

【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1部門第1区分

【発行日】平成23年3月24日(2011.3.24)

【公表番号】特表2010-512169(P2010-512169A)

【公表日】平成22年4月22日(2010.4.22)

【年通号数】公開・登録公報2010-016

【出願番号】特願2009-541546(P2009-541546)

【国際特許分類】

C 12 N 15/09 (2006.01)

A 61 K 39/00 (2006.01)

A 61 K 48/00 (2006.01)

A 61 P 37/02 (2006.01)

【F I】

C 12 N 15/00 Z N A A

A 61 K 39/00 H

A 61 K 48/00

A 61 P 37/02

【手続補正書】

【提出日】平成22年12月13日(2010.12.13)

【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】

ヌクレオシド・ホスホラミダイトを、オリゴヌクレオチド合成の間、ユニバーサル・サポート、第一のヌクレオチド又は伸長オリゴヌクレオチドにカップリングさせるための方法であって、前記オリゴヌクレオチドはグアニン・モノマーが3つ以上の連続する領域を含み、

(i) カップリング溶液の作製するステップであって、前記カップリング溶液は、

(a) 極性非プロトン溶媒であって、スルホラン、1-メチルピロリジン-2-オン、N,N-ジメチルアセトアミド及びジメチルスルホキシド(DMSO)からなる群から選択される少なくとも1つの第一の溶媒；

(b) 活性化剤；及び

(c) ヌクレオシド・ホスホラミダイト；

前記カップリング溶液中の前記ヌクレオシド・ホスホラミダイトの濃度は少なくとも0.03Mである；及び

(ii) カップリング溶液を、ユニバーサル・サポート、第一のヌクレオシド又は伸長オリゴヌクレオチドと接触させるステップを含む方法。

【請求項2】

前記少なくとも1つの第一の溶媒がスルホランである、請求項1に記載の方法。

【請求項3】

前記カップリング溶液中の前記ヌクレオシド・ホスホラミダイトの濃度が0.03から0.30Mであり、前記カップリング溶液中の前記活性化剤の濃度が0.05から0.90Mである、請求項1又は2に記載の方法。

【請求項4】

前記カップリング溶液がさらに第二の溶媒を含み、前記第二の溶媒がアセトニトリルである、請求項1ないし3の何れか一項に記載の方法。

【請求項5】

請求項4に記載の方法であって、前記カップリング溶液が  
(a) 前記少なくとも1つの第一の溶媒のちょうど一つ；  
(b) 前記活性化剤；  
(c) 前記ヌクレオシド・ホスホラミダイト；  
(d) アセトニトリルである第二の溶媒  
を含む方法。

【請求項6】

請求項4又は5の何れか一項に記載の方法であって、前記第二の溶媒に対する前記少なくとも一つの第一の溶媒の割合( $v/v$ )が5:1から1:2の間であり、好ましくは前記第二の溶媒に対する前記少なくとも一つの第一の溶媒の割合( $v/v$ )が1:1である方法。

【請求項7】

請求項1ないし6の何れか一項に記載の方法であって、前記第一のヌクレオシド及び/又は前記伸長ヌクレオチドがジビニルベンゼンによって架橋結合しているポリスチレンサポート上に固定されている方法。

【請求項8】

請求項1ないし7の何れか一項に記載の方法であって、前記活性化剤が  
(a) 4,5-ジシアノイミダゾール(DCI)；  
(b) 5-エチルチオ-1H-テトラゾール(ETT)；  
(c) 5-ベンジルチオ-1H-テトラゾール(BTT)；及び  
(d) 5-(3,5-ビス-トリフロロメチル)フェニル-1H-テトラゾール(活性化因子42)  
からなるグループから選択され、好ましくは前記活性化剤が4,5-ジシアノイミダゾール(DCI)である方法。

【請求項9】

請求項1ないし8の何れか一項に記載の方法であって、前記オリゴヌクレオチドがグアニン・モノマーが3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19又は20連続する第一の領域を含み、前記オリゴヌクレオチドがグアニン・モノマーが3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19又は20連続する第二の領域を含み、前記第一の領域が前記オリゴヌクレオチドの3'-末端に位置する、及び/又は前記第二の領域が前記オリゴヌクレオチドの5'-末端に位置する方法。

【請求項10】

請求項1ないし9の何れか一項に記載の方法であって、前記オリゴヌクレオチドがGACGATCGTC(配列番号:2)であるパリンドローム配列を含み、前記パリンドローム配列が少なくとも4、多くても20のグアノシンによってその5'-末端に隣接している；及び/又はパリンドローム配列が少なくとも6、多くても20のグアノシンによってその3'-末端に隣接している方法。

【請求項11】

請求項1ないし10の何れか一項に記載の方法であって、前記オリゴヌクレオチドが  
(a) GGGGACGATCGTCGGGGGG(配列番号:3)；  
(b) GGGGGACGATCGTCGGGGGG(配列番号:4)；  
(c) GGGGGGACGATCGTCGGGGGG(配列番号:5)；  
(d) GGGGGGGACGATCGTCGGGGGG(配列番号:6)；  
(e) GGGGGGGGGACGATCGTCGGGGGGGG(配列番号:7)；  
(f) GGGGGGGGGGGACGATCGTCGGGGGGGG(配列番号:8)；  
(g) GGGGGGGGGGGACGATCGTCGGGGGGGG(配列番号:9)；

( h ) G G G G G G G G G G G G A C G A T C G T C G G G G G G G G G G ( 配列番号 : 10 ) ; 及び  
( i ) G G G G G G C G A C G A C G A T C G T C G T C G G G G G G G G ( 配列番号 : 11 )

からなるグループから選択されるヌクレオチド配列を含む方法。

【請求項 1 2】

請求項 1 ないし 1 1 の何れか一項に記載の方法であって、前記オリゴヌクレオチドが配列番号 : 10 からなる方法。

【請求項 1 3】

オリゴヌクレオチドを製造するための方法であって、前記方法が

( i ) 請求項 1 ないし 1 2 の何れか一項に記載の方法を含む、第一のヌクレオシドにヌクレオシド・ホスホラミダイトをカップリングさせるステップ；

( i i ) ステップ ( i ) のプロダクトを酸化させることによって、伸長オリゴヌクレオチドを生成するステップ；

( i i i ) 請求項 1 ないし 1 2 の何れか一項に記載の方法を含む、ステップ ( i i ) のプロダクトに、ヌクレオシド・ホスホラミダイトをカップリングさせるステップ；

( i v ) ステップ ( i i i ) のプロダクトを酸化させることによって、伸長オリゴヌクレオチドを生成するステップ；及び

( v ) 伸長オリゴヌクレオチドが前記オリゴヌクレオチドの配列を含むまで、( i i i ) 及び ( i v ) のステップを繰り返すステップ

を含み、好ましくは前記方法がさらに前記オリゴヌクレオチドを変性条件の下で精製するステップを含み、前記変性条件が pH 1.0 から 1.4 であり、好ましくは前記精製が陰イオン交換クロマトグラフィーにより行われる方法。

【請求項 1 4】

請求項 1 3 に記載の方法であって、前記オリゴヌクレオチドが少なくとも 20 % の第一のヌクレオシドに関するモル収率で製造され、前記オリゴヌクレオチドの精製が少なくとも 75 % である 方法。

【請求項 1 5】

配列番号 : 10 からなるオリゴヌクレオチドであって、前記オリゴヌクレオチドの精製が少なくとも 75 % である オリゴヌクレオチド。