【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】令和6年5月30日(2024.5.30)

【国際公開番号】WO2021/261577
【出願番号】特願2022-532551(P2022-532551)
【国際特許分類】
Ｃ１２Ｐ 21/02(2006.01)
Ｃ４０Ｂ 40/10(2006.01)
Ｃ０７Ｋ 14/00(2006.01)
Ｃ４０Ｂ 30/04(2006.01)
Ｃ１２Ｎ 15/09(2006.01)
【ＦＩ】
Ｃ１２Ｐ 21/02 ＣＺＮＡ
Ｃ４０Ｂ 40/10
Ｃ０７Ｋ 14/00
Ｃ４０Ｂ 30/04
Ｃ１２Ｎ 15/09 Ｚ

【手続補正書】
【提出日】令和6年5月22日(2024.5.22)
【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】
M_1M_2Aで表されるコドンに相補的なアンチコドンを有するtRNAおよびM_1M_2Gで表されるコドンに相補的なアンチコドンを有するtRNAを含む翻訳系であって、
M_1およびM_2はそれぞれコドンの1文字目および2文字目のヌクレオシドを表し、M_1およびM_2はそれぞれ独立にアデノシン（A）、グアノシン（G）、シチジン（C）、ウリジン（U）のいずれかから選択され、
前記2種類のtRNAにはそれぞれ互いに異なるアミノ酸またはアミノ酸類縁体が結合している、翻訳系。
【請求項２】
M_1M_2U、M_1M_2C、M_1M_2A、およびM_1M_2Gによって構成されるコドンボックスから、少なくとも2種類のアミノ酸またはアミノ酸類縁体が翻訳可能である、請求項１に記載の翻訳系。
【請求項３】
（ｉ）M_1M_2Uで表されるコドンに相補的なアンチコドンを有するtRNA、M_1M_2Aで表されるコドンに相補的なアンチコドンを有するtRNA、およびM_1M_2Gで表されるコドンに相補的なアンチコドンを有するtRNA、または、
（ｉｉ）M_1M_2Cで表されるコドンに相補的なアンチコドンを有するtRNA、M_1M_2Aで表されるコドンに相補的なアンチコドンを有するtRNA、およびM_1M_2Gで表されるコドンに相補的なアンチコドンを有するtRNAを含む翻訳系であって、
M_1およびM_2はそれぞれコドンの1文字目および2文字目のヌクレオシドを表し、M_1およびM_2はそれぞれ独立にアデノシン(A)、グアノシン(G)、シチジン(C)、ウリジン(U)のいずれかから選択され、
前記（ｉ）および（ｉｉ）における3種類のtRNAにはそれぞれ互いに異なるアミノ酸

またはアミノ酸類縁体が結合している、翻訳系。
【請求項４】
M_1M_2U、M_1M_2C、M_1M_2A、およびM_1M_2Gによって構成されるコドンボックスから、少なくとも3種類のアミノ酸またはアミノ酸類縁体が翻訳可能である、請求項１または３に記載の翻訳系。
【請求項５】
M_1およびM_2が以下の（i）から(x)のいずれかである、請求項１から４のいずれか一項に記載の翻訳系：
（i） M_1がウリジン(U)であり、M_2がウリジン(U)である、
（ii） M_1がウリジン(U)であり、M_2がアデノシン(A)である、
（iii） M_1がウリジン(U)であり、M_2がグアノシン(G)である、
（iv） M_1がシチジン(C)であり、M_2がアデノシン(A)である、
（v） M_1がシチジン(C)であり、M_2がグアノシン(G)である、
（vi） M_1がアデノシン(A)であり、M_2がウリジン(U)である、
（vii） M_1がアデノシン(A)であり、M_2がシチジン(C)である、
（viii） M_1がアデノシン(A)であり、M_2がアデノシン(A)である、
（ix） M_1がアデノシン(A)であり、M_2がグアノシン(G)である、または
（x） M_1がグアノシン(G)であり、M_2がアデノシン(A)である。
【請求項６】
M_1およびM_2が以下の（i）から(vii)のいずれかである、請求項５に記載の翻訳系:
（i） M_1がウリジン(U)であり、M_2がウリジン(U)である、
（ii） M_1がウリジン(U)であり、M_2がグアノシン(G)である、
（iii） M_1がシチジン(C)であり、M_2がアデノシン(A)である、
（iv） M_1がシチジン(C)であり、M_2がグアノシン(G)である、
（v） M_1がアデノシン(A)であり、M_2がアデノシン(A)である、
（vi） M_1がアデノシン(A)であり、M_2がグアノシン(G)である、または
（vii） M_1がグアノシン(G)であり、M_2がアデノシン(A)である。
【請求項７】
前記翻訳系に含まれる前記tRNAの一コドンあたりの濃度が、（i）0.8～1000 μM、（ii）1.6～500 μM、（iii）3.2～250 μM、（iv）6.4～150 μM、または（v）10～100 μMのいずれかである、請求項１から６のいずれか一項に記載の翻訳系。
【請求項８】
前記アミノ酸が、天然アミノ酸または非天然アミノ酸である、請求項１から７のいずれか一項に記載の翻訳系。
【請求項９】
前記tRNAが開始tRNAまたは伸長tRNAである、請求項１から８のいずれか一項に記載の翻訳系。
【請求項１０】
前記tRNAが原核生物由来または真核生物由来のtRNAである、請求項１から９のいずれか一項に記載の翻訳系。
【請求項１１】
前記アンチコドンが、アデノシン(A)、グアノシン(G)、シチジン(C)、またはウリジン(U)のいずれか1種または複数種のヌクレオシドを含む、請求項１から１０のいずれか一項に記載の翻訳系。
【請求項１２】
一つの遺伝暗号表から、20種類より多くのアミノ酸またはアミノ酸類縁体を翻訳可能である、請求項１から１１のいずれか一項に記載の翻訳系。
【請求項１３】
無細胞翻訳系である、請求項１から１２のいずれか一項に記載の翻訳系。
【請求項１４】

再構成型の無細胞翻訳系である、請求項１３に記載の翻訳系。
【請求項１５】
大腸菌由来のリボソームを含む、請求項１３または１４に記載の翻訳系。
【請求項１６】
前記tRNAが、翻訳系外で前記アミノ酸またはアミノ酸類縁体と結合されたものである、請求項１から１５のいずれか一項に記載の翻訳系。
【請求項１７】
前記tRNAのうち、M_1M_2Aで表されるコドンに相補的なアンチコドンを有するtRNA、およびM_1M_2Gで表されるコドンに相補的なアンチコドンを有するtRNAが、翻訳系外で前記アミノ酸またはアミノ酸類縁体と結合されたものである、請求項１から１６のいずれか一項に記載の翻訳系。
【請求項１８】
前記tRNAが、pCpA法、pdCpA法、人工RNA触媒（フレキシザイム）を用いた方法、またはアミノアシルtRNA合成酵素（ARS）を用いた方法によって得られるものである、請求項１から１７のいずれか一項に記載の翻訳系。
【請求項１９】
請求項１から１８のいずれか一項に記載の翻訳系の製造方法であって、前記アミノ酸またはアミノ酸類縁体を翻訳系外でtRNAに結合させることを含む、方法。
【請求項２０】
前記翻訳系外でのアミノ酸またはアミノ酸類縁体のtRNAへの結合が、pCpA法、pdCpA法、人工RNA触媒（フレキシザイム）を用いた方法、またはアミノアシルtRNA合成酵素（ARS）を用いた方法による、請求項１９に記載の翻訳系の製造方法。
【請求項２１】
請求項１から１８のいずれか一項に記載の翻訳系または請求項１９もしくは２０に記載の方法によって得られる翻訳系を用いて核酸を翻訳することを含む、ペプチドの製造方法。
【請求項２２】
ペプチドが環状部を有するペプチドである、請求項２１に記載の方法。
【請求項２３】
請求項２１または２２に記載の方法により製造されたペプチド。
【請求項２４】
請求項１から１８のいずれか一項に記載の翻訳系または請求項１９もしくは２０に記載の方法によって得られる翻訳系を用いて核酸ライブラリーを翻訳することを含む、ペプチドライブラリーの製造方法。
【請求項２５】
請求項２４に記載の方法により製造されたペプチドライブラリー。
【請求項２６】
請求項２５に記載のペプチドライブラリーに標的分子を接触させることを含む、当該標的分子に対して結合活性を有するペプチドの同定方法。
【手続補正２】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】００１０
【補正方法】変更
【補正の内容】
【００１０】
本開示はこのような知見に基づくものであり、具体的には以下〔１〕～〔３２〕に例示的に記載する実施態様を包含するものである。
〔１〕
M_1M_2Aで表されるコドンに相補的なアンチコドンを有するtRNAおよびM_1M_2Gで表されるコドンに相補的なアンチコドンを有するtRNAを含む翻訳系であって、

M_1およびM_2はそれぞれコドンの1文字目および2文字目のヌクレオシドを表し、M_1およびM_2はそれぞれ独立にアデノシン（A）、グアノシン（G）、シチジン（C）、ウリジン（U）のいずれかから選択され、

前記2種類のtRNAにはそれぞれ互いに異なるアミノ酸またはアミノ酸類縁体が結合している、翻訳系。

〔２〕

M_1M_2U、M_1M_2C、M_1M_2A、およびM_1M_2Gによって構成されるコドンボックスから、少なくとも2種類のアミノ酸またはアミノ酸類縁体が翻訳可能である、〔１〕に記載の翻訳系。

〔３〕

（ｉ）M_1M_2Uで表されるコドンに相補的なアンチコドンを有するtRNA、M_1M_2Aで表されるコドンに相補的なアンチコドンを有するtRNA、およびM_1M_2Gで表されるコドンに相補的なアンチコドンを有するtRNA、または、

（ｉｉ）M_1M_2Cで表されるコドンに相補的なアンチコドンを有するtRNA、M_1M_2Aで表されるコドンに相補的なアンチコドンを有するtRNA、およびM_1M_2Gで表されるコドンに相補的なアンチコドンを有するtRNAを含む翻訳系であって、

M_1およびM_2はそれぞれコドンの1文字目および2文字目のヌクレオシドを表し、M_1およびM_2はそれぞれ独立にアデノシン(A)、グアノシン(G)、シチジン(C)、ウリジン(U)のいずれかから選択され、

前記（ｉ）および（ｉｉ）における3種類のtRNAにはそれぞれ互いに異なるアミノ酸またはアミノ酸類縁体が結合している、翻訳系。

〔４〕

M_1M_2U、M_1M_2C、M_1M_2A、およびM_1M_2Gによって構成されるコドンボックスから、少なくとも3種類のアミノ酸またはアミノ酸類縁体が翻訳可能である、〔１〕から〔３〕のいずれかに記載の翻訳系。

〔５〕

M_1およびM_2が以下の（i）から(x)のいずれかである、〔１〕から〔４〕のいずれかに記載の翻訳系：

（i） M_1がウリジン(U)であり、M_2がウリジン(U)である、

（ii） M_1がウリジン(U)であり、M_2がアデノシン(A)である、

（iii） M_1がウリジン(U)であり、M_2がグアノシン(G)である、

（iv） M_1がシチジン(C)であり、M_2がアデノシン(A)である、

（v） M_1がシチジン(C)であり、M_2がグアノシン(G)である、

（vi） M_1がアデノシン(A)であり、M_2がウリジン(U)である、

（vii） M_1がアデノシン(A)であり、M_2がシチジン(C)である、

（viii） M_1がアデノシン(A)であり、M_2がアデノシン(A)である、

（ix） M_1がアデノシン(A)であり、M_2がグアノシン(G)である、または

（x） M_1がグアノシン(G)であり、M_2がアデノシン(A)である。

〔６〕

M_1およびM_2が以下の（i）から(vii)のいずれかである、〔５〕に記載の翻訳系:

（i） M_1がウリジン(U)であり、M_2がウリジン(U)である、

（ii） M_1がウリジン(U)であり、M_2がグアノシン(G)である、

（iii） M_1がシチジン(C)であり、M_2がアデノシン(A)である、

（iv） M_1がシチジン(C)であり、M_2がグアノシン(G)である、

（v） M_1がアデノシン(A)であり、M_2がアデノシン(A)である、

（vi） M_1がアデノシン(A)であり、M_2がグアノシン(G)である、または

（vii） M_1がグアノシン(G)であり、M_2がアデノシン(A)である。

〔７〕

前記翻訳系に含まれる前記tRNAの一コドンあたりの濃度が、（i）0.8～1000 μM、（ii）1.6～500 μM、（iii）3.2～250 μM、（iv）6.4～150 μM、または（v）

10～100 μMのいずれかである、〔１〕から〔６〕のいずれかに記載の翻訳系。
〔８〕
前記アミノ酸が、天然アミノ酸または非天然アミノ酸である、〔１〕から〔７〕のいずれかに記載の翻訳系。
〔９〕
前記tRNAが開始tRNAまたは伸長tRNAである、〔１〕から〔８〕のいずれかに記載の翻訳系。
〔１０〕
前記tRNAが原核生物由来または真核生物由来のtRNAである、〔１〕から〔９〕のいずれかに記載の翻訳系。
〔１１〕
前記アンチコドンが、アデノシン(A)、グアノシン(G)、シチジン(C)、またはウリジン(U)のいずれか1種または複数種のヌクレオシドを含む、〔１〕から〔１０〕のいずれかに記載の翻訳系。
〔１２〕
一つの遺伝暗号表から、20種類より多くのアミノ酸またはアミノ酸類縁体を翻訳可能である、〔１〕から〔１１〕のいずれかに記載の翻訳系。
〔１３〕
無細胞翻訳系である、〔１〕から〔１２〕のいずれかに記載の翻訳系。
〔１４〕
再構成型の無細胞翻訳系である、〔１３〕に記載の翻訳系。
〔１５〕
大腸菌由来のリボソームを含む、〔１３〕または〔１４〕に記載の翻訳系。
〔１６〕
前記tRNAが、翻訳系外で前記アミノ酸またはアミノ酸類縁体と結合されたものである、〔１〕から〔１５〕のいずれかに記載の翻訳系。
〔１７〕
前記tRNAのうち、M_1M_2Aで表されるコドンに相補的なアンチコドンを有するtRNA、およびM_1M_2Gで表されるコドンに相補的なアンチコドンを有するtRNAが、翻訳系外で前記アミノ酸またはアミノ酸類縁体と結合されたものである、〔１〕から〔１６〕のいずれかに記載の翻訳系。
〔１８〕
前記tRNAが、pCpA法、pdCpA法、人工RNA触媒（フレキシザイム）を用いた方法、またはアミノアシルtRNA合成酵素（ARS）を用いた方法によって得られるものである、〔１〕から〔１７〕のいずれかに記載の翻訳系。
〔１９〕
〔１〕から〔１８〕のいずれかに記載の翻訳系の製造方法であって、前記アミノ酸またはアミノ酸類縁体を翻訳系外でtRNAに結合させることを含む、方法。
〔２０〕
前記翻訳系外でのアミノ酸またはアミノ酸類縁体のtRNAへの結合が、pCpA法、pdCpA法、人工RNA触媒（フレキシザイム）を用いた方法、またはアミノアシルtRNA合成酵素（ARS）を用いた方法による、〔１９〕に記載の方法。
〔２１〕
〔１〕から〔１８〕のいずれかに記載の翻訳系または〔１９〕もしくは〔２０〕に記載の方法によって得られる翻訳系を用いて核酸を翻訳することを含む、ペプチドの製造方法。
〔２２〕
ペプチドが環状部を有するペプチドである、〔２１〕に記載の方法。
〔２３〕
〔２１〕または〔２２〕に記載の方法により製造されたペプチド。

〔２４〕
〔１〕から〔１８〕のいずれかに記載の翻訳系または〔１９〕もしくは〔２０〕に記載の方法によって得られる翻訳系を用いて核酸ライブラリーを翻訳することを含む、ペプチドライブラリーの製造方法。
〔２５〕
〔２４〕に記載の方法により製造されたペプチドライブラリー。
〔２６〕
〔２５〕に記載のペプチドライブラリーに標的分子を接触させることを含む、当該標的分子に対して結合活性を有するペプチドの同定方法。
〔２７〕
前記アンチコドンがライシジンを含まない、〔１〕から〔１８〕のいずれかに記載の翻訳系。
〔２８〕
前記アンチコドンがライシジン誘導体を含まない、〔１〕から〔１８〕および〔２７〕のいずれかに記載の翻訳系。
〔２９〕
前記アンチコドンがアグマチジンを含まない、〔１〕から〔１８〕、〔２７〕および〔２８〕のいずれかに記載の翻訳系。
〔３０〕
前記アンチコドンがアグマチジン誘導体を含まない、〔１〕から〔１８〕および〔２７〕から〔２９〕のいずれかに記載の翻訳系。
〔３１〕
M_1M_2Aで表されるコドンおよびM_1M_2Gで表されるコドンを含む核酸をさらに含む、〔１〕から〔１８〕および〔２７〕から〔３０〕のいずれかに記載の翻訳系。
〔３２〕
前記核酸が、（ｉ）M_1M_2Uで表されるコドン、M_1M_2Aで表されるコドン、およびM_1M_2Gで表されるコドン、または、（ｉｉ）M_1M_2Cで表されるコドン、M_1M_2Aで表されるコドン、およびM_1M_2Gで表されるコドンを含む、〔３１〕に記載の翻訳系。
【手続補正３】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】００１２
【補正方法】変更
【補正の内容】
【００１２】
また本開示は、以下〔２０１〕～〔２１８〕に例示的に記載する実施態様を包含するものである。
〔２０１〕
ペプチドを製造するためのキットまたは組成物であって、
M_1M_2Aで表されるコドンに相補的なアンチコドンを有するtRNA、およびM_1M_2Gで表されるコドンに相補的なアンチコドンを有するtRNAを含み、
M_1およびM_2はそれぞれコドンの1文字目および2文字目のヌクレオシドを表し、M_1およびM_2はそれぞれ独立にアデノシン（A）、グアノシン（G）、シチジン（C）、ウリジン（U）のいずれかから選択され、
前記2種類のtRNAにはそれぞれ互いに異なるアミノ酸またはアミノ酸類縁体が結合している、前記キットまたは組成物。
〔２０２〕
M_1M_2U、M_1M_2C、M_1M_2A、およびM_1M_2Gによって構成されるコドンボックスから、少なくとも2種類のアミノ酸またはアミノ酸類縁体が翻訳可能である、〔２０１〕に記載のキットまたは組成物。
〔２０３〕

ペプチドを製造するためのキットまたは組成物であって、
（ｉ）M_1M_2Uで表されるコドンに相補的なアンチコドンを有するtRNA、M_1M_2Aで表されるコドンに相補的なアンチコドンを有するtRNA、およびM_1M_2Gで表されるコドンに相補的なアンチコドンを有するtRNA、または、
（ｉｉ）M_1M_2Cで表されるコドンに相補的なアンチコドンを有するtRNA、M_1M_2Aで表されるコドンに相補的なアンチコドンを有するtRNA、およびM_1M_2Gで表されるコドンに相補的なアンチコドンを有するtRNAを含み、
M_1およびM_2はそれぞれコドンの1文字目および2文字目のヌクレオシドを表し、M_1およびM_2はそれぞれアデノシン(A)、グアノシン(G)、シチジン(C)、ウリジン(U)のいずれかから独立に選択され、
前記（ｉ）および（ｉｉ）における3種類のtRNAにはそれぞれ互いに異なるアミノ酸またはアミノ酸類縁体が結合している、前記キットまたは組成物。
〔２０４〕
M_1M_2U、M_1M_2C、M_1M_2A、およびM_1M_2Gによって構成されるコドンボックスから、少なくとも3種類のアミノ酸またはアミノ酸類縁体が翻訳可能である、〔２０１〕から〔２０３〕のいずれかに記載のキットまたは組成物。
〔２０５〕
M_1およびM_2が以下の（i）から(x)のいずれかである、〔２０１〕から〔２０４〕のいずれかに記載のキットまたは組成物：
(i) M_1がウリジン(U)であり、M_2がウリジン(U)である、
(ii) M_1がウリジン(U)であり、M_2がアデノシン(A)である、
(iii) M_1がウリジン(U)であり、M_2がグアノシン(G)である、
(iv) M_1がシチジン(C)であり、M_2がアデノシン(A)である、
(v) M_1がシチジン(C)であり、M_2がグアノシン(G)である、
(vi) M_1がアデノシン(A)であり、M_2がウリジン(U)である、
(vii) M_1がアデノシン(A)であり、M_2がシチジン(C)である、
(viii) M_1がアデノシン(A)であり、M_2がアデノシン(A)である、
(ix) M_1がアデノシン(A)であり、M_2がグアノシン(G)である、または
(x) M_1がグアノシン(G)であり、M_2がアデノシン(A)である。
〔２０６〕
M_1およびM_2が以下の（i）から(vii)のいずれかである、〔２０５〕に記載のキットまたは組成物:
(i) M_1がウリジン(U)であり、M_2がウリジン(U)である、
(ii) M_1がウリジン(U)であり、M_2がグアノシン(G)である、
(iii) M_1がシチジン(C)であり、M_2がアデノシン(A)である、
(iv) M_1がシチジン(C)であり、M_2がグアノシン(G)である、
(v) M_1がアデノシン(A)であり、M_2がアデノシン(A)である、
(vi) M_1がアデノシン(A)であり、M_2がグアノシン(G)である、または
(vii) M_1がグアノシン(G)であり、M_2がアデノシン(A)である。
〔２０７〕
前記tRNAの一コドンあたりの濃度が、（i）0.8～1000 μM、（ii）1.6～500 μM、（iii）3.2～250 μM、（iv）6.4～150 μM、または（v）10～100 μMのいずれかである、〔２０１〕から〔２０６〕のいずれかに記載のキットまたは組成物。
〔２０８〕
前記アミノ酸が、天然アミノ酸または非天然アミノ酸である、〔２０１〕から〔２０７〕のいずれかに記載のキットまたは組成物。
〔２０９〕
前記tRNAが開始tRNAまたは伸長tRNAである、〔２０１〕から〔２０８〕のいずれかに記載のキットまたは組成物。
〔２１０〕

前記tRNAが原核生物由来または真核生物由来のtRNAである、〔２０１〕から〔２０９〕のいずれかに記載のキットまたは組成物。

〔２１１〕

前記アンチコドンが、アデノシン(A)、グアノシン(G)、シチジン(C)、またはウリジン(U)のいずれか1種または複数種のヌクレオシドを含む、〔２０１〕から〔２１０〕のいずれかに記載のキットまたは組成物。

〔２１２〕

一つの遺伝暗号表から、20種類より多くのアミノ酸を翻訳可能である、〔２０１〕から〔２１１〕のいずれかに記載のキットまたは組成物。

〔２１３〕

翻訳系が無細胞翻訳系である、〔２０１〕から〔２１２〕のいずれかに記載のキットまたは組成物。

〔２１４〕

翻訳系が再構成型の無細胞翻訳系である、〔２１３〕に記載のキットまたは組成物。

〔２１５〕

翻訳系が大腸菌由来のリボソームを含む、〔２１３〕または〔２１４〕に記載のキットまたは組成物。

〔２１６〕

前記tRNAが、翻訳系外で前記アミノ酸またはアミノ酸類縁体と結合されたものである、〔２０１〕から〔２１５〕のいずれかに記載のキットまたは組成物。

〔２１７〕

前記tRNAのうち、M_1M_2Aで表されるコドンに相補的なアンチコドンを有するtRNA、およびM_1M_2Gで表されるコドンに相補的なアンチコドンを有するtRNAが、翻訳系外で前記アミノ酸またはアミノ酸類縁体と結合されたものである、〔２０１〕から〔２１６〕のいずれかに記載のキットまたは組成物。

〔２１８〕

前記tRNAが、pCpA法、pdCpA法、人工RNA触媒（フレキシザイム）を用いた方法、またはアミノアシルtRNA合成酵素（ARS）を用いた方法によって得られるものである、〔２０１〕から〔２１７〕のいずれかに記載のキットまたは組成物。

【手続補正４】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】０１８６

【補正方法】変更

【補正の内容】

【０１８６】

一局面において、本開示は、ペプチドライブラリーの製造方法であって、本開示における翻訳系を用いて核酸ライブラリーを翻訳することを含む方法を提供する。ペプチドをそれぞれコードする核酸分子であって、核酸配列の多様性に富んだ複数の核酸分子を用意し、それらをそれぞれペプチドに翻訳することによって、アミノ酸配列の多様性に富んだ複数のペプチド分子を製造することができる。ライブラリーのサイズは特に限定されないが、例えば、10^6以上、10^7以上、10^8以上、10^9以上、10^{10}以上、10^{11}以上、10^{12}以上、10^{13}以上、10^{14}以上などであることができる。核酸はDNAであってもよいし、RNAであってもよい。RNAは通常mRNAである。DNAはmRNAへの転写を介してペプチドへの翻訳が行われる。そのような核酸ライブラリーは、当業者に公知の方法またはそれに準ずる方法によって調製することができる。核酸ライブラリーを合成する際、所望の位置に混合塩基を用いることによって、核酸配列の多様性に富んだ複数の核酸分子を容易に調製することができる。混合塩基を用いたコドンの例として、例えばNNN（ここで、NはA、T、G、Cの4塩基の混合を表す）やNNW（ここで、WはA、Tの2塩基の混合を表す）、NNM（ここで、MはA、Cの2塩基の混合を表す）、NNK（ここで、KはG、Tの2塩基の混合を表す）、NNS（ここで、SはC、Gの2塩基の混合を表す）などを挙げることがで

きる。あるいは、コドンの3文字目で用いられる塩基を、A、T、G、Cのうちのいずれか1種類に限定することで、一部の特定のアミノ酸のみがコードされた核酸ライブラリーを合成することも可能である。さらに、混合塩基を含むコドンを作成する際、複数の塩基を等比ではなく異なる比率で混合することによって、そのコドンから得られるアミノ酸の出現頻度を任意に調節することも可能である。上記のようなコドンを１単位（ユニット）として、種類の異なるコドンユニットを複数用意し、それらを所望の順序で連結すれば、含まれるアミノ酸の出現位置や出現頻度が制御されたライブラリーをデザインすることも可能となる。

【手続補正５】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】０２２３
【補正方法】変更
【補正の内容】
【０２２３】
(S)-2-((((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)アミノ)-3-(ピリジン-3-イル)プロパン酸(15g、38.62 mmol)、トリフルオロ酢酸(27 mL、348 mmol)およびパラホルムアルデヒド($(CH_2O)_n$)(3.48g、116 mmol)をトルエン(50 mL)に懸濁させ、窒素雰囲気下、40℃で16時間撹拌した。室温へと冷却後、反応液を減圧濃縮した。残渣をDCMに溶解し、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液で洗浄した。有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、ろ過および減圧濃縮することで溶媒を除去し、(S)-5-オキソ-4-(ピリジン-3-イルメチル)オキサゾリジン-3-カルボン酸(9H-フルオレン-9-イル)メチルを粗生成物として得た。

得られた粗生成物である(S)-5-オキソ-4-(ピリジン-3-イルメチル)オキサゾリジン-3-カルボン酸 (9H-フルオレン-9-イル)メチル(18g、44.95 mmol)をジクロロエタン(100 mL)に溶解し、トリエチルシラン(Et_3SiH)(47g、404.20 mmol)およびトリフルオロ酢酸(100 mL)を室温で加えた。反応液を窒素雰囲気下、70℃で16時間撹拌した後、反応液を減圧濃縮した。得られた残渣を酢酸イソプロピルに溶解し、t-ブチルメチルエーテルとヘキサンの混合溶液(9:1)を加えた。その溶液を室温で20分間撹拌した後、4℃にて1時間静置した。生じた沈殿物をろ過にて回収し、冷却したt-ブチルメチルエーテルとヘキサンの混合溶液(9:1)で洗浄し、(S)-2-((((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)(メチル)アミノ)-3-(ピリジン-3-イル)プロパン酸化合物 2,2,2-トリフルオロ酢酸塩(化合物SS52、Fmoc-MeA3Pyr-OH・TFA)(19 g、95%)を得た。
LCMS(ESI) m/z = 403 (M＋H)＋
保持時間：0.77分(分析条件SMD method1)