

【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 19 年 11 月 22 日 (2007.11.22)

【公表番号】特表 2007-507238(P2007-507238A)

【公表日】平成 19 年 3 月 29 日 (2007.3.29)

【年通号数】公開・登録公報 2007-012

【出願番号】特願 2006-534241(P2006-534241)

【国際特許分類】

C 1 2 Q 1/68 (2006.01)

C 1 2 Q 1/00 (2006.01)

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

【F I】

C 1 2 Q 1/68 A

C 1 2 Q 1/00 Z

C 1 2 N 15/00 A

【手続補正書】

【提出日】平成 19 年 10 月 2 日 (2007.10.2)

【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】

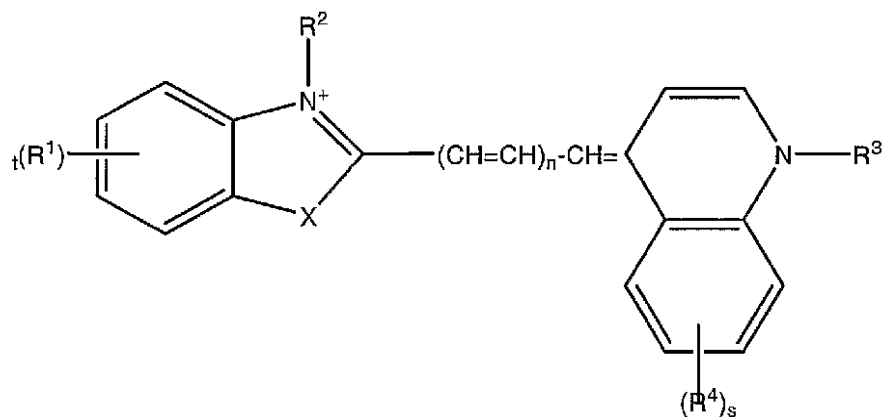
【特許請求の範囲】

【請求項 1】

サンプル中の核酸の存在または非存在を決定するための方法であって、ここで該方法が、以下：

a) 非対称のシアニン色素化合物をサンプルと合わせて標識混合物を調製する工程であって、ここで該サンプルが固体または半固体の支持体上に固定化され、そして該非対称のシアニン色素化合物が式

【化 1】



を有し；

ここで X は O、S、または C(CH₃)₂ であり；

R¹ は縮合されたベンゼン、メトキシ、C₁ ~ C₆ アルキルであり；

R² および R³ は独立して C₁ ~ C₆ アルキルであり；

R⁴ は C₁ ~ C₆ アルキルまたはメトキシであり；

t は独立して 0、1、2、3 または 4 であり；

s は独立して 0、1、2、3 または 4 であり、そして

n は 0、1、2 または 3 である工程；

b) 該標識混合物を、該非対称のシアニン色素化合物が該核酸と会合して、インキュベートされたサンプルを調製するために十分な時間、インキュベートする工程；

c) 該インキュベートされたサンプルに適切な波長を照射して、照射されたサンプルを調製する工程；および

d) 該照射されたサンプルを観察する工程であって、それによって該核酸の存在または非存在が決定される工程；

を包含する方法であって、ただし、該支持体がポリマーのゲルである場合、該非対称のシアニン色素化合物はチアゾールオレンジではない、方法。

【請求項 2】

請求項 1 に記載の方法であって、ここで、前記核酸が一本鎖 RNA、二本鎖 RNA、一本鎖 DNA、二本鎖 DNA、またはそれらの組み合わせである、方法。

【請求項 3】

前記核酸が DNA である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 4】

前記サンプルが固定化される前に、前記非対称のシアニン色素化合物が前記核酸と合わせられる、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 5】

固定化の間に、前記非対称のシアニン色素化合物が前記サンプルと合わせられる、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 6】

前記核酸が固定化された後に、前記非対称のシアニン色素化合物が前記核酸と合わせられる、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 7】

前記固体または半固体の支持体が、ポリマーのゲル、膜、アレイ、ガラスビーズ、スライドガラス、またはポリマーの微小粒子である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 8】

前記固体または半固体の支持体が、アガロースゲルまたはポリアクリルアミドゲルである、請求項 1 に記載の方法。

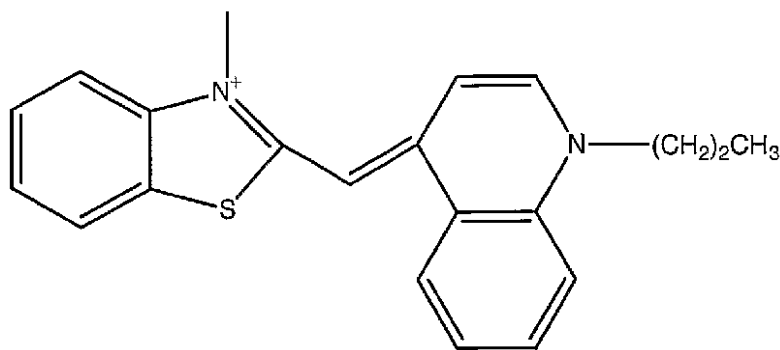
【請求項 9】

前記非対称のシアニン色素化合物が、ポリマーの膜上に固定化される、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 10】

請求項 1 に記載の方法であって、ここで前記シアニン色素が式

【化 2】



を有し、そして真核生物細胞中で本質的に非遺伝子毒性であるとして特徴付けられる、方法。

【請求項 11】

前記核酸が、アガロースゲルまたはポリアクリルアミドゲル上に固定化された DNA であ

る、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 1 2】

サンプル中の核酸の存在または非存在を決定するための方法であって、ここで該方法が、以下；

a) 本質的に非遺伝子毒性であるとして特徴付けられる非対称のシアニン色素化合物をサンプルと合わせて、標識混合物を調製する工程であって、ここで該サンプルは固体または半固体の支持体上に固定化される、工程；

b) 該標識混合物を、該色素が該核酸と会合して、インキュベートされたサンプルを調製するために十分な時間、インキュベートする工程；

c) 該インキュベートされたサンプルに適切な波長を照射して、照射されたサンプルを調製する工程；および

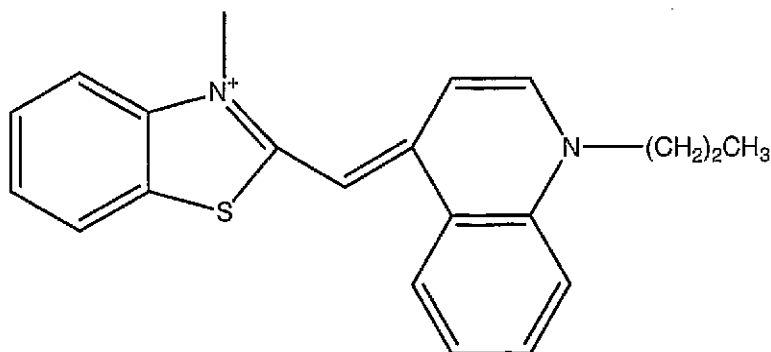
d) 該照射されたサンプルを観察する工程であって、それによって該核酸の存在または非存在が決定される工程；

を包含する方法であって、ただし、該支持体がポリマーのゲルである場合、該シアニン色素化合物はチアゾールオレンジではない、方法。

【請求項 1 3】

前記シアニン色素化合物が式

【化 3】



を有する、請求項 1 2 に記載の方法。

【請求項 1 4】

前記シアニン色素が、前記サンプルが固定化される前に前記核酸と合わせられる、請求項 1 2 に記載の方法。

【請求項 1 5】

前記シアニン色素が、固定化の間に前記核酸と合わせられる、請求項 1 2 に記載の方法。

【請求項 1 6】

前記シアニン色素が、前記サンプルが固定化された後に前記核酸と合わせられる、請求項 1 2 に記載の方法。

【請求項 1 7】

前記核酸が DNA である、請求項 1 2 に記載の方法。

【請求項 1 8】

前記固体または半固体の支持体が、ポリマーのゲル、膜、アレイ、ガラス、およびポリマーの微小粒子である、請求項 1 2 に記載の方法。

【請求項 1 9】

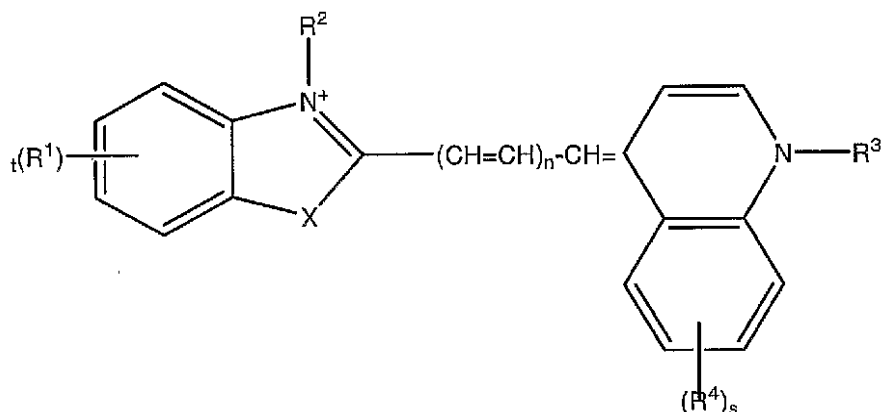
前記ポリマーのゲルが、アガロースゲルまたはポリアクリルアミドゲルである、請求項 1 2 に記載の方法。

【請求項 2 0】

固体または半固体の支持体上の固定化された核酸の存在または非存在を決定するための染色溶液であって、ここで該溶液が以下；

e) 式

【化 4】



を有する、非対称のシアニン色素化合物であって、

ここで X は O、S、または $C(CH_3)_2$ であり；

R^1 は縮合されたベンゼン、メトキシ、 $C_1 \sim C_6$ アルキルであり；

R^2 および R^3 は独立して $C_1 \sim C_6$ アルキルであり；

R^4 は $C_1 \sim C_6$ アルキルまたはメトキシであり；

t は独立して 0、1、2、3 または 4 であり；

s は独立して 0、1、2、3 または 4 であり、ならびに

n は 0、1、2 または 3 である非対称のシアニン色素化合物；ならびに

a) トリスホウ酸緩衝液または酢酸トリス緩衝液；

を含む溶液であって、ただし、該シアニン色素化合物がチアゾールオレンジではない、溶液。

【請求項 2 1】

さらに、ポリマー化されていないアガロースまたはポリアクリルアミドを含む、請求項 2 0 に記載の染色溶液。

【請求項 2 2】

さらに、固体または半固体のマトリックスを含む、請求項 2 0 に記載の染色溶液。

【請求項 2 3】

前記シアニン色素が溶液中にあるか、あるいは固体または半固体のマトリックス上に固定化される、請求項 2 0 に記載の染色溶液。

【請求項 2 4】

前記染色溶液が、約 6 ～ 約 8 の pH を有する、請求項 2 0 に記載の染色溶液。

【請求項 2 5】

前記核酸が、一本鎖 RNA、二本鎖 RNA、一本鎖 DNA、二本鎖 DNA、またはそれらの組み合わせである、請求項 2 0 に記載の染色溶液。

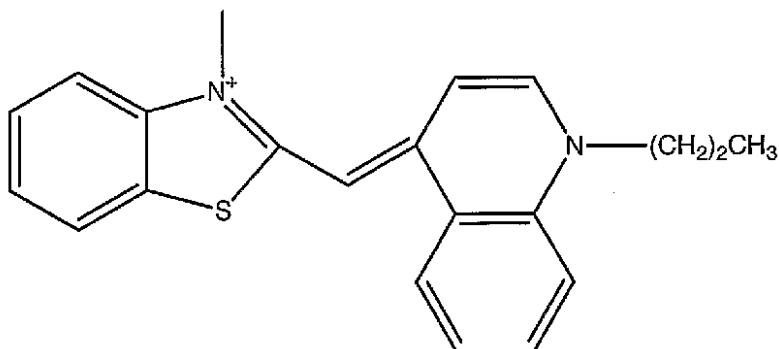
【請求項 2 6】

前記核酸が DNA である、請求項 2 0 に記載の染色溶液。

【請求項 2 7】

前記シアニン色素が、式

【化 5】



を有し、そして真核生物細胞中で本質的に非遺伝子毒性であるとして特徴付けられる、請求項 20 に記載の染色溶液。

【請求項 28】

前記核酸が、アガロースゲルまたはポリアクリルアミドゲル上に固定化された DNA である、請求項 20 に記載の染色溶液。

【請求項 29】

固定化された核酸の存在または非存在を決定するための染色溶液であって、ここで該溶液が以下：

a) 真核生物細胞中で本質的に非遺伝子毒性であるとして特徴付けられる、非対称のシアニン色素化合物；および

b) 酢酸トリス緩衝液、またはトリスホウ酸緩衝液

を含む、染色溶液。

【請求項 30】

さらに、ポリマー化されていないアガロースまたはポリアクリルアミドを含む、請求項 29 に記載の染色溶液。

【請求項 31】

さらに、固体または半固体のマトリックスを含む、請求項 29 に記載の染色溶液。

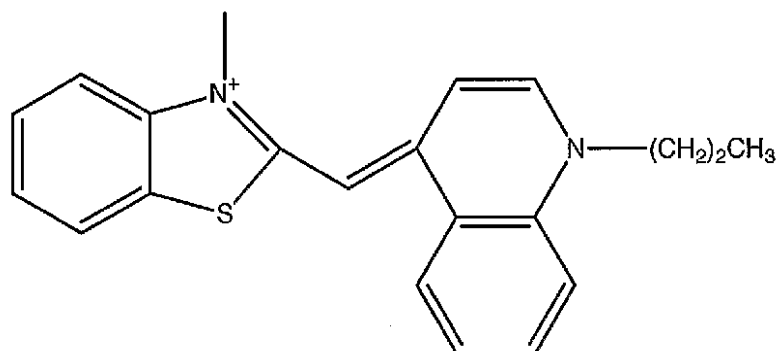
【請求項 32】

前記シアニン色素が溶液中にあるか、あるいは固体または半固体のマトリックス上に固定化される、請求項 29 に記載の染色溶液。

【請求項 33】

前記シアニン色素が、式

【化 6】



を有する、請求項 29 に記載の染色溶液。

【請求項 34】

前記緩衝液が、約 6 ～ 約 8 の pH を有する、請求項 29 に記載の染色溶液。

【請求項 35】

前記核酸が一本鎖または二本鎖の RNA または一本鎖または二本鎖の DNA、あるいはそれらの組み合わせである、請求項 29 に記載の染色溶液。

【請求項 36】

前記核酸がDNAである、請求項 35 に記載の溶液。

【請求項 37】

固体または半固体の支持体上に固定化された核酸の検出のための化合物であって、ここで該化合物が、真核生物細胞中で本質的に非遺伝子毒性であるとして特徴付けられる、非対称のシアニン色素化合物である、化合物。

【請求項 38】

前記化合物が水溶液中にある、請求項 37 に記載の化合物。

【請求項 39】

前記化合物が、固体または半固体マトリックス上に固定化されているか、または固体または半固体マトリックス中にある、請求項 37 に記載の化合物。

【請求項 40】

前記固体または半固体のマトリックスがアガロースを含む、請求項 39 に記載の化合物。

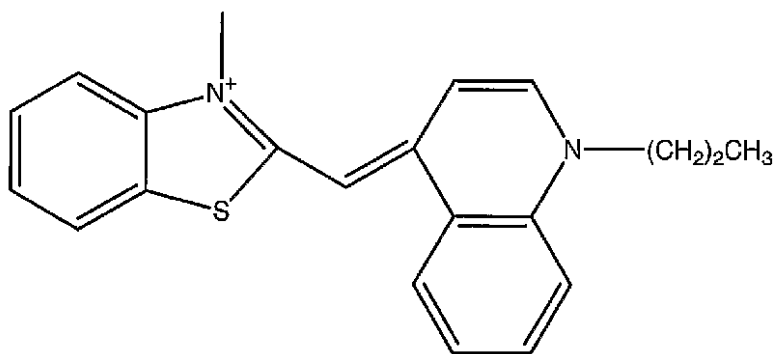
【請求項 41】

前記固体または半固体のマトリックスがポリマーの膜である、請求項 39 に記載の化合物。

【請求項 42】

前記シアニン化合物が、式

【化 7】



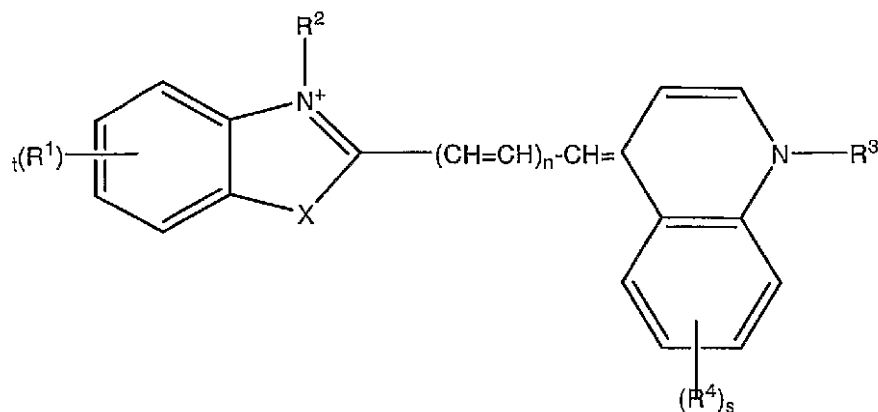
を有する、請求項 37 に記載の化合物。

【請求項 43】

固定化された核酸を検出するためのキットであって、該キットが以下：

f) 式

【化 8】



を有する化合物であって、

ここで X は O、S、または $C(CH_3)_2$ であり；

R^1 は縮合されたベンゼン、メトキシ、 $C_1 \sim C_6$ アルキルであり；

R^2 および R^3 は独立して $C_1 \sim C_6$ アルキルであり；

R^4 は $C_1 \sim C_6$ アルキルまたはメトキシであり；

t は独立して 0、1、2、3 または 4 であり；

s は独立して 0、1、2、3 または 4 であり、そして、

n は 0、1、2 または 3 である化合物；

を備えるキットであって、ただし、該シアニン色素化合物がチアゾールオレンジではない、キット。

【請求項 44】

前記化合物が水溶液中にある、請求項 43 に記載のキット。

【請求項 45】

前記水溶液がトリスホウ酸または酢酸トリスを含む、請求項 44 に記載のキット。

【請求項 46】

前記化合物がアルコールまたは DMSO に溶解される、請求項 43 に記載のキット。

【請求項 47】

前記化合物が、固体または半固体のマトリックス上に固定化される、請求項 43 に記載のキット。

【請求項 48】

前記マトリックスがアガロースを含む、請求項 47 に記載のキット。

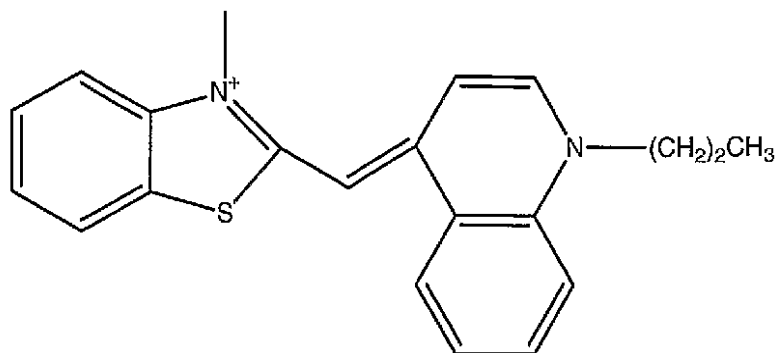
【請求項 49】

前記マトリックスがポリマーの膜である、請求項 47 に記載のキット。

【請求項 50】

前記化合物が

【化 9】



であり、そして本質的に非遺伝子毒性であるとして特徴付けられる、請求項 43 に記載のキット。