであり；

R⁹及びR¹⁰は、アルキルから独立に選択され；

R¹¹、R¹²、及びR¹³は、独立にアルキルであり；

Xは、Oであり；

Lは、-(CH₂)_mC(R¹⁷)₂(CH₂)_n-Y-C(O)-であり；

R¹⁷は、独立にHまたはアルキルであり；

mは、0~2の整数であり；

nは、0~2の整数であり；

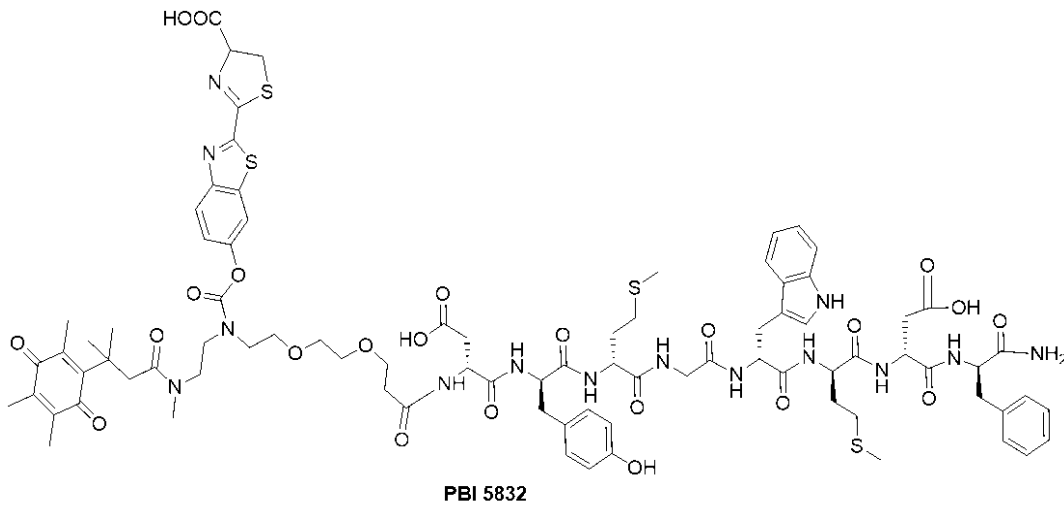
Yは、NR¹⁵であり；

R¹⁵は、-(C₂-C₆-アルコキシ)_x-アルキル-CON(R³²)(R³³)であり；

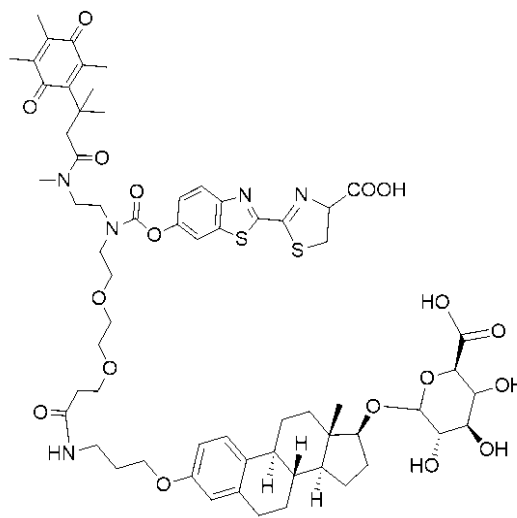
xは、1~20から選択される整数であり；そして

R³²及びR³³は、水素、アルキル、カルボキシ、アリール、アリールアルキル、シクロアルキルアルキル、ヘテロアリール、ヘテロアリールアルキル、ヘテロシクル、ヒドロキシアルキル、タンパク質、ポリペプチド、ポリペプチドを基礎とする毒物、アミノ酸、ヌクレオチド、ポリヌクレオチド、脂質、糖、炭水化物、酵素基質、薬物、薬物の誘導体、ポリマー連結ナノ粒子、抗体、界面活性剤、及び色素、またはそれらの組み合わせからそれぞれ独立に選択される。))

【請求項2】



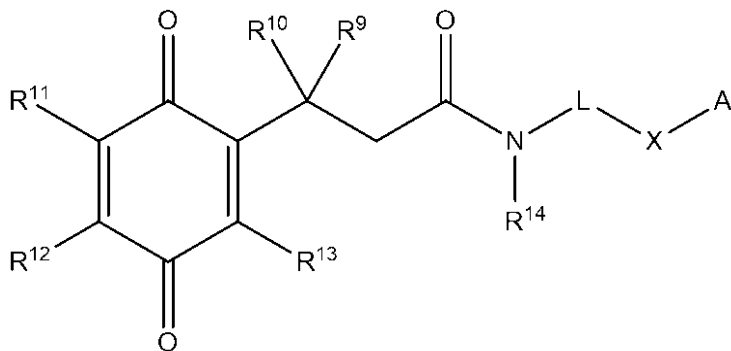
、及び



からなる群から選択される請求項 1 に記載の化合物またはその塩。

【請求項 3】

標識化されるべき物質が標識用試薬によって標識された標識化複合体であって、前記標識用試薬が、以下の式 (I) で示されることを特徴とする標識化複合体。



(I)

(式中、

A は、ルシフェリン、プロルシフェリン、アミノルシフェリン、キノリル - ルシフェリン、ナフチルルシフェリン、クロルルシフェリン、セレンテラジン、フリマジン、セレン

テラジン - n、セレンテラジン - f、セレンテラジン - h、セレンテラジン - h c p、セレンテラジン - c p、セレンテラジン - c、セレンテラジン - e、セレンテラジン - f c p、ビス - デオキシセレンテラジン (「セレンテラジン - h h」)、セレンテラジン - i、セレンテラジン - i c p、セレンテラジン - v、2 - メチルセレンテラジン、R 1 1 0、D D A O、レゾルフィン、クレシルバイオレット、シリルキサンテン、ローダミン 1 2 3、ローダミン X、A l e x a F l u o r - 3 5 0、A l e x a F l u o r - 4 3 0、A l e x a F l u o r - 4 8 8、A l e x a F l u o r - 6 6 0、D y L i g h t 5 9 4、スルホローダミン B、スルホローダミン 1 0 1、T e x a s R e d、フルオレセイン、6 - カルボキシフルオレセイン (6 - F A M)、5 - カルボキシフルオレセイン (5 - F a m)、5 - もしくは 6 - カルボキシ - 4, 7, 2', 7' - テトラクロロフルオレセイン (T E T)、5 - もしくは 6 - カルボキシ - 4' 5' 2' 4' 5' 7' ヘキサクロロフルオレセイン (H E X)、5' もしくは 6' - カルボキシ - 4', 5' - ジクロロ - 2', 7' - ジメトキシフルオレセイン (J O E)、6 - J O E、5 - カルボキシ - 2', 4', 5', 7' - テトラクロロフルオレセイン (Z O E) ロドール、フルオレセインイソチオシアネート、クマリン、7 - アミノ - 4 - メチルクマリン、アミノクマリン、ヒドロキシクマリン、シリルキサンテン及びカルボピロニンの部分からなる群から選択されたレポーター部分であり；

R¹⁴は、H、アルキル、ヒドロキシアルキル、アルコキシ、カルボキシアルキル、またはアミドアルキルであり；

R⁹及びR¹⁰は、アルキルから独立に選択され；

R¹¹、R¹²、及びR¹³は、独立にアルキルであり；

Xは、Oであり；

Lは、- (C H₂)_m C (R¹⁷)₂ (C H₂)_n - Y - C (O) - であり；

R¹⁷は、独立にHまたはアルキルであり；

mは、0 ~ 2の整数であり；

nは、0 ~ 2の整数であり；

Yは、N R¹⁵であり；

R¹⁵は、- (C₂ - C₆ - アルコキシ)_x - アルキル - C O N (R³²) (R³³) であり；

xは、1 ~ 20から選択される整数であり；そして

R³²及びR³³は、水素、アルキル、カルボキシ、アリール、アリールアルキル、シクロアルキルアルキル、ヘテロアリール、ヘテロアリールアルキル、ヘテロシクル、ヒドロキシアルキル、タンパク質、ポリペプチド、ポリペプチドを基礎とする毒物、アミノ酸、ヌクレオチド、ポリヌクレオチド、脂質、糖、炭水化物、酵素基質、薬物、薬物の誘導体、ポリマー連結ナノ粒子、抗体、界面活性剤、及び色素、またはそれらの組み合わせからそれぞれ独立に選択される。))

【請求項 4】

前記標識化されるべき物質が、タンパク質、ポリペプチド、ポリペプチドを基礎とする毒物、アミノ酸、ヌクレオチド、ポリヌクレオチド、脂質、糖、炭水化物、酵素基質、薬物、ポリマー連結ナノ粒子及び抗体からなる群から選択される、請求項 3 に記載の標識化複合体。

【請求項 5】

試薬の細胞取り込みの評価方法であって、以下の工程、

a) 試料を、請求項 3 または 4 に記載の標識化複合体と接触させる工程であって、前記試料が、細胞を含む工程と、

b) 光放出を検出する工程であって、それによって、光放出の検出が、前記試薬の細胞取り込みを示す工程と、

を含むことを特徴とする評価方法。

【請求項 6】

前記試薬の細胞取り込みが、前記標識用試薬の還元及び遊離レポーター部分の生成をもたらす、請求項 5 に記載の方法。

【請求項 7】

光放出の検出が、前記試料の所定波長の光への暴露と、前記試料における蛍光レベルの検出とを含み、対照試料の蛍光または蛍光波長と比較した、蛍光における増加または蛍光波長における変化が、前記試薬の細胞取り込みを示す、請求項 6 に記載の方法。

【請求項 8】

前記試料と、ルシフェラーゼとの接触をさらに含み、光放出の検出が、前記遊離レポーター部分を利用して、前記ルシフェラーゼによって生成される発光の検出を含む、請求項 6 に記載の方法。

【請求項 9】

前記細胞が、真核細胞または原核細胞である、請求項 6 に記載の方法。