

【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 1 2 N 15/09 (2006.01)

A 6 1 K 39/00 (2006.01)

A 6 1 K 48/00 (2006.01)

A 6 1 P 37/02 (2006.01)

【F I】

C 1 2 N 15/00 Z N A A

A 6 1 K 39/00 H

A 6 1 K 48/00

A 6 1 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 (D M S O) 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 . 0 3 M である；及び

(i i) 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 . 0 3 から 0 . 3 0 M 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 . 0 5 から 0 . 9 0 M 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 - 1 H - テトラゾール (ETT) ；
- (c) 5 - ベンジルチオ - 1 H - 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 - 1 H - テトラゾール (活性化因子 4 2) 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 G A C G A T C G T C (配列番号 : 2) であるパリンδροーム配列を含み、前記パリンδροーム配列が少なくとも 4、多くても 20 のグアニンによってその 5' - 末端に隣接している；及び / 又はパリンδροーム配列が少なくとも 6、多くても 20 のグアニンによってその 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) G G G G A C G A T C G T C G G G G G G (配列番号 : 3) ；
- (b) G G G G G A C G A T C G T C G G G G G G (配列番号 : 4) ；
- (c) G G G G G G A C G A T C G T C G G G G G G (配列番号 : 5) ；
- (d) G G G G G G G A C G A T C G T C G G G G G G (配列番号 : 6) ；
- (e) G G G G G G G G A C G A T C G T C G G G G G G G (配列番号 : 7) ；
- (f) 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 (配列番号 : 8) ；
- (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 (配列番号 : 9) ；

(h) 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 (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 (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12】

請求項1ないし11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13】

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12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；

(ii) 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；

(iii) 請求項1ないし12の何れか一項に記載の方法を含む、ステップ(ii)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；

(iv) ステップ(iii)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、(iii)及び(iv)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pH10から14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14】

請求項13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15】

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。