

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7588115号
(P7588115)

(45)発行日 令和6年11月21日(2024.11.21)

(24)登録日 令和6年11月13日(2024.11.13)

(51)国際特許分類 F I
C 0 8 F 220/60 (2006.01) C 0 8 F 220/60
C 0 9 D 133/14 (2006.01) C 0 9 D 133/14

請求項の数 12 外国語出願 (全71頁)

(21)出願番号	特願2022-100473(P2022-100473)	(73)特許権者	502279294 イルミナ ケンブリッジ リミテッド 英国シービー21・6ディエフ、ケンブリッジシャー、ケンブリッジ、グレート・アピントン、グランタ・パーク19番
(22)出願日	令和4年6月22日(2022.6.22)	(74)代理人	100147485 弁理士 杉村 憲司
(62)分割の表示	特願2020-147738(P2020-147738)の分割	(72)発明者	アンドリュー エイ ブラウン イギリス国 エセックス州 シービー101 1 エックスエル エヌアール サフロン ワルデン リトル チェスターフォード チェスターフォード リサーチ パーク
原出願日	平成27年10月26日(2015.10.26)	(72)発明者	ウエイン エヌ ジョージ イギリス国 エセックス州 シービー101 1 エックスエル エヌアール サフロン 最終頁に続く
(65)公開番号	特開2022-130521(P2022-130521A)		
(43)公開日	令和4年9月6日(2022.9.6)		
審査請求日	令和4年7月8日(2022.7.8)		
(31)優先権主張番号	62/073,764		
(32)優先日	平成26年10月31日(2014.10.31)		
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)		

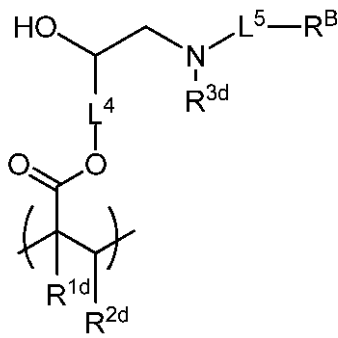
(54)【発明の名称】 新規のポリマーおよびDNAコポリマーコーティング

(57)【特許請求の範囲】

【請求項1】

式(V)の反復単位:

【化1】



(式中、R^{1d}およびR^{2d}は、それぞれ独立して、水素、任意に置換されたアルキル、または任意に置換されたフェニルから選択され、

R^{3d}は、それぞれ、水素、任意に置換されたアルキル、任意に置換されたフェニル、または任意に置換されたC₇₋₁₄アラルキルから選択され、

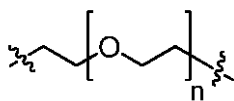
R^Bは、アジド、アミノ、Boc保護アミノ、ヒドロキシ、チオール、アルキニル、ア

ルケニル、ハロ、エポキシ、テトラジニル、またはアルデヒドから選択され、

L⁴は、独立して、任意に置換されたアルキレンリンカーまたは任意に置換されたヘテロアルキレンリンカーから選択され、

L⁵は、

【化2】



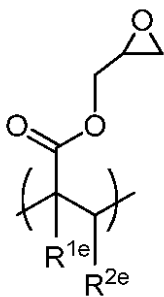
であり、式中、nは、1～50の整数である)

10

を含み、

式(VI a)の反復単位：

【化3】



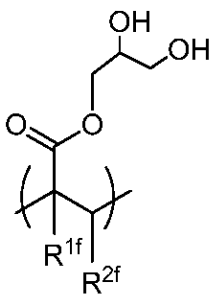
(VI a)

20

(式中、R^{1e}およびR^{2e}は、それぞれ独立して、水素、任意に置換されたアルキル、または任意に置換されたフェニルから選択される)、および/または

式(VI b)の反復単位：

【化4】



(VI b)

30

(式中、R^{1f}およびR^{2f}は、それぞれ独立して、水素、任意に置換されたアルキル、または任意に置換されたフェニルから選択される)

をさらに含む、エポキシ基またはノルボルネン基を有する基材の表面を官能化するためのポリマー。

40

【請求項2】

R^{1d}は、水素またはアルキルから選択される、請求項1に記載のポリマー。

【請求項3】

R^{2d}およびR^{3d}は、それぞれ水素である、請求項1または2に記載のポリマー。

【請求項4】

R^Bは、アジド、アミノ、もしくはBoc保護アミノ、またはそれらの組み合わせから選択される、請求項1～3の何れか一項に記載のポリマー。

【請求項5】

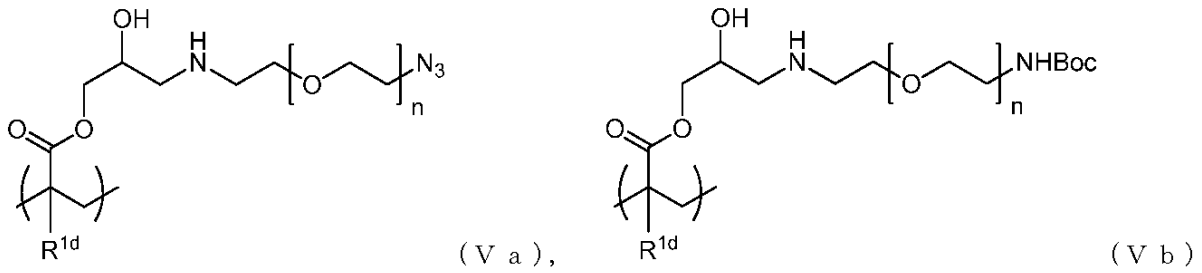
L⁴は、メチレンリンカーである、請求項1に記載のポリマー。

50

【請求項 6】

前記式 (V) の反復単位は、式 (V a) もしくは式 (V b) またはその両方：

【化 5】



10

(式中、 R^{1d} は、それぞれ独立して水素またはメチルから選択される) によって表される、請求項 1 ~ 5 の何れか一項に記載のポリマー。

【請求項 7】

n は 3 である、請求項 1 または 6 に記載のポリマー。

【請求項 8】

R^{1e} および R^{1f} は、それぞれ、水素またはアルキルから選択される、請求項 1 ~ 7 の何れか一項に記載のポリマー。

【請求項 9】

R^{2e} および R^{2f} は、それぞれ水素である、請求項 1 ~ 8 の何れか一項に記載のポリマー。

20

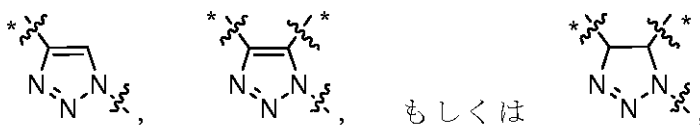
【請求項 10】

請求項 1 ~ 5 の何れか一項に記載のポリマーの前記式 (V) の反復単位の R^B が共有結合した第 1 表面を備え、 R^B はアジドまたはアミノである、基材。

【請求項 11】

前記ポリマーと前記第 1 表面との間の共有結合は、前記ポリマーの前記式 (V) の反復単位の R^B がアジドである場合、構造部分

【化 6】

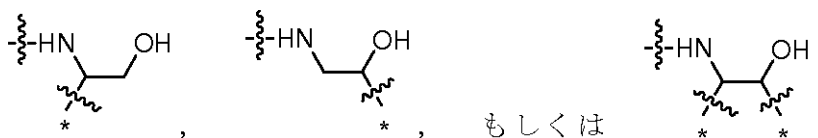


30

またはそれらの組み合わせを含み、または

前記ポリマーの前記式 (V) の反復単位の R^B がアミノである場合、構造部分

【化 7】



40

またはそれらの組み合わせを含み、

式中、* は、前記ポリマーの、前記基材の第 1 表面との連結点を示すとともに、HN 基は、式 (V) の反復単位のアミノに由来し、

前記ポリマーは、前記式 (V) の反復単位が、構造

50

概して本出願は、化学、生物学、および物質科学の分野に関する。具体的には、本出願は、基材表面の官能化、ならびに、DNAシーケンシングおよび他の診断用途といった下流用途をサポートする、新規のポリマーコーティングおよびグラフト化DNAコポリマーに関する。そのような官能化表面を調製する方法およびその使用も開示する。

【背景技術】

【0003】

ポリマーまたはハイドロゲルによってコーティングされた基材は、多くの技術的用途で用いられる。例えば、移植医療機器を生物学的に不活性なポリマーでコーティングすることが可能である。別の例では、ポリマーまたはハイドロゲルによってコーティングされた基材が、生体分子の調製および/または解析のために用いられる。ある核酸シーケンシング法などの分子解析は、ポリマーまたはハイドロゲルによってコーティングされた基材表面に対する核酸鎖の結合に依存する。結合した核酸鎖の配列は、次に、当技術分野で周知であるいくつかの異なる方法により決定され得る。

10

【0004】

あるシーケンシング - パイ - シンセシス (「SBS」) プロセスでは、フローセルの1つまたは複数の表面をポリマーまたはハイドロゲルでコーティングし、次に、これにプライマー (一本鎖DNA、つまりssDNA) をグラフト化する。しかしながら、コーティング、グラフト化、および品質管理のステップの実行に関連し、固有の費用が存在する。

【発明の概要】

【0005】

本願は、SBSアプリケーション、および、プライマーポリマー結合ステップが初期のポリマー合成に組み込まれているプロセスに有用な、ポリマーコーティングを開示する。これは、シーケンシングフローセルまたはSBSに用いられる他の基材を製造するために行われるグラフト化プロセスの一部またはすべてを無くすることができる。これらのプロセスは、下流の生化学へのプライマーの接近可能性を最大にし、副反応を最小にし、より効率的な界面化学をもたらすことができる。本明細書で開示するコーティングおよびプロセスは、限定されるわけではないが、核酸および他の生物活性分子の合成または検出に用いられるものを含む、他の解析装置およびプロセスに有用である。

20

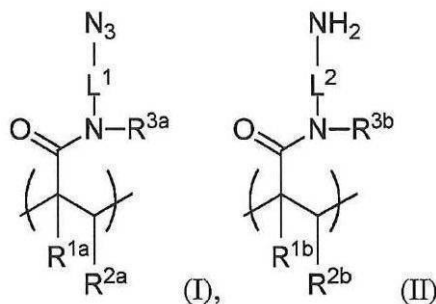
【0006】

本明細書に記載する一部の実施形態は、式(I)の反復単位および式(II)の反復単位を含む、表面官能化のためのポリマーに関する。

30

【0007】

【化1】



40

【0008】

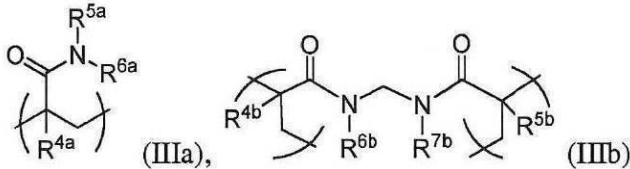
式中、R^{1a}、R^{2a}、R^{1b}、およびR^{2b}は、それぞれ独立して、水素、任意に置換されたアルキルまたは任意に置換されたフェニルから選択され、R^{3a}およびR^{3b}は、それぞれ独立して、水素、任意に置換されたアルキル、任意に置換されたフェニル、または任意に置換されたC₇₋₁₄アラルキルから選択され、L¹およびL²は、それぞれ独立して、任意に置換されたアルキレンリンカーまたは任意に置換されたヘテロアルキレンリンカーから選択される。一部の実施形態では、ポリマーはさらに、ポリアクリルアミ

50

ド、ポリアクリレート、ポリウレタン、ポリシロキサン、シリコーン、ポリアクロレイン、ポリホスファゼン、ポリイソシアネート、ポリオール、およびポリサッカライドからなる群から選択される反復単位もしくはそれらの組み合わせを、1つまたは複数含むことができる。一部のそのような実施形態では、ポリマーはさらに、式(IIIa)もしくは式(IIIb)またはその両方のポリアクリルアミドの反復単位を1つまたは複数含む得る。

【0009】

【化2】



10

【0010】

式中、 R^{4a} 、 R^{4b} 、および R^{5b} は、それぞれ、水素または $C_1 \sim 3$ アルキルから選択され、 R^{5a} 、 R^{6a} 、 R^{6b} 、および R^{7b} は、それぞれ独立して、水素、任意に置換された $C_1 \sim 6$ アルキル、または任意に置換されたフェニルから選択される。

【0011】

本明細書に記載の一部の実施形態は、本明細書に記載するように、式(I)の反復単位および式(II)の反復単位を有するポリマーを含む第1表面を備える基材に関する。一部の実施形態では、ポリマーはさらに、上記の種々の異なるポリマー骨格の1つまたは複数の反復単位、例えば、式(IIIa)もしくは式(IIIb)またはその両方の反復単位を1つまたは複数含む得る。

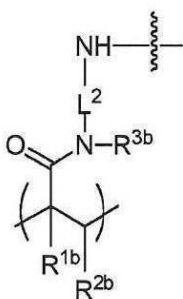
20

【0012】

一部の実施形態では、ポリマーが基材の第1表面に共有結合する際、式(II)の反復単位のアミノ基と基材の第1表面との間に少なくとも1つの共有結合が形成される。そのため、本明細書に記載するように、式(I)の反復単位および式(II)の反復単位を有するポリマーが共有結合している第1表面を備える基材はまた、基材表面との共有結合の位置を示す、構造

30

【化3】



40

の修飾反復単位を有するポリマーを含むと理解されるべきである。

【0013】

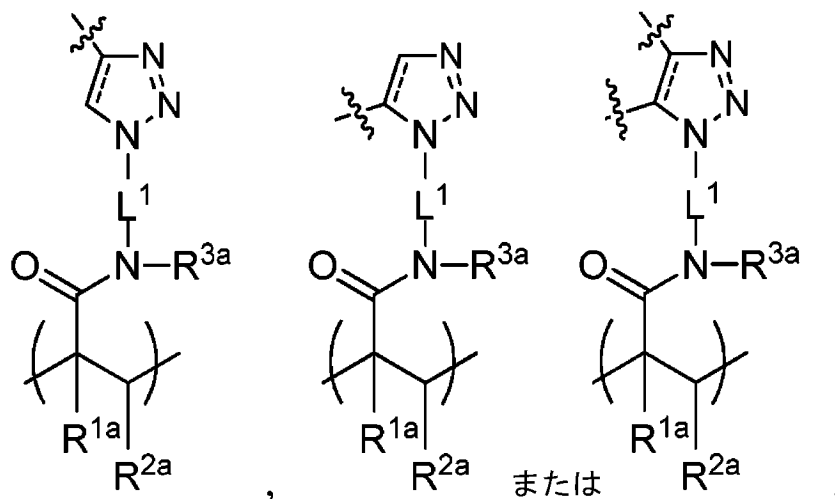
本明細書に記載の一部の実施形態は、本明細書に記載するように、式(I)の反復単位および式(II)の反復単位を有するポリマーに共有結合した官能化オリゴヌクレオチドを含む、グラフト化ポリマーに関する。一部の実施形態では、ポリマーはさらに、上記のような種々の異なるポリマー骨格の1つまたは複数の反復単位、例えば、式(IIIa)もしくは式(IIIb)またはその両方のポリアクリルアミドの1つまたは複数の反復単位を含む得る。

【0014】

50

一部の実施形態では、官能化オリゴヌクレオチドがポリマーに共有結合する場合、式 (I) の反復単位のアジド基と官能化オリゴヌクレオチドとの間の反応の結果として、少なくとも 2 つの共有結合が形成される。そのため、本明細書に記載するように、式 (I) の反復単位および式 (II) の反復単位のポリマーに共有結合した官能化オリゴヌクレオチドを含むグラフト化ポリマーには、官能化オリゴヌクレオチドとの共有結合の位置を示す構造

【化 4】



【化 5】

(——— は一重結合または二重結合である)

30

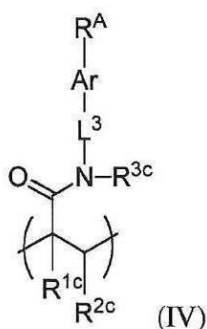
の修飾反復単位を有するポリマーも含まれることを理解されたい。

【0015】

本明細書に記載の一部の実施形態は、式 (IV) の反復単位を含む、表面官能化用のポリマーに関する。

【0016】

【化 6】



【0017】

式中、 R^{1c} および R^{2c} は、それぞれ独立して、水素、任意に置換されたアルキル、または任意に置換されたフェニルから選択され、 R^{3c} は、水素、任意に置換されたアルキル、任意に置換されたフェニル、または任意に置換された C_{7-14} アラルキルから選

50

択され、Arは、任意に置換されたC₆~10アリール、または任意に置換された5員もしくは6員ヘテロアリールから選択され、R^Aは、任意に置換されたテトラジンであり、L³は、一重結合、任意に置換されたアルキレンリンカー、または任意に置換されたヘテロアルキレンリンカーから選択される。一部の実施形態では、ポリマーはさらに、ポリアクリルアミド、ポリアクリレート、ポリウレタン、ポリシロキサン、シリコン、ポリアクロレイン、ポリホスファゼン、ポリイソシアネート、ポリオール、およびポリサッカライドからなる群から選択される反復単位もしくはそれらの組み合わせを、1つまたは複数含み得る。一部のそのような実施形態において、ポリマーはさらに、上記に示す構造を有する、式(III a)もしくは式(III b)またはその両方のポリアクリルアミドの反復単位を1つまたは複数含み得る。

10

【0018】

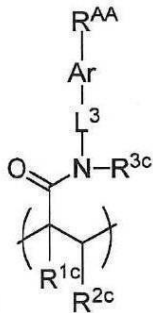
本明細書に記載する一部の実施形態は、本明細書に記載するように、式(IV)の反復単位を有するポリマーを含む第1表面を備える基材に関する。一部の実施形態では、ポリマーはさらに、上記のような種々の異なるポリマー骨格の反復単位、例えば、式(III a)もしくは式(III b)またはその両方のポリアクリルアミドの反復単位を1つまたは複数含み得る。

【0019】

一部の実施形態では、ポリマーが基材の第1表面に共有結合する際、式(IV)の反復単位のテトラジン基と基材の第1表面との間の反応の結果として、少なくとも2つの共有結合が形成される。一部の他の実施形態では、式(IV)の反復単位のテトラジン基の間に少なくとも2つの共有結合が形成される。そのため、本明細書に記載するように、式(IV)の反復単位を有するポリマーを含む第1表面を備える基材はまた、本明細書に記載するように、構造

20

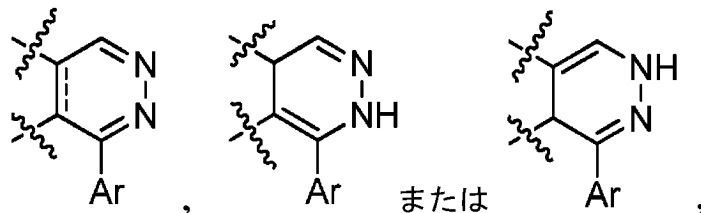
【化7】



30

(式中、Ar - R^{AA}部分は、基材表面との共有結合の位置を示す、

【化8】



40

から選択され、

50

【化 9】

----- は一重結合または二重結合である

R^AA は任意に置換され得る。) の修飾反復単位を有するポリマーを含むと理解されるべきである。

【0020】

本明細書に記載の一部の実施形態は、本明細書に記載するように、式(IV)の反復単位を有するポリマーに共有結合した官能化オリゴヌクレオチドを含む、グラフト化ポリマーに関する。一部の実施形態では、ポリマーはさらに、上記のような種々の異なるポリマー骨格の反復単位、例えば、式(IIIa)もしくは式(IIIb)またはその両方のポリアクリルアミドの反復単位を1つまたは複数含み得る。

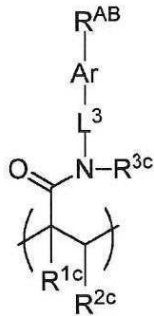
10

【0021】

一部の実施形態では、官能化オリゴヌクレオチドがポリマーに共有結合する際、式(V)の反復単位のテトラジン基と官能化オリゴヌクレオチドとの間の反応の結果として、少なくとも2つの共有結合が形成される。そのため、本明細書に記載するように、式(V)の反復単位のポリマーに共有結合した官能化オリゴヌクレオチドを含むグラフト化ポリマーには、構造

20

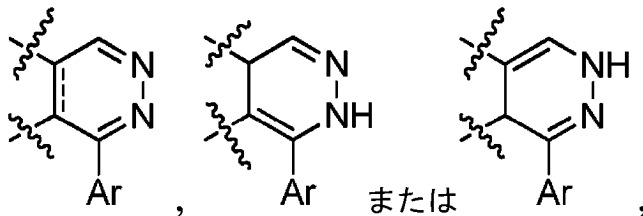
【化10】



30

(式中、Ar - R^AB部分は、オリゴヌクレオチドとの共有結合の位置を示す、

【化11】



40

から選択され、

【化12】

----- は一重結合または二重結合である

50

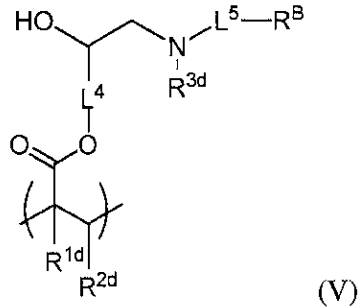
$R^A R^B$ は任意に置換され得る。)の修飾反復単位を有するポリマーも含まれることを理解されたい。

【0022】

本明細書に記載の一部の実施形態は、式(V)の反復単位を含む、表面官能化のためのポリマーに関する。

【0023】

【化13】



10

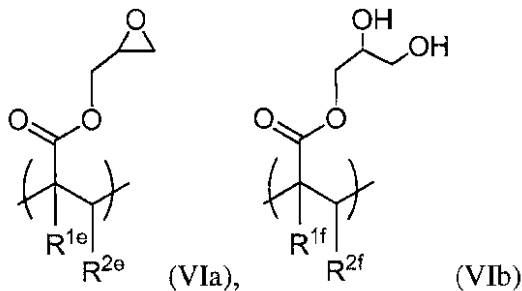
【0024】

式中、 R^{1d} および R^{2d} は、それぞれ独立して、水素、任意に置換されたアルキル、または任意に置換されたフェニルから選択され、 R^{3d} は、それぞれ、水素、任意に置換されたアルキル、任意に置換されたフェニル、または任意に置換された C_{7-14} アラルキルから選択され、 R^B は、アジド、任意に置換されたアミノ、Boc保護アミノ、ヒドロキシ、チオール、アルキニル、アルケニル、ハロ、エポキシ、テトラジニル、またはアルデヒドから選択され、 L^4 および L^5 は、それぞれ独立して、任意に置換されたアルキレンリンカーまたは任意に置換されたヘテロアルキレンリンカーから選択される。一部の実施形態では、ポリマーはさらに、式(VIa)もしくは式(VIb)またはその両方の反復単位を含み得る。

20

【0025】

【化14】



30

【0026】

式中、 R^{1e} 、 R^{2e} 、 R^{1f} 、および R^{2f} は、それぞれ独立して、水素、任意に置換されたアルキル、または任意に置換されたフェニルから選択される。一部の実施形態では、ポリマーはさらに、ポリアクリルアミド、ポリアクリレート、ポリウレタン、ポリシロキサン、シリコーン、ポリアクロレイン、ポリホスファゼン、ポリイソシアネート、ポリオール、およびポリサッカライドからなる群から選択される反復単位もしくはそれらの組み合わせを、1つまたは複数含み得る。

40

【0027】

本明細書に記載の一部の実施形態は、本明細書に記載するように、式(V)の反復単位を有するポリマーを含む第1表面を備える基材に関する。一部の実施形態では、ポリマーはさらに、式(VIa)もしくは式(VIb)またはその両方の反復単位を含み得る。一

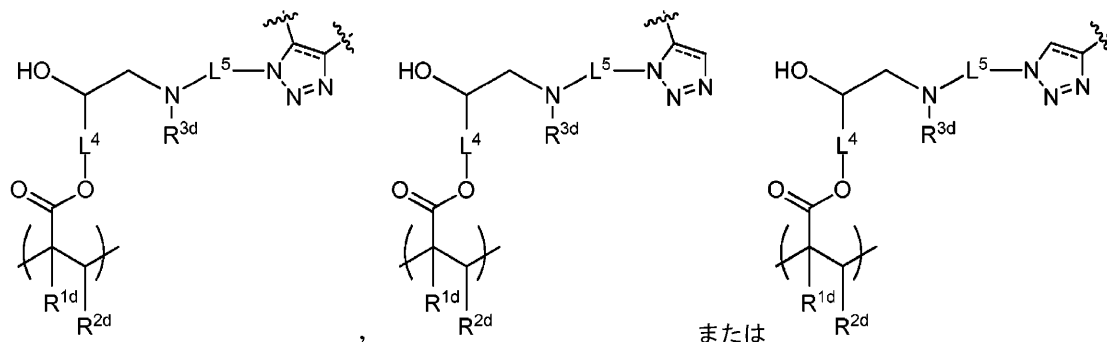
50

部の実施形態では、ポリマーはさらに、上記の種々の異なるポリマー骨格の反復単位を1つまたは複数含み得る。

【0028】

一部の実施形態では、ポリマーが基材の第1表面に共有結合する際、式(V)の反復単位のアジド基と基材の第1表面との間の反応の結果として少なくとも2つの共有結合が形成される。そのため、本明細書に記載するように、式(V)の反復単位を有するポリマーが共有結合した第1表面を備える基材はまた、基材表面との共有結合の位置を示す、構造

【化15】



10

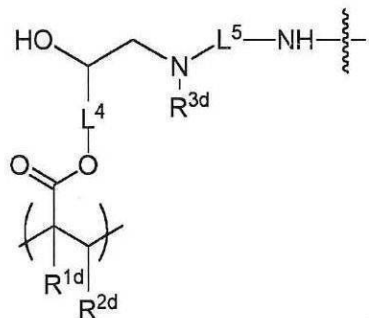
20

の修飾反復単位を有するポリマーを含むことを理解されたい。

【0029】

一部の他の実施形態では、ポリマーが基材の第1表面に共有結合する際、式(V)の反復単位のアミノ基と基材の第1表面との間に少なくとも1つの共有結合が形成される。そのため、本明細書に記載するように、式(V)の反復単位を有するポリマーが共有結合した第1表面を備える基材はまた、基材表面との共有結合の位置を示す、構造

【化16】



30

の修飾反復単位を有するポリマーを含むことを理解されたい。

【0030】

本明細書に記載の一部の実施形態は、本明細書に記載するように、式(V)の反復単位を有するポリマーに共有結合した官能化オリゴヌクレオチドを含む、グラフト化ポリマーに関する。一部の実施形態では、ポリマーはさらに、式(VIa)もしくは式(VIb)またはその両方の反復単位を含み得る。一部の実施形態では、ポリマーはさらに、上記の種々の異なるポリマー骨格の反復単位を1つまたは複数含み得る。

40

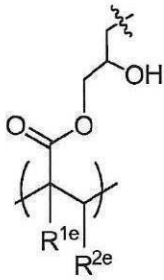
【0031】

一部の実施形態では、官能化オリゴヌクレオチドがポリマーに共有結合する際、式(VIa)の反復単位のエポキシ基と官能化オリゴヌクレオチドとの間の反応の結果として、少なくとも1つの共有結合が形成される。そのため、本明細書に記載するように、式(V)の反復単位および式(VIa)の反復単位のポリマーに共有結合した官能化オリゴヌク

50

レオチドを含むグラフト化ポリマーにはまた、オリゴヌクレオチドとの共有結合の位置を示す、構造

【化 1 7】



10

の修飾反復単位を有するポリマーが含まれることを理解されたい。

【 0 0 3 2】

本明細書に記載の一部の実施形態は、グラフト化ポリマーを基材の第 1 表面に固定するプロセスに関し、該プロセスは、

第 1 の複数の官能基が共有結合した第 1 表面を備える基材を提供するステップと、ポリマーに共有結合した官能化オリゴヌクレオチドを含むグラフト化ポリマーであって、前記ポリマーは第 2 の複数の官能基を含む、グラフト化ポリマーを提供するステップと、

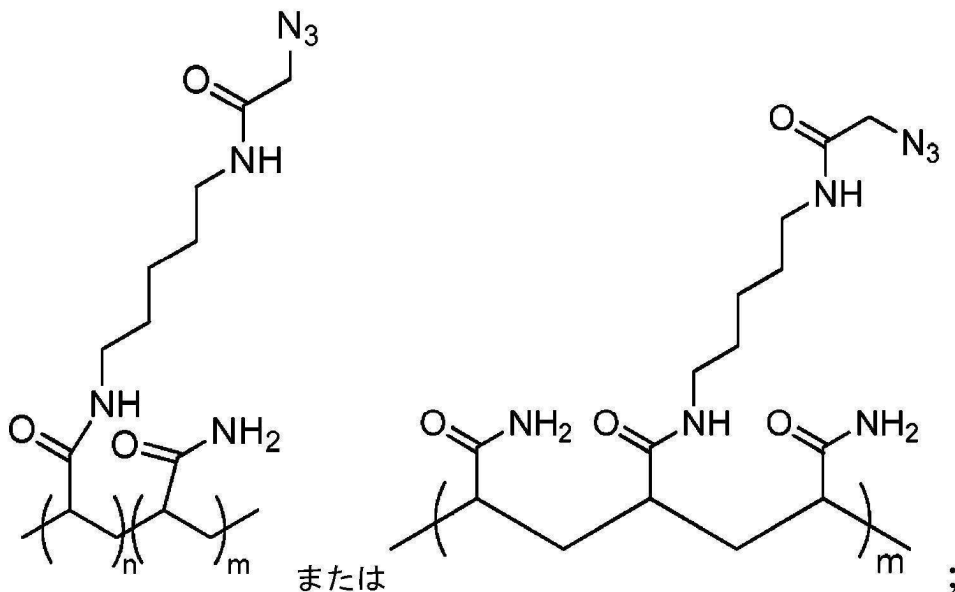
20

前期第 1 表面の第 1 の複数の官能基を、前期ポリマーの第 2 の複数の官能基と反応させ、その結果、前記ポリマーを前記基材の第 1 表面に共有結合させるステップとを含む。

【 0 0 3 3】

本明細書に記載の方法の一部の実施形態において、シクロアルケン、シクロアルキン、ヘテロシクロアルケン、ヘテロシクロアルキンから選択される不飽和部分を含む官能化シランで表面を処理し、官能化オリゴヌクレオチドがビスクロ[6.1.0]ノナ-4-インを含む場合、ポリマーは以下の構造

【化 1 8】



30

40

(式中、nは1～20000の範囲の整数であり、mは1～100000の範囲の整数である)のポリ(N-(5-アジドアセトアミジルペンチル)アクリルアミド-co-アクリルアミド)(PAZAM)ではない。一部のそのような実施形態では、官能化シランの

50

不飽和部分にはノルボルネンが含まれる。

【 0 0 3 4 】

本明細書に記載の一部の実施形態は、本明細書に記載のポリマーを、基材の第 1 表面に固定するプロセスまたは方法に関し、これは、第 1 の複数の官能基が共有結合した第 1 表面を備える基材を提供するステップと、本明細書に記載のポリマーを提供するステップと、前記第 1 表面の第 1 の複数の官能基を前記ポリマーと反応させ、その結果、前記ポリマーを前記基材の第 1 表面に共有結合させるステップとを含む。

【 図面の簡単な説明 】

【 0 0 3 5 】

【 図 1 A 】 ノルボルネンシラン単層表面を備えるポリマーコーティングフローセルの Typhoon 蛍光画像を示す図である。

10

【 図 1 B 】 実施例 1 のポリマーの Typhoon 強度中央値 (表 2) の関連棒グラフを示す図である。

【 図 1 C 】 ノルボルネンシラン単層表面を備えるポリマーコーティングフローセルの Typhoon 蛍光画像を示す図である。

【 図 1 D 】 実施例 1 のポリマーの Typhoon 強度中央値 (表 2) の関連棒グラフを示す図である。

【 図 2 A 】 ノルボルネンシラン単層表面を備えるポリマーコーティングフローセルの Typhoon 蛍光画像を示す図である。

【 図 2 B 】 実施例 1 のポリマーの Typhoon 強度中央値 (表 3) の関連棒グラフを示す図である。

20

【 図 2 C 】 ノルボルネンシラン単層表面を備えるポリマーコーティングフローセルの Typhoon 蛍光画像を示す図である。

【 図 2 D 】 実施例 1 のポリマーの Typhoon 強度中央値 (表 3) の関連棒グラフを示す図である。

【 図 3 A 】 ノルボルネン表面を、実施例 1 で列記する種々のポリマー (表 2) でコーティングした後の TET QC 強度データ (表 4) と、熱応力試験後に測定した表面減少率を示す、折れ線グラフおよび棒グラフを示す図である。

【 図 3 B 】 エポキシ表面を実施例 1 で列記する種々のポリマー (表 3) でコーティングした後の TET QC 強度データ (表 5) と、熱応力試験後に測定した表面減少率を示す、折れ線グラフおよび棒グラフを示す図である。

30

【 図 4 A 】 ノルボルネンシラン単層表面を有するポリマーコーティングフローセルの Typhoon 蛍光画像を示す図である。

【 図 4 B 】 実施例 1 のポリマーの Typhoon 強度中央値 (表 6) の関連棒グラフを示す図である。

【 図 4 C 】 ノルボルネンシラン単層表面を有するポリマーコーティングフローセルの Typhoon 蛍光画像を示す図である。

【 図 4 D 】 実施例 1 のポリマーの Typhoon 強度中央値 (表 6) の関連棒グラフを示す図である。

【 図 4 E 】 ノルボルネン表面を実施例 1 で列記する種々のポリマー (表 6) でコーティングした後の TET QC 強度データ (表 7) と、熱応力試験後に測定した表面減少率を示す、折れ線グラフおよび棒グラフを示す図である。

40

【 図 5 】 異なる時点における、ノルボルネンとビピリジルテトラジンとの間の反応についての一連の NMR 画像を示す図である。

【 図 6 】 ビピリジントテトラジンとビシクロ [6 . 1 . 0] ノナ - 4 - イン - 9 - イルメタノールとの間の反応の、UV - Vis 吸収パターンの折れ線グラフを示す図である。

【 図 7 】 グラフト化デンドリマーと、表面結合基を有する官能化デンドリマーとの間のカップリング反応を示す図である。

【 発明を実施するための形態 】

【 0 0 3 6 】

50

本出願は、核酸コポリマー（例えば、DNAコポリマー）と、そのような核酸コポリマーを基材の表面にグラフト化するためのプロセスに関する。一本鎖DNA（「ssDNA」）プライマーとの予備コンジュゲーション（pre-conjugation）のために用いられるポリマーの一部の実施形態には、アクリルアミド/アジド-アクリルアミド/アミノエチル-アクリルアミド三元コポリマー、テトラジン修飾ポリアクリルアミド、および、ポリ（グリシジルメタクリレート）と、アミノ-PEG-アジドまたはアミノ-PEG-Boc-アミドとの反応生成物が含まれる。次に核酸コポリマーを、基材の表面に、場合によっては、フローセルの表面または分子アレイの表面といった基材のシラン官能化表面に共有結合させることが可能である。本開示はまた、そのような核酸-コポリマーコーティング表面を調製する方法、および、そのような核酸-コポリマーコーティング表面を備える基材をシーケンシング-バイ-シンセシス反応で用いる方法に関する。

10

【0037】

一部の実施形態は、ビシクロ[6.1.0]ノナ-4-イン、アルキン、アミド、またはアジド誘導体化リンケージなどの1つまたは複数の官能基を介して本明細書に記載のポリマーに予備コンジュゲートした官能化オリゴヌクレオチドを含む、シーケンシング-バイ-シンセシス反応を行うためのフローセルに関する。一部の実施形態では、プライマーは、P5プライマーまたはP7プライマーである。P5プライマーおよびP7プライマーは、HiSeq（登録商標）、MiSeq（登録商標）、NextSeq（登録商標）、およびGenome Analyzer（登録商標）のプラットフォームでのシーケンシングのためにIllumina社により販売されている、市販のフローセルの表面で用いる。

20

【0038】

プライマー結合に併せてポリマー内に品質管理（QC）マーカを組み込むことにより、さらなるプロセスと費用節減が達成され得る。解析テストを用いて、QCマーカありまたはなしのDNAコポリマーの品質および一貫性を求めることができ、該解析テストを再度用いて、オープンウェハフォーマットと共に動作する際の堆積の有効性を求めることができる。これらの追加の品質管理チェックポイントは、より一貫した生成物を産出するバッチ変動（batch variation）にまでフローセルバッチを低減させ、また、製造時に障害が現れる際、どこでプロセス偏差（process deviation）が起きたかを絞り込む助けとなるはずである。

30

【0039】

定義

別段の定義がない限り、本明細書で用いる全ての技術的および科学的用語は、当業者により一般的に理解されるのと同じ意味を持つ。用語「含む（including）」の使用は、「含む（include）」、「含む（includes）」、および「含まれた（included）」などの他の形と同様に、限定的ではない。用語「有し（having）」の使用は、「有する（have）」、「有する（has）」、および「有された（had）」などの他の形と同様に、限定的ではない。本明細書で用いる場合、移行句であれ請求項の本文であれ、用語「含む（comprise(s))」および「含む（comprising）」は、非限定（open-ended）の意味を持つと解釈されるべきである。つまり、上記の用語は、句「~を少なくとも有する（having at least）」または「~を少なくとも含む（including at least）」と同義的に解釈されるべきである。例えば、プロセスの文脈で用いられる場合、用語「含む（comprising）」は、プロセスが少なくとも言及されたステップを含むが、追加のステップも含む得ることを意味する。化合物、組成物、または装置の文脈で用いられる場合、用語「含む（comprising）」は、該化合物、組成物、または装置は少なくとも言及されたフィーチャまたは構成要素を含むが、追加のフィーチャまたは構成要素も含む得ることを意味する。

40

【0040】

本明細書で用いる場合、一般の有機体に関する略語を以下のように定義する。

50

A c	アセチル	
A c ₂ O	無水酢酸	
A P T S	アミノプロピルシラン	
A P T E S	(3 - アミノプロピル) トリエトキシシラン	
A P T M S	(3 - アミノプロピル) トリメトキシシラン	
a q .	水性	
A T R P	原子移動ラジカル重合	
A z a p a	N - (5 - アジドアセトアミジルペンチル) アクリルアミド	
B C N	ビスクロ [6 . 1 . 0] ノナ - 4 - イン	
B n	ベンジル	10
B r a p a または B R A P A	N - (5 - ブロモアセトアミジルペンチル) アクリルアミド	
B z	ベンゾイル	
B O C または B o c	t e r t - ブトキシカルボニル	
B u	n - ブチル	
c a t .	触媒の	
C M P	化学機械研磨	
C R P	制御ラジカル重合	
C V D	化学蒸着	
	セ氏温度	20
d A T P	デオキシアデノシン三リン酸	
d C T P	デオキシシチジン三リン酸	
d G T P	デオキシグアノシン三リン酸	
d T T P	デオキシチミジン三リン酸	
D C A	ジクロロ酢酸	
D C E	1 , 2 - ジクロロエタン	
D C M	塩化メチレン	
D I E A	ジイソプロピルエチルアミン	
D I P E A	ジイソプロピルエチルアミン	
D M A	ジメチルアセトアミド	30
D M E	ジメトキシエタン	
D M F	N , N ' - ジメチルホルムアミド	
D M S O	ジメチルスルホキシド	
D P P A	ジフェニルホスホリルアジド	
E t	エチル	
E t O A c または E A	酢酸エチル	
g	グラム	
h または h r	時間	
i P r	イソプロピル	
K P i	p H 7 . 0 の 1 0 m M リン酸カリウム緩衝液	40
K P S	ペルオキシ二硫酸カリウム	
I P A	イソプロピルアルコール	
I P H A . H C l	N - イソプロピルヒドロキシルアミンハイドロクロライド	
m または m i n	分	
M e O H	メタノール	
M e C N	アセトニトリル	
m L	ミリリットル	
N a N ₃	アジ化ナトリウム	
N H S	N - ヒドロキシスクシンイミド	
N M P	ニトロキシド媒介ラジカル重合	50

P A Z A M	任意のアクリルアミド対アザパ (A z a p a) 比率のポリ (N - (5 - アジドアセトアミジルペンチル) アクリルアミド - c o - アクリルアミド)	
P E G	ポリエチレングリコール	
P G	保護基	
P G M A	ポリ (グリシジルメタクリラート)	
P h	フェニル	
p p t	沈殿物	
R A F T	可逆的付加 - 開裂連鎖移動重合	
r t	室温	
S F A	米国特許出願公開第 2 0 1 1 / 0 0 5 9 8 6 5 号明細書で定義されるシランフリーアクリルアミド	10
S u l f o - H S A B または S H S A B	N - ヒドロキシスルホスクシンイミジル - 4 - アジドベノエート (a z i d o b e n o a t e)	
T E A	トリエチルアミン	
T e r t 、 t	第三の	
T H F	テトラヒドロフラン	
T E M E D	テトラメチルエチレンジアミン	
Y E S	Y i e l d E n g i n e e r i n g S y s t e m s	
μ L	マイクロリットル	

【 0 0 4 1 】

20

本明細書で用いる場合、用語「アレイ」は、異なるプローブ分子が相対位置に応じて互いに識別可能であるように1つまたは複数の基材に結合した、異なるプローブ分子の集合を指す。アレイは異なるプローブ分子を含み得、これらは基材上のアドレス指定可能な異なる位置にそれぞれ位置する。あるいは、または加えて、アレイは異なるプローブ分子をそれぞれ担持する別個の基材を含み得、ここにおいて前記異なるプローブ分子は、基材が結合している表面における基材の位置に応じて、または、液体における基材の位置に応じて特定することが可能である。別個の基材が表面に位置する例示的なアレイとしては、限定されるわけではないが、例えば、米国特許第 6 3 5 5 4 3 1 号明細書、米国特許出願公開第 2 0 0 2 / 0 1 0 2 5 7 8 号明細書、および国際公開第 0 0 / 6 3 4 3 7 号に記載されているウェル中にビーズを含むものが挙げられる。例えば蛍光活性化セルソータ (F A C S) などのマイクロ流体デバイスを用いて液体アレイ中のビーズを識別するために本発明で用いることが可能な例示的なフォーマットは、例えば、米国特許第 6 5 2 4 7 9 3 号明細書に記載されている。本発明で用いることが可能なアレイのさらなる例としては、限定されるわけではないが、米国特許第 5 4 2 9 8 0 7 号明細書、同第 5 4 3 6 3 2 7 号明細書、同第 5 5 6 1 0 7 1 号明細書、同第 5 5 8 3 2 1 1 号明細書、同第 5 6 5 8 7 3 4 号明細書、同第 5 8 3 7 8 5 8 号明細書、同第 5 8 7 4 2 1 9 号明細書、同第 5 9 1 9 5 2 3 号明細書、同第 6 1 3 6 2 6 9 号明細書、同第 6 2 8 7 7 6 8 号明細書、同第 6 2 8 7 7 6 号明細書、同第 6 2 8 8 2 2 0 号明細書、同第 6 2 9 7 0 0 6 号明細書、同第 6 2 9 1 1 9 3 号明細書、同第 6 3 4 6 4 1 3 号明細書、同第 6 4 1 6 9 4 9 号明細書、同第 6 4 8 2 5 9 1 号明細書、同第 6 5 1 4 7 5 1 号明細書、同第 6 6 1 0 4 8 2 号明細書、国際公開第 9 3 / 1 7 1 2 6 号、同第 9 5 / 1 1 9 9 5 号、同第 9 5 / 3 5 5 0 5 号、欧州特許第 7 4 2 2 8 7 号明細書、および同第 7 9 9 8 9 7 号明細書に記載されているものが挙げられる。

30

40

【 0 0 4 2 】

本明細書で用いる場合、用語「共有結合的に付加した (c o v a l e n t l y a t t a c h e d) 」または「共有結合した (c o v a l e n t l y b o n d e d) 」は、原子間での電子対の共有により特徴付けられる化学結合の形成を指す。例えば、共有結合したポリマーコーティングは、他の手段、例えば付着または静電相互作用を介した表面への結合と対比して、基材の官能化表面と化学的結合を形成するポリマーコーティングを指す。表面に共有結合するポリマーはまた、共有結合以外の手段を介しても結合し得ることが

50

理解されよう。

【0043】

本明細書で用いる場合、「a」および「b」が整数である「C_a~C_b」または「C_a~b」は、特定の基における炭素原子数を指す。つまり、該基には、「a」~「b」（aとbを含む）の炭素原子が含まれ得る。したがって、例えば、「C₁~C₄アルキル」基または「C₁~C₄アルキル」基は、1~4個の炭素を有するアルキル基、つまり、CH₃-、CH₃CH₂-、CH₃CH₂CH₂-、(CH₃)₂CH-、CH₃CH₂CH₂CH₂-、CH₃CH₂CH(CH₃)-、および(CH₃)₃C-を指す。

【0044】

用語「ハロゲン」または「ハロ」は、本明細書で用いる場合、フッ素、塩素、臭素およびヨウ素等の、元素周期表第7列の放射線安定性(radio-stable)原子のいずれか1つを意味し、フッ素および塩素が好適である。

10

【0045】

本明細書で用いる場合、「アルキル」は、完全飽和した(つまり、二重結合も三重結合も含まない)直鎖または分岐状の炭化水素鎖を指す。アルキル基は1~20個の炭素原子を有し得る(本明細書中に現れる場合は常に、「1~20」等の数値範囲は所与の範囲内の各整数を指し、例えば、「1~20個の炭素原子」は、アルキル基が1個の炭素原子、2個の炭素原子、3個の炭素原子等、20個以下の炭素原子からなり得ることを意味し、ただし、本定義は数値範囲が指定されていない場合の用語「アルキル」の出現も包含する)。アルキル基はまた、1~9個の炭素原子を有する中級アルキルであり得る。アルキル基はまた、1~4個の炭素原子を有する低級アルキルであり得る。アルキル基は、「C₁~4アルキル」または同様の名称で称され得る。例示のみを目的として、「C₁~4アルキル」は、アルキル鎖内に1~4個の炭素原子が存在すること、つまり、アルキル鎖がメチル、エチル、プロピル、イソ-プロピル、n-ブチル、イソ-ブチル、sec-ブチル、およびt-ブチルからなる群から選択されることを示す。典型的なアルキル基としては、限定はされないが、メチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、イソブチル、第三ブチル、ペンチル、およびヘキシルなどが挙げられる。アルキル基は任意に置換され得る。

20

【0046】

本明細書で用いる場合、「アルコキシ」は式-ORを指し、式中、Rは、「C₁~9アルコキ」など上記で定義したアルキルであり、限定されるわけではないが、メトキシ、エトキシ、n-プロポキシ、1-メチルエトキシ(イソプロポキシ)、n-ブトキシ、イソ-ブトキシ、sec-ブトキシ、およびtert-ブトキシなどが含まれる。アルコキシ基は、任意に置換され得る。

30

【0047】

本明細書で用いる場合、「アルケニル」は、1つまたは複数の二重結合を含む直鎖または分岐状の炭化水素鎖を指す。アルケニル基は2~20個の炭素原子を有し得るが、ただし、本定義は数値範囲が指定されていない場合の用語「アルケニル」の出現も包含する。アルケニル基はまた、2~9個の炭素原子を有する中級アルケニルであってよい。アルケニル基はまた、2~4個の炭素原子を有する低級アルケニルであり得る。アルケニル基は「C₂~4アルケニル」または同様の名称で称され得る。例示のみを目的として、「C₂~4アルケニル」は、アルケニル鎖内に2~4個の炭素原子が存在すること、つまり、アルケニル鎖がエテニル、プロペン-1-イル、プロペン-2-イル、プロペン-3-イル、ブテン-1-イル、ブテン-2-イル、ブテン-3-イル、ブテン-4-イル、1-メチル-プロペン-1-イル、2-メチル-プロペン-1-イル、1-エチル-エテン-1-イル、2-メチル-プロペン-3-イル、ブタ-1,3-ジエニル、ブタ-1,2-ジエニル、およびブタ-1,2-ジエン-4-イルからなる群から選択されることを示す。典型的なアルケニル基としては、限定はされないが、エテニル、プロペニル、ブテニル、ペンテニル、およびヘキセニルなどが挙げられる。アルキル基は任意に置換され得る。

40

【0048】

50

本明細書で用いる場合、「アルキニル」は、1つまたは複数の三重結合を含む直鎖または分岐状の炭化水素鎖を指す。アルケニル基は2～20個の炭素原子を有し得るが、ただし、本定義は数値範囲が指定されていない場合の用語「アルキニル」の出現も包含する。アルキニル基はまた、2～9個の炭素原子を有する中級アルキニルであってよい。アルキニル基はまた、2～4個の炭素原子を有する低級アルキニルであり得る。アルキニル基は「C₂～4アルキニル」または同様の名称で称され得る。例示のみを目的として、「C₂～4アルキニル」は、アルキニル鎖内に2～4個の炭素原子が存在すること、つまり、アルキニル鎖がエチニル、プロピン-1-イル、プロピン-2-イル、ブチン-1-イル、ブチン-3-イル、ブチン-4-イル、および2-ブチニルからなる群から選択されることを示す。典型的なアルキニル基としては、限定はされないが、エチニル、プロピニル、ブチニル、ペンチニル、およびヘキシニルなどが挙げられる。アルキニル基は任意に置換され得る。

10

【0049】

本明細書で用いる場合、「ヘテロアルキル」は、1つまたは複数のヘテロ原子、つまり、窒素、酸素および硫黄が含まれるがこれらに限定されない炭素以外の元素を主鎖中に含む、直鎖または分岐状の炭化水素鎖を指す。ヘテロアルキル基は、1～20個の炭素原子を有し得るが、ただし、本定義は数値範囲が指定されていない用語「ヘテロアルキル」の出現も包含する。ヘテロアルキル基はまた、1～9個の炭素原子を有する中級ヘテロアルキルであってよい。ヘテロアルキル基はまた、1～4個の炭素原子を有する低級ヘテロアルキルであり得る。ヘテロアルキル基は「C₁～4ヘテロアルキル」または同様の名称で称され得る。ヘテロアルキル基は1つまたは複数のヘテロ原子を含み得る。例示のみを目的として、「C₁～4ヘテロアルキル」は、ヘテロアルキル鎖内に1～4個の炭素原子が存在し、加えて主鎖には1つまたは複数のヘテロ原子が存在することを示す。

20

【0050】

本明細書で用いる場合、「アルキレン」は、2つの結合点を介して残りの分子に結合する、炭素と水素のみを含む分岐鎖または直鎖の完全飽和したジラジカル化学基（つまり、アルカンジイル）を意味する。アルキレン基は1～20000個の炭素原子を有し得るが、ただし、本定義は、数値範囲が指定されていない用語アルキレンの出現も包含する。アルキレン基はまた、1～9個の炭素原子を有する中級アルキレンであってよい。アルキレン基はまた、1～4個の炭素原子を有する低級アルキレンであり得る。アルキレン基は「C₁～4アルキレン」または同様の名称で称され得る。例示のみを目的として、「C₁～4アルキレン」は、アルキレン鎖中に1～4個の炭素原子が存在すること、つまり、アルキレン鎖は、メチレン、エチレン、エタン-1,1-ジイル、プロピレン、プロパン-1,1-ジイル、プロパン-2,2-ジイル、1-メチル-エチレン、ブチレン、ブタン-1,1-ジイル、ブタン-2,2-ジイル、2-メチル-プロパン-1,1-ジイル、1-メチル-プロピレン、2-メチル-プロピレン、1,1-ジメチル-エチレン、1,2-ジメチル-エチレン、および1-エチル-エチレンからなる群から選択されることを示す。

30

【0051】

本明細書で用いる場合、用語「ヘテロアルキレン」は、アルキレンの1つまたは複数の骨格原子が炭素以外の原子、例えば、酸素、窒素、硫黄、リン、またはそれらの組み合わせから選択されるアルキレン鎖を指す。ヘテロアルキレン鎖の長さは2～20000であり得る。例示的なヘテロアルキレンとしては、限定されるわけではないが、-OCH₂-、-OCH(CH₃)-、-OC(CH₃)₂-、-OCH₂CH₂-、-CH(CH₃)O-、-CH₂OCH₂-、-CH₂OCH₂CH₂-、-SCH₂-、-SCH(CH₃)-、-SC(CH₃)₂-、-SCH₂CH₂-、-CH₂SCH₂CH₂-、-NHCH₂-、-NHCH(CH₃)-、-NHC(CH₃)₂-、-NHCH₂CH₂-、-CH₂NHCH₂-、および-CH₂NHCH₂CH₂-などが挙げられる。

40

【0052】

本明細書で用いる場合、「アルケニレン」は、炭素と水素のみを含み、かつ、2つの結

50

合点を介して残りの分子に結合する炭素 - 炭素二重結合を少なくとも1つ含む、直鎖または分岐鎖のジラジカル化学基を意味する。アルケニレン基は2 ~ 20000個の炭素原子を有し得るが、ただし、本定義はまた、数値範囲が指定されていない場合の用語アルケニレンの出現も包含する。アルケニレン基はまた、2 ~ 9個の炭素原子を有する中級アルケニレンであってよい。アルケニレン基はまた、2 ~ 4個の炭素原子を有する低級アルケニレンであり得る。アルケニレン基は「C₂ ~ 4アルケニレン」または同様の名称で称され得る。例示のみを目的として、「C₂ ~ 4アルケニレン」は、アルケニレン鎖内に2 ~ 4個の炭素原子が存在すること、つまり、アルケニレン鎖はエテニレン、エテン - 1, 1 - ジイル、プロペニレン、プロペン - 1, 1 - ジイル、プロパ - 2 - エン - 1, 1 - ジイル、1 - メチル - エテニレン、ブタ - 1 - エニレン、ブタ - 2 - エニレン、ブタ - 1, 3 - ジエニレン、ブテン - 1, 1 - ジイル、ブタ - 1, 3 - ジエン - 1, 1 - ジイル、ブタ - 2 - エン - 1, 1 - ジイル、ブタ - 3 - エン - 1, 1 - ジイル、1 - メチル - プロパ - 2 - エン - 1, 1 - ジイル、2 - メチル - プロパ - 2 - エン - 1, 1 - ジイル、1 - エチル - エテニレン、1, 2 - ジメチル - エテニレン、1 - メチル - プロペニレン、2 - メチル - プロペニレン、3 - メチル - プロペニレン、2 - メチル - プロペン - 1, 1 - ジイル、および2, 2 - ジメチル - エテン - 1, 1 - ジイルからなる群から選択されることを示す。

10

【0053】

本明細書で用いる場合、「アルキニレン」は、炭素と水素のみを含み、かつ、2つの結合点を介して残りの分子に結合する炭素 - 炭素三重結合を少なくとも1つ含む、直鎖または分岐鎖のジラジカル化学基を意味する。

20

【0054】

用語「芳香族」は、共役パイ電子系を有する環または環系を指し、これには炭素環式芳香族基（例えば、フェニル）および複素環式芳香族基（例えば、ピリジン）の両方が含まれる。前記用語には、全ての環系が芳香族であるという条件で、単環基または縮合環多環（つまり、隣接する原子対を共有する環）基が含まれる。

【0055】

本明細書で用いる場合、「アリール」は、環骨格（ring backbone）内に炭素のみを含む芳香族環または環系（つまり、2つの隣接する炭素原子を共有する2つ以上の縮合環）を指す。アリールが環系である場合、系中の全ての環は芳香族である。アリール基は6 ~ 18個の炭素原子を有し得るが、ただし、本定義はまた、数値範囲が指定されていない場合の用語「アリール」の出現も包含する。一部の実施形態では、アリール基は6 ~ 10個の炭素原子を有する。アリール基は、「C₆ ~ 10アリール」、「C₆またはC₁₀アリール」、または同様の名称で称され得る。アリール基の例としては、限定されるわけではないが、フェニル、ナフチル、アズレニル、およびアントラセニルが挙げられる。アリール基は任意に置換され得る。

30

【0056】

本明細書で用いる場合、「アシルエン」は、2つの結合点を介して残りの分子に結合する、炭素と水素のみを含む芳香族環または環系を指す。

【0057】

「アラルキル」または「アリールアルキル」は、「C₇ ~ 14アラルキル」などの、アルキレン基を介して置換基として連結されているアリール基であり、限定されるわけではないが、ベンジル、2 - フェニルエチル、3 - フェニルプロピル、およびナフチルアルキルが含まれる。一部の場合、アルキレン基は低級アルキレン基（つまり、C₁ ~ 4アルキレン基）である。

40

【0058】

本明細書で用いる場合、「ヘテロアリール」は、1つまたは複数のヘテロ原子、つまり、窒素、酸素および硫黄が含まれるがこれらに限定されない炭素以外の元素を環骨格内に含む、芳香族環または環系（つまり、2つの隣接する原子を共有する2つ以上の縮合環）を指す。ヘテロアリールが環系である場合、系内の全ての環は芳香族である。ヘテロアリ

50

ール基は5～18個の環員 (ring member) (つまり、炭素原子およびヘテロ原子などの、環骨格を構成する原子の数) を有し得るが、ただし、本定義はまた、数値範囲が指定されていない場合の用語「ヘテロアリアル」の出現も包含する。一部の実施形態では、ヘテロアリアル基は、5～10環員または5～7環員を有する。ヘテロアリアル基は、「5～7員ヘテロアリアル」、「5～10員ヘテロアリアル」、または同様の名称で称され得る。ヘテロアリアル環の例としては、限定されるわけではないが、フリル、チエニル、フタラジニル、ピロリル、オキサゾリル、チアゾリル、イミダゾリル、ピラゾリル、イソオキサゾリル、イソチアゾリル、トリアゾリル、チアジアゾリル、ピリジニル、ピリダジニル、ピリミジニル、ピラジニル、トリアジニル、キノリニル、イソキノリニル、ベンゾイミダゾリル、ベンゾオキサゾリル、ベンゾチアゾリル、インドリル、イソインドリル、およびベンゾチエニルが挙げられる。ヘテロアリアル基は任意に置換され得る。

10

【0059】

本明細書で用いる場合、「ヘテロアリーレン」は、2つの結合点を介して残りの分子に結合する、1つまたは複数のヘテロ原子を環骨格内に含む芳香族環または環系を指す。

【0060】

「ヘテロアルキル」または「ヘテロアリアルアルキル」は、アルキレン基を介して置換基として連結されているヘテロアリアル基である。例としては、限定されるわけではないが、2-チエニルメチル、3-チエニルメチル、フリルメチル、チエニルエチル、ピロリルアルキル、ピリジルアルキル、イソオキサゾリルアルキル、およびイミダゾリルアルキルが挙げられる。一部の場合、アルキレン基は、低級アルキレン基 (つまり、 C_{1-4} アルキレン基) である。

20

【0061】

本明細書で用いる場合、「カルボシクリル (carbocyclyl)」は、環系骨格内に炭素原子のみを含む非芳香族性の環式環 (cyclic ring) または環系を意味する。カルボシクリルが環系である場合、2つ以上の環が縮合方式、架橋方式、またはスピロ連結 (spiro-connected) 方式で結合し得る。カルボシクリルは、環系内の少なくとも1つの環が芳香族でないという条件で、任意の飽和度であってよい。したがって、カルボシクリルには、シクロアルキル、シクロアルケニル、およびシクロアルキニルが含まれる。カルボシクリル基は3～20個の炭素原子を有し得るが、ただし、本定義はまた、数値範囲が指定されていない場合の用語「カルボシクリル」の出現も包含する。カルボシクリル基はまた、3、4、5、6、7、8、9、または10個の炭素原子を有する中級カルボシクリルであってよい。カルボシクリル基はまた、3～6個の炭素原子を有するカルボシクリルであり得る。カルボシクリル基は、「 C_{3-6} カルボシクリル」または同様の名称で称され得る。カルボシクリル環の例としては、限定されるわけではないが、シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、シクロヘキシル、シクロヘキセニル、2,3-ジヒドロ-インデン、ピシクロ[2.2.2]オクタニル、アダマンチル、およびスピロ[4.4]ノナニルが挙げられる。

30

【0062】

本明細書で用いる場合、「シクロアルキル」は、完全飽和したカルボシクリル環または環系を意味する。例としては、シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、およびシクロヘキシルが挙げられる。

40

【0063】

本明細書で用いる場合、「シクロアルキレン」は、2つの結合点を介して残りの分子に結合する、完全飽和したカルボシクリル環または環系を意味する。

【0064】

本明細書で用いる場合、「シクロアルケニル」または「シクロアルケン」は、少なくとも1つの二重結合を有し、環系の環はいずれも芳香族ではない、カルボシクリル環または環系を意味する。例はシクロヘキセニルまたはシクロヘキセンである。別の例は、ノルボルネンまたはノルボルネニルである。

【0065】

50

本明細書で用いる場合、「ヘテロシクロアルケニル」または「ヘテロシクロアルケン」は、環骨格内に少なくとも1つのヘテロ原子を有し、少なくとも1つの二重結合を有し、環系の環はいずれも芳香族ではない、カルボシクリル環または環系を意味する、一部の実施形態では、ヘテロシクロアルケニルまたはヘテロシクロアルケンの環または環系は、3員、4員、5員、6員、7員、8員、9員、または10員である。

【0066】

本明細書で用いる場合、「シクロアルキニル」または「シクロアルキン」は、少なくとも1つの三重結合を有し、環系の環はいずれも芳香族ではない、カルボシクリル環または環系を意味する。例はシクロオクチンである。別の例はピシクロノンである。

【0067】

本明細書で用いる場合、「ヘテロシクロアルキニル」または「ヘテロシクロアルキン」は、少なくとも1つのヘテロ原子を環骨格内に有し、少なくとも1つの三重結合を有し、環系の環はいずれも芳香族ではない、カルボシクリル環または環系を意味する。一部の実施形態では、ヘテロシクロアルキニルまたはヘテロシクロアルキンの環または環系は、3員、4員、5員、6員、7員、8員、9員、または10員である。

【0068】

本明細書で用いる場合、「ヘテロシクリル」は、少なくとも1つのヘテロ原子を環骨格内に含む非芳香族性の環または環系を意味する。ヘテロシクリルは、縮合方式、架橋方式、またはスピロ連結方式で結合し得る。カルボシクリルは、環系内の少なくとも1つの環が芳香族でないという条件で、任意の飽和度であってよい。ヘテロ原子は、環系の非芳香族環または芳香族環のいずれかに存在し得る。ヘテロシクリル基は、3～20個の環員（つまり、炭素原子およびヘテロ原子などの、環骨格を構成する原子の数）を有し得るが、ただし、本定義はまた、数値範囲が指定されていない場合の用語「ヘテロシクリル」の出現も包含する。ヘテロシクリル基はまた、3～10環員を有する中級ヘテロシクリルであってよい。ヘテロシクリル基はまた、3～6環員を有するヘテロシクリルであり得る。ヘテロシクリル基は、「3～6員ヘテロシクリル」または同様の名称で称され得る。好適な6員単環式ヘテロシクリルでは、ヘテロ原子は1～3個のO、N、またはSから選択され、好適な5員単環式ヘテロシクリルでは、ヘテロ原子はO、N、またはSから選択される1または2個のヘテロ原子から選択される。ヘテロシクリル環の例としては、限定されるわけではないが、アゼピニル、アクリジニル、カルバゾリル、シンノリニル、ジオキサニル、イミダゾリニル、イミダゾリジニル、モルホリニル、オキシラニル、オキセパニル、チエパニル、ピペリジニル、ピペラドニル、ジオキソピペラジニル、ピロリジニル、ピロリジニル、ピロリジオニル、4-ピペリドニル、ピラゾリニル、ピラゾリジニル、1,3-ジオキシニル、1,3-ジオキサニル、1,4-ジオキシニル、1,4-ジオキサニル、1,3-オキサチアニル、1,4-オキサチイニル、1,4-オキサチアニル、2H-1,2-オキサジニル、トリオキサニル、ヘキサヒドロ-1,3,5-トリアジニル、1,3-ジオキサソリル、1,3-ジオキサソラニル、1,3-ジチオリル、1,3-ジチオラリル、イソオキサゾリニル、イソオキサゾリジニル、オキサゾリニル、オキサゾリジニル、オキサゾリジノニル、チアゾリニル、チアゾリジニル、1,3-オキサチオラニル、インドリニル、イソインドリニル、テトラヒドロフラニル、テトラヒドロピラニル、テトラヒドロチオフェニル、テトラヒドロチオピラニル、テトラヒドロ-1,4-チアジニル、チアモルホリニル、ジヒドロベンゾフラニル、ベンゾイミダゾリジニル、およびテトラヒドロキノリンが挙げられる。

【0069】

本明細書で用いる場合、「ヘテロシクリレン」は、2つの結合点を介して残りの分子に結合する、少なくとも1つのヘテロ原子を含む非芳香族環または環系を意味する。

【0070】

本明細書で用いる場合、「アシル」は、 $-C(=O)R$ を意味し、式中、Rは、本明細書において定義するように、水素、 $C_1\sim 6$ アルキル、 $C_2\sim 6$ アルケニル、 $C_2\sim 6$ アルキニル、 $C_3\sim 7$ カルボシクリル、 $C_6\sim 10$ アリーール、5～10員ヘテロアリーール、

10

20

30

40

50

および5～10員ヘテロシクリルである。非限定的例としては、ホルミル、アセチル、プロパノイル、ベンゾイル、およびアクリルが挙げられる。

【0071】

「O-カルボキシ」基は、「 $-OC(=O)R$ 」基を指し、式中、Rは、本明細書において定義するように、水素、 $C_{1\sim6}$ アルキル、 $C_{2\sim6}$ アルケニル、 $C_{2\sim6}$ アルキニル、 $C_{3\sim7}$ カルボシクリル、 $C_{6\sim10}$ アリール、5～10員ヘテロアリール、および5～10員ヘテロシクリルである。

【0072】

「C-カルボキシ」基は、「 $-C(=O)OR$ 」基を指し、式中、Rは、本明細書において定義するように、水素、 $C_{1\sim6}$ アルキル、 $C_{2\sim6}$ アルケニル、 $C_{2\sim6}$ アルキニル、 $C_{3\sim7}$ カルボシクリル、 $C_{6\sim10}$ アリール、5～10員ヘテロアリール、および5～10員ヘテロシクリルから選択される。非限定的例としては、カルボキシル（つまり、 $-C(=O)OH$ ）が挙げられる。

10

【0073】

「アセタール」基は、 $RC(H)(OR')_2$ を指し、式中、RおよびR'は、本明細書において定義するように、水素、 $C_{1\sim6}$ アルキル、 $C_{2\sim6}$ アルケニル、 $C_{2\sim6}$ アルキニル、 $C_{3\sim7}$ カルボシクリル、 $C_{6\sim10}$ アリール、5～10員ヘテロアリール、および5～10員ヘテロシクリルから独立して選択される。

【0074】

「シアノ」基は、「 $-CN$ 」基を指す。

20

【0075】

「スルフィニル」基は、「 $-S(=O)R$ 」基を指し、式中、Rは、本明細書において定義するように、水素、 $C_{1\sim6}$ アルキル、 $C_{2\sim6}$ アルケニル、 $C_{2\sim6}$ アルキニル、 $C_{3\sim7}$ カルボシクリル、 $C_{6\sim10}$ アリール、5～10員ヘテロアリール、および5～10員ヘテロシクリルから選択される。

【0076】

「スルホニル」基は、「 $-SO_2R$ 」基を指し、式中、Rは、本明細書において定義するように、水素、 $C_{1\sim6}$ アルキル、 $C_{2\sim6}$ アルケニル、 $C_{2\sim6}$ アルキニル、 $C_{3\sim7}$ カルボシクリル、 $C_{6\sim10}$ アリール、5～10員ヘテロアリール、および5～10員ヘテロシクリルから選択される。

30

【0077】

「S-スルホンアミド」基は、「 $-SO_2NR_A R_B$ 」基を指し、式中、 R_A および R_B は、それぞれ独立して、本明細書において定義するように、水素、 $C_{1\sim6}$ アルキル、 $C_{2\sim6}$ アルケニル、 $C_{2\sim6}$ アルキニル、 $C_{3\sim7}$ カルボシクリル、 $C_{6\sim10}$ アリール、5～10員ヘテロアリール、および5～10員ヘテロシクリルから選択される。

【0078】

「N-スルホンアミド」基は、「 $-N(R_A)SO_2R_B$ 」基を指し、式中、 R_A および R_B は、それぞれ独立して、本明細書において定義するように、水素、 $C_{1\sim6}$ アルキル、 $C_{2\sim6}$ アルケニル、 $C_{2\sim6}$ アルキニル、 $C_{3\sim7}$ カルボシクリル、 $C_{6\sim10}$ アリール、5～10員ヘテロアリール、および5～10員ヘテロシクリルから選択される。

40

【0079】

「O-カルバミル」基は、「 $-OC(=O)NR_A R_B$ 」基を指し、式中、 R_A および R_B は、それぞれ独立して、本明細書において定義するように、水素、 $C_{1\sim6}$ アルキル、 $C_{2\sim6}$ アルケニル、 $C_{2\sim6}$ アルキニル、 $C_{3\sim7}$ カルボシクリル、 $C_{6\sim10}$ アリール、5～10員ヘテロアリール、および5～10員ヘテロシクリルから選択される。

【0080】

「N-カルバミル」基は、「 $-N(R_A)OC(=O)R_B$ 」基を指し、式中、 R_A および R_B は、それぞれ独立して、本明細書において定義するように、水素、 $C_{1\sim6}$ アルキル、 $C_{2\sim6}$ アルケニル、 $C_{2\sim6}$ アルキニル、 $C_{3\sim7}$ カルボシクリル、 $C_{6\sim10}$ アリール、5～10員ヘテロアリール、および5～10員ヘテロシクリルから選択される。

50

【0081】

「C-アミド」基は、「 $-C(=O)NR_A R_B$ 」基を指し、式中、 R_A および R_B は、それぞれ独立して、本明細書において定義するように、水素、 $C_1 \sim 6$ アルキル、 $C_2 \sim 6$ アルケニル、 $C_2 \sim 6$ アルキニル、 $C_3 \sim 7$ カルボシクリル、 $C_6 \sim 10$ アリール、 $5 \sim 10$ 員ヘテロアリール、および $5 \sim 10$ 員ヘテロシクリルから選択される。

【0082】

「N-アミド」基は、「 $-N(R_A)C(=O)R_B$ 」基を指し、式中、 R_A および R_B は、それぞれ独立して、本明細書において定義するように、水素、 $C_1 \sim 6$ アルキル、 $C_2 \sim 6$ アルケニル、 $C_2 \sim 6$ アルキニル、 $C_3 \sim 7$ カルボシクリル、 $C_6 \sim 10$ アリール、 $5 \sim 10$ 員ヘテロアリール、および $5 \sim 10$ 員ヘテロシクリルから選択される。

10

【0083】

「アミノ」基は、「 $-NR_A R_B$ 」基を指し、式中、 R_A および R_B は、それぞれ独立して、本明細書において定義するように、水素、 $C_1 \sim 6$ アルキル、 $C_2 \sim 6$ アルケニル、 $C_2 \sim 6$ アルキニル、 $C_3 \sim 7$ カルボシクリル、 $C_6 \sim 10$ アリール、 $5 \sim 10$ 員ヘテロアリール、および $5 \sim 10$ 員ヘテロシクリルから選択される。非限定的例としては、遊離アミノ（つまり、 $-NH_2$ ）が挙げられる。

【0084】

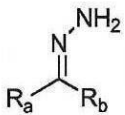
用語「ヒドラジン」または「ヒドラジニル」は、本明細書で用いる場合、 $-NHNH_2$ 基を指す。

20

【0085】

用語「ヒドラゾン」または「ヒドラゾニル」は、本明細書で用いる場合、

【化19】



基を指す。

30

【0086】

用語「ホルミル」は、本明細書で用いる場合、 $-C(O)H$ 基を指す。

【0087】

用語「ヒドロキシ」は、本明細書で用いる場合、 $-OH$ 基を指す。

【0088】

用語「アジド」は、本明細書で用いる場合、 $-N_3$ 基を指す。

【0089】

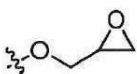
用語「チオール」は、本明細書で用いる場合、 $-SH$ 基を指す。

【0090】

用語「グリシジルエーテル」は、本明細書で用いる場合、

40

【化20】



を指す。

【0091】

用語「エポキシ」は、本明細書で用いる場合、

50

【化 2 1】



10

を指す。

【0092】

用語「エステル」は、本明細書で用いる場合、 $R - C(=O)O - R'$ を指し、式中、 R および R' は、独立して、アルキル、アルケニル、アルキニル、シクロアルキル、シクロアルケニル、シクロアルキニル、アリール、ヘテロアリール、ヘテロアリシクリル、アラルキル、(ヘテロアリシクリル)アルキル、または任意に置換されたそれらの変異体であり得る。

20

【0093】

用語「カルボン酸」または「カルボキシル」は、本明細書で用いる場合、 $-C(O)OH$ を指す。

【0094】

本明細書で用いる場合、用語「テトラジン」または「テトラジニル」は、4個の窒素原子を含む6員ヘテロアリール基を指す。テトラジンは任意に置換され得る。

【0095】

本明細書で用いる場合、置換基は、1つまたは複数の水素原子が別の原子または基と交換された、無置換の親基に由来する。別段の指示がない限り、基が「置換されている」と考えられる場合、それは、該基が、 $C_1 \sim C_6$ アルキル、 $C_1 \sim C_6$ アルケニル、 $C_1 \sim C_6$ アルキニル、 $C_1 \sim C_6$ ヘテロアルキル、 $C_3 \sim C_7$ カルボシクリル(八口、 $C_1 \sim C_6$ アルキル、 $C_1 \sim C_6$ アルコキシ、 $C_1 \sim C_6$ ハロアルキル、および $C_1 \sim C_6$ ハロアルコキシで任意に置換されている)、 $C_3 \sim C_7$ -カルボシクリル- $C_1 \sim C_6$ -アルキル(八口、 $C_1 \sim C_6$ アルキル、 $C_1 \sim C_6$ アルコキシ、 $C_1 \sim C_6$ ハロアルキル、および $C_1 \sim C_6$ ハロアルコキシで任意に置換されている)、5~10員ヘテロシクリル(八口、 $C_1 \sim C_6$ アルキル、 $C_1 \sim C_6$ アルコキシ、 $C_1 \sim C_6$ ハロアルキル、および $C_1 \sim C_6$ ハロアルコキシで任意に置換されている)、5~10員ヘテロシクリル- $C_1 \sim C_6$ -アルキル(八口、 $C_1 \sim C_6$ アルキル、 $C_1 \sim C_6$ アルコキシ、 $C_1 \sim C_6$ ハロアルキル、および $C_1 \sim C_6$ ハロアルコキシで任意に置換されている)、アリール(八口、 $C_1 \sim C_6$ アルキル、 $C_1 \sim C_6$ アルコキシ、 $C_1 \sim C_6$ ハロアルキル、および $C_1 \sim C_6$ ハロアルコキシで任意に置換されている)、アリール($C_1 \sim C_6$)アルキル(八口、 $C_1 \sim C_6$ アルキル、 $C_1 \sim C_6$ アルコキシ、 $C_1 \sim C_6$ ハロアルキル、および $C_1 \sim C_6$ ハロアルコキシで任意に置換されている)、5~10員ヘテロアリール(八口、 $C_1 \sim C_6$ アルキル、 $C_1 \sim C_6$ アルコキシ、 $C_1 \sim C_6$ ハロアルキル、および $C_1 \sim C_6$ ハロアルコキシで任意に置換されている)、5~10員ヘテロアリール($C_1 \sim C_6$)アルキル(八口、 $C_1 \sim C_6$ アルキル、 $C_1 \sim C_6$ アルコキシ、 $C_1 \sim C_6$ ハロアルキル、および $C_1 \sim C_6$ ハロアルコキシで任意に置換されている)、八口、シアノ、ヒドロキシ、 $C_1 \sim C_6$ アルコキシ、 $C_1 \sim C_6$ アルコキシ($C_1 \sim C_6$)アルキル(つまり、エーテル)、アリールオキシ、スルフヒドリル(メルカプト)、八口($C_1 \sim C_6$)アルキル(例えば、 $-CF_3$)、八口($C_1 \sim C_6$)アルコキシ(例えば、 $-OCF_3$)、 $C_1 \sim C_6$

30

40

50

アルキルチオ、アリールチオ、アミノ、アミノ(C₁~C₆)アルキル、ニトロ、O-カルバミル、N-カルバミル、O-チオカルバミル、N-チオカルバミル、C-アミド、N-アミド、S-スルホンアミド、N-スルホンアミド、C-カルボキシ、O-カルボキシ、アシル、シアナト、イソシアナト、チオシアナト、イソチオシアナト、スルフィニル、スルホニル、およびオキソ(=O)から独立して選択される1つまたは複数の置換基で置換されていることを意味する。基が「任意に置換されている(任意に置換された)」と記載されている場合、その基は、上の置換基で置換され得る。

【0096】

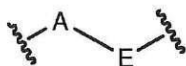
あるラジカル命名規則には、文脈に応じてモノラジカルまたはジラジカルのが含まれ得ることを理解されたい。例えば、置換基が残りの分子に対し2つの結合点を必要とする場合、置換基はジラジカルであると理解される。例えば、2つの結合点を必要とするアルキルとして特定される置換基には、-CH₂-、-CH₂CH₂-、および-CH₂CH(CH₃)CH₂-などのジラジカルが含まれる。他のラジカル命名規則は、ラジカルが「アルキレン」または「アルケニレン」などのジラジカルであることを明確に示す。

10

【0097】

置換基がジラジカル(つまり、残りの分子に対し2つの結合点を有する)として描かれる場合は常に、該置換基は別段の指示がない限り、任意の指向性をもって結合可能であることを理解されたい。したがって、例えば、-AE-または

【化22】



20

として描かれる置換基には、Aが分子の一番右の結合点に結合する場合と同様に、分子の一番左の結合点に結合するように方向づけられた置換基が含まれる。

【0098】

本明細書で開示する化合物が少なくとも1つの立体中心を有する場合、それらは個々のエナンチオマーおよびジアステレオマーとして、または、ラセミ体を含むそのような異性体の混合物として存在し得る。個々の異性体の分離または個々の異性体の選択的合成は、当業者に周知である種々の方法を適用することにより達成される。別段の指示がない限り、これらの異性体およびその混合物の全てが、本明細書で開示する化合物の範囲に含まれる。さらに、本明細書で開示する化合物は、1つまたは複数の結晶性形態またはアモルファス形態で存在し得る。別段の指示がない限り、これらの形態は全て、任意の多型形態(polymorphic form)を含む、本明細書に開示する化合物の範囲に含まれる。加えて、本明細書に開示する化合物のいくつかは、水と溶媒和物(つまり、水和物)を、または一般の有機溶媒と溶媒和物を形成し得る。別段の指示がない限り、そのような溶媒和物は、本明細書に開示する化合物の範囲に含まれる。

30

【0099】

本明細書で用いる場合、「ヌクレオチド」には、複素環式塩基を含有する窒素、糖、および1つまたは複数のリン酸基が含まれる。これらは核酸配列のモノマー単位(前駆体であれ、結合モノマーであれ)となり得る。RNAでは、糖はリボースであり、DNAではデオキシリボース、つまり、リボースの2'位置に存在するヒドロキシル基が欠けている糖である。複素環式塩基を含有する窒素は、プリン塩基またはピリミジン塩基であり得る。プリン塩基にはアデニン(A)およびグアニン(G)、ならびにその修飾誘導体またはアナログが含まれる。ピリミジン塩基にはシトシン(C)、チミン(T)、およびウラシル(U)、ならびにその修飾誘導体またはアナログが含まれる。デオキシリボースのC-1原子は、ピリミジンのN-1またはプリンN-9に結合する。

40

【0100】

本明細書で用いる場合、「ヌクレオシド」は、構造的にヌクレオチドに類似しているが

50

、5'位置で任意のリン酸部分が欠けている。用語「ヌクレオシド」は、当業者により理解される通常の意味で本明細書では用いられる。例としては、限定されるわけではないが、リボース部分を含むリボヌクレオシド、およびデオキシリボース部分を含むデオキシリボヌクレオシドが挙げられる。修飾ペントース部分は、酸素原子が炭素で置換されている、および/または、炭素が硫黄原子もしくは酸素原子で置換されているペントース部分である。「ヌクレオシド」は置換塩基および/または糖部分を有し得るモノマーである。加えてヌクレオシドは、より大きいDNAおよび/またはRNAのポリマーおよびオリゴマーに組み込まれ得る。

【0101】

本明細書で用いる場合、用語「ポリヌクレオチド」は、通常、DNA（例えば、ゲノムDNA、cDNA）、RNA（例えば、mRNA）、合成オリゴヌクレオチド、および合成核酸アナログなどの核酸を指す。ポリヌクレオチドは、天然もしくは非天然の塩基、またはそれらの組み合わせ、および、天然もしくは非天然の骨格結合、例えばホスホロチオエート、PNA、もしくは2'-O-メチル-RNA、またはそれらの組み合わせを含み得る。

10

【0102】

本明細書で用いる場合、用語「プライマー」は、遊離3'OH基付きの一本鎖を有する核酸として定義される。プライマーはまた、5'末端が修飾され、カップリング反応、またはプライマーを別の部分に結合させることを可能にする。プライマー長は任意の数の塩基長であり得、種々の非天然ヌクレオチドが含まれ得る。本明細書で用いる場合、「BCNプライマー」または「BCN修飾プライマー」は、5'末端において共有結合したビシクロ[6.1.0]ノナ-4-インを含むプライマーを指す。

20

【0103】

本明細書で用いる場合、用語「シラン」は、1つまたは複数のシリコン原子を含む有機または無機の化合物を指す。有機シラン化合物の非限定例は SiH_4 、または水素が1つまたは複数のハロゲン原子で置換されたハロゲン化 SiH_4 である。有機シラン化合物の非限定例は $\text{X-R}^{\text{C}}-\text{Si}(\text{OR}^{\text{D}})_3$ であり、式中、Xは、アミノ、ビニル、エポキシ、メタクリレート、硫黄、アルキル、アルケニル、アルキニルなどの非加水分解性有機基であり、 R^{C} はスペーサ、例えば $-(\text{CH}_2)_n-$ （式中、nは0~1000である）であり、 R^{D} は、本明細書で定義するように、水素、任意に置換されたアルキル、任意に置換されたアルケニル、任意に置換されたアルキニル、任意に置換されたカルボシクリル、任意に置換されたアリール、任意に置換された5~10員ヘテロアリール、および任意に置換された5~10員ヘテロシクリルから選択される。本明細書で用いる場合、用語「シラン」には、異なるシラン化合物の混合物が含まれ得る。

30

【0104】

本明細書で用いる場合、用語「ポリマー」は、多数の繰り返しサブユニットまたは反復単位からなる分子を指す。ポリマー構造の非限定的例としては、線形ポリマー、分岐ポリマー、または多分岐ポリマーが挙げられる。線形ポリマーの非限定的例としては、ブロックコポリマーまたはランダムコポリマーが挙げられる。分岐ポリマーの非限定的例としては、親水性セグメントと疎水性セグメントの両方を含む、星状ポリマー、星形ポリマー、または星形ブロックポリマー、親水性セグメントと疎水性セグメントの両方を含むH型ポリマー、ダンベル型ポリマー、くし状ポリマー、ブラシ状ポリマー、デンドロン化ポリマー、ラダー、およびデンドリマーが挙げられる。本明細書に記載するポリマーはまた、ポリマーナノ粒子の形態であり得る。ポリマー構成の他の例としては、限定されるわけではないが、環状ブロックポリマー、コイル-サイクル-コイル(coil-cycle-coil)ポリマーなどが挙げられる。

40

【0105】

本明細書で用いる場合、接頭辞「光(photo)」または「光(photo-)」は、光または電磁波放射に関係することを意味する。該用語は、限定されるわけではないが、スペクトルのラジオ波部分、マイクロ波部分、赤外線部分、可視光部分、紫外線部分、

50

X線部分、またはガンマ線部分として一般的に知られる範囲を1つまたは複数含む、電磁スペクトルの全てまたは一部を包含し得る。スペクトルの一部は、本明細書に記載するような金属などの表面の金属領域によりブロックされるものであり得る。あるいは、または加えて、スペクトルの一部は、ガラス、プラスチック、シリカ、または本明細書に記載する他の材料で作られた領域などの、表面の間隙領域を通過するものであり得る。特定の実施形態では、金属を通過することのできる放射線を用いることが可能である。あるいは、または加えて、ガラス、プラスチック、シリカ、または本明細書に記載する他の材料によりマスクされる放射線を用いることが可能である。

【0106】

本明細書で用いる場合、用語「YES法」は、Illumina社により開発された化学蒸着プロセスを有するYield Engineering Systems(「YES」)により提供される化学蒸着ツールを指す。それには3つの異なる蒸着システムが含まれる。自動化YES-VertaCoatシラン蒸気システムは、200または300mmウェハを収容することができる、可撓性ウェハハンドリングモジュールを用いた大量生産のために設計されたものである。手動搭載型YES-1224Pシラン蒸着システムは、その変更可能な大容量チャンバを用いた多目的な大量生産用に設計されたものである。Yes-LabKoteは、実現可能性調査およびR&Dに理想的な、低コストの卓上型である。

10

【0107】

本明細書で用いる場合、用語「残留表面比率」は、P5/P7表面プライマーを染色するTETQCを用いて測定される強度を指し得る。P5プライマーおよびP7プライマーは、HiSeq(登録商標)、MiSeq(登録商標)、Genome Analyzer(登録商標)、およびNextSeq(登録商標)プラットフォーム上でシーケンシングするために、Illumina社により販売されている、市販のフローセルの表面で用いられる。プライマーの配列は米国特許出願公開第2011/0059865号明細書に記載されており、これは参照により本明細書に組み込まれる。P5プライマーおよびP7プライマーの配列には以下が含まれる。

20

ペアエンド組:

P5: ペアエンド5' 3'
AATGATACGGCGACCAACCGAGAUCTACAC
P7: ペアエンド5' 3'
CAAGCAGAAGACGGCATA CGAG*AT

30

単一リード組:

P5: 単一リード: 5' 3'
AATGATACGGCGACCAACCGA
P7: 単一リード5' 3'
CAAGCAGAAGACGGCATA CGA

【0108】

一部の実施形態では、P5プライマーおよびP7プライマーは、5'末端においてリンカーまたはスペーサを含み得る。そのようなリンカーまたはスペーサは、切断を可能にするため、例えばポリマーもしくは固体支持体への共有結合を可能にするなど他の所望の特性を授けるため、または、スペーサとして機能して、切断部位を固体支持体から適切な距離を置いて位置づけるために、含まれ得る。ある場合では、10個のスペーサヌクレオチドを、P5プライマーまたはP7プライマーのポリマーまたは固体支持体への結合点の間に位置付けることができる。一部の実施形態では、polyTスペーサを用いるが、ただし、他のヌクレオチドおよびそれらの組み合わせも用いることが可能である。一実施形態では、スペーサは10Tスペーサである。TETはP5/P7プライマーに対し相補的な配列を有する色素標識オリゴヌクレオチドである。TETは表面上でP5/P7プライマーにハイブリダイズすることが可能であり、過剰なTETは洗い流され、結合した色素濃度は、Typhoon Scanner(General Electric)などのス

40

50

キャン機器を用いた蛍光検出により測定することが可能である。

【0109】

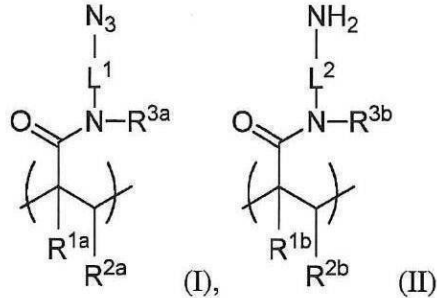
ポリマーおよびDNAコポリマー

式(I)および式(II)の反復単位を有するポリマーおよび核酸コポリマー

本明細書に記載する一部の実施形態は、上記のように式(I)の反復単位および式(II)の反復単位を含む、表面官能化のためのポリマーに関する。

【0110】

【化23】



10

【0111】

式中、 R^{1a} 、 R^{2a} 、 R^{1b} 、および R^{2b} は、それぞれ独立して、水素、任意に置換されたアルキル、または任意に置換されたフェニルから選択され、 R^{3a} および R^{3b} は、それぞれ独立して、水素、任意に置換されたアルキル、任意に置換されたフェニル、または任意に置換された C_{7-14} アラルキルから選択され、 L^1 および L^2 は、それぞれ独立して、任意に置換されたアルキレンリンカー、または任意に置換されたヘテロアルキレンリンカーから選択される。

20

【0112】

一部の実施形態では、 R^{1a} は、水素である。一部の実施形態では、 R^{2a} は、水素である。一部の実施形態では、 R^{3a} は、水素である。一部の実施形態では、 R^{1a} は、水素または任意に置換されたアルキル、好適には C_{1-6} アルキルから選択され、 R^{2a} および R^{3a} は、それぞれ水素である。一部の実施形態では、 R^{1a} 、 R^{2a} および R^{3a} は、それぞれ水素である。一部の実施形態では、 R^{1b} は、水素である。一部の実施形態では、 R^{2b} は、水素である。一部の実施形態では、 R^{3b} は、水素である。一部の実施形態では、 R^{1b} は、水素または任意に置換されたアルキル、好適には C_{1-6} アルキルから選択され、 R^{2b} および R^{3b} は、それぞれ水素である。一部の実施形態では、 R^{1b} 、 R^{2b} および R^{3b} は、それぞれ水素である。一部の実施形態では、 L^1 は、任意に置換されたアルキレンである。一部のそのような実施形態では、 L^1 は、任意に置換されたメチレンである。一部の他の実施形態では、 L^1 は、任意に置換されたエチレンである。一部のさらなる実施形態では、 L^1 は、任意に置換されたプロピレンである。一部の実施形態では、 L^1 は、任意に置換されたヘテロアルキレンリンカーである。一部のそのような実施形態では、 L^1 は、1つまたは複数のオキシ基で任意に置換された $(CH_2)_m-NH-(CH_2)_n-$ であって、式中、 m および n はそれぞれ、1~10から独立して選択される整数である。一部の実施形態では、 L^2 は、任意に置換されたアルキレンである。一部のそのような実施形態では、 L^2 は、任意に置換されたメチレンである。一部の他の実施形態では、 L^2 は、任意に置換されたエチレンである。一部のさらなる実施形態では、 L^2 は、任意に置換されたプロピレンである。一部の実施形態では、式(I)の反復単位は、式(Ia)または式(Ib)によっても表され、式(II)は、式(IIa)によっても表される。

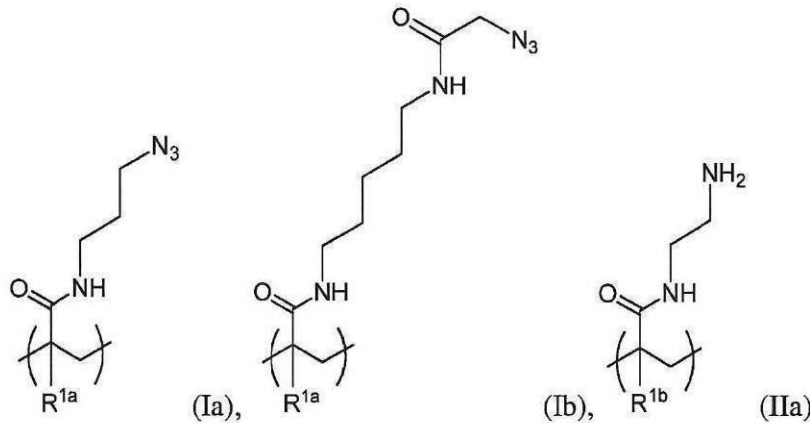
30

40

【0113】

50

【化 2 4】



10

【0114】

式中、R^{1a}およびR^{1b}は、それぞれ水素またはメチルから選択される。一部の実施形態では、ポリマーは、式(Ia)および式(IIa)の反復単位を含む。一部の他の実施形態では、ポリマーは、式(Ib)および式(IIa)の反復単位を含む。式(II)または式(IIa)の反復単位の一部の実施形態では、アミノ官能基は、無機塩、例えば塩酸塩の形態である。一部の実施形態では、式(I)および式(II)の反復単位のモル比率は、約1:1である。一部のそのような実施形態では、式(Ia)および式(IIa)の反復単位のモル比率は、約1:1である。一部のそのような実施形態では、式(Ib)および式(IIa)の反復単位のモル比率は、約1:1である。

20

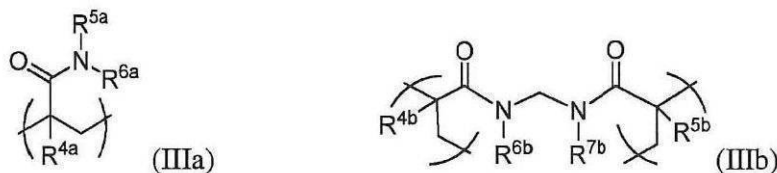
【0115】

一部の実施形態では、ポリマーはさらに、ポリアクリルアミド、ポリアクリレート、ポリウレタン、ポリシロキサン、シリコーン、ポリアクロレイン、ポリホスファゼン、ポリイソシアネート、ポリオール、およびポリサッカライドからなる群から選択される反復単位もしくはそれらの組み合わせを、1つまたは複数含む得る。一部のそのような実施形態では、ポリマーはさらに、式(IIIa)もしくは式(IIIb)またはその両方のポリアクリルアミドの反復単位を1つまたは複数含む得る。

30

【0116】

【化 2 5】



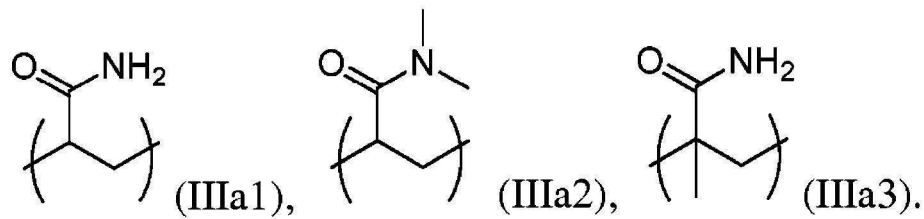
【0117】

式中、R^{4a}、R^{4b}、およびR^{5b}は、それぞれ水素またはC₁~₃アルキルから選択され、R^{5a}、R^{6a}、R^{6b}、およびR^{7b}は、それぞれ独立して、水素、任意に置換されたC₁~₆アルキル、または任意に置換されたフェニルから選択される。一部の実施形態では、R^{4a}、R^{4b}、およびR^{5b}は、それぞれ水素またはメチルから選択される。一部の実施形態では、R^{6b}およびR^{7b}の両方が、水素である。一部の実施形態では、R^{5a}またはR^{6a}の少なくとも一方が、水素である。一部のそのような実施形態では、R^{5a}およびR^{6a}の両方が、水素である。一部の他の実施形態では、R^{5a}またはR^{6a}の少なくとも一方が、メチルである。一部のそのような実施形態では、R^{5a}およびR^{6a}の両方が、メチルである。一部のそのような実施形態では、式(IIIa)の反復単位は、(IIIa1)、(IIIa2)、または(IIIa3)：

40

50

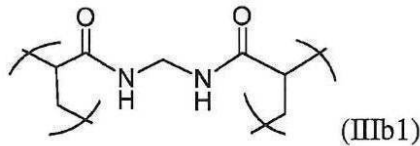
【化 2 6】



10

によっても表される。一部のそのような実施形態では、式 (I I I b) の反復単位は、(I I I b 1) :

【化 2 7】



によっても表される。

20

【 0 1 1 8】

一部の特定の実施形態では、ポリマーは、式 (I b)、式 (I I a)、および式 (I I I a) の反復単位を含む。一部のさらなる実施形態では、ポリマーは、式 (I b)、式 (I I a)、式 (I I I a)、および式 (I I I b) の反復単位を含む。一部のそのような実施形態では、式 (I I I a) のモル百分率は、約 8 5 % ~ 約 9 0 % である。一部のそのような実施形態では、式 (I b) および式 (I I a) のモル百分率は、それぞれ約 5 % である、一実施形態では、ポリマーは、約 9 0 % 対約 5 % 対約 5 % のモル百分率で、式 (I I I a 1)、式 (I b)、および式 (I I a) の反復単位を含む。別の実施形態では、ポリマーは、約 8 5 % 対約 5 % 対約 1 0 % のモル百分率で、式 (I I I a 1)、式 (I b)、および式 (I I a) の反復単位を含む。さらに別の実施形態では、ポリマーは、約 9 0 % 対約 5 % 対約 5 % のモル百分率で、式 (I I I a 2)、式 (I b)、および式 (I I a) の反復単位を含む。一部のさらなる実施形態では、ポリマーはさらに、約 0 . 5 モル % ~ 約 2 モル % の式 (I I I b 1) の反復単位を含み得る。

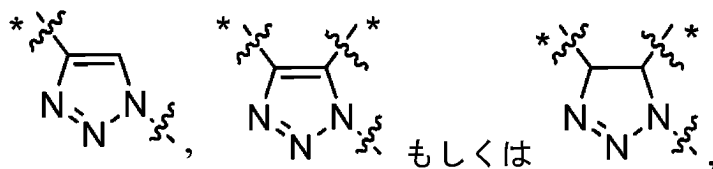
30

【 0 1 1 9】

本明細書に記載する一部の実施形態は、本明細書に記載するように、式 (I) の反復単位および式 (I I) の反復単位を有するポリマーに共有結合した官能化オリゴヌクレオチドを含む、グラフト化ポリマーに関する。一部の実施形態では、ポリマーはさらに、上記の種々の異なるポリマー骨格の反復単位、例えば、式 (I I I a) もしくは式 (I I I b)) またはその両方のポリアクリルアミドの反復単位を 1 つまたは複数含み得る。一部の実施形態では、官能化オリゴヌクレオチドとポリマーとの間の共有結合は、構造部分

40

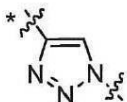
【化 2 8】



50

またはそれらの組み合わせを含み、式中、*は、官能化オリゴヌクレオチドとの連結点を示す。一部のそのような実施形態では、官能化オリゴヌクレオチドとポリマーとの間の共有結合は構造部分

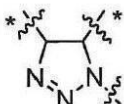
【化 29】



を含む。一部の他のそのような実施形態では、官能化オリゴヌクレオチドとポリマーとの間の共有結合は、構造部分

10

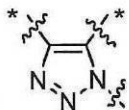
【化 30】



を含む。一部のそのような実施形態では、官能化オリゴヌクレオチドとポリマーとの間の共有結合は、構造部分

20

【化 31】



を含む。一部の実施形態では、官能化オリゴヌクレオチドの1つまたは複数の官能基をポリマーと反応させることによりグラフト化ポリマーを調製するが、前記1つまたは複数の官能部分には、アルキン、シクロアルケン、シクロアルキン、ヘテロシクロアルケン、ヘテロシクロアルキン、任意に置換されたそれらの変異体、もしくはそれらの組み合わせが含まれる、または、前記1つまたは複数の官能部分は、アルキン、シクロアルケン、シクロアルキン、ヘテロシクロアルケン、ヘテロシクロアルキン、任意に置換されたそれらの変異体、もしくはそれらの組み合わせから選択される。一部のそのような実施形態では、前記1つまたは複数の官能基にはアルキンが含まれる、または、前記1つまたは複数の官能基はアルキンから選択される。一部の他の実施形態では、前記1つまたは複数の官能部分には、ノルボルネン、シクロオクチン、ビスシクロノニン、任意に置換されたそれらの変異体、もしくはそれらの組み合わせが含まれる、または、前記1つまたは複数の官能部分は、ノルボルネン、シクロオクチン、ビスシクロノニン、任意に置換されたそれらの変異体、もしくはそれらの組み合わせから選択される。一実施形態では、ビスシクロノニンはビスシクロ[6.1.0]ノナ-4-インである。一部のそのような実施形態では、ポリマーのアジド基を前記官能化オリゴヌクレオチドの1つまたは複数の官能基、例えばビスシクロ[6.1.0]ノナ-4-インと反応させることにより、グラフト化ポリマーを調製する。

30

40

【0120】

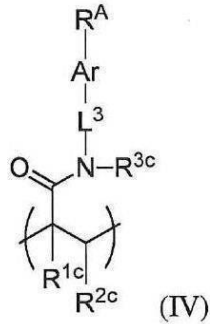
式(IV)の反復単位を有するポリマーおよび核酸コポリマー

本明細書に記載する一部の実施形態は、上記のように式(IV)の反復単位を含む、表面官能化のためのポリマーに関する。

【0121】

50

【化 3 2】



10

【0 1 2 2】

式中、 R^{1c} および R^{2c} は、それぞれ独立して、水素、任意に置換されたアルキル、または任意に置換されたフェニルから選択され、 R^{3c} は、水素、任意に置換されたアルキル、任意に置換されたフェニル、または任意に置換された $C_7 \sim 14$ アラルキルから選択され、 Ar は、任意に置換された $C_6 \sim 10$ アリール、または任意に置換された 5 員もしくは 6 員ヘテロアリールから選択され、 R^A は、任意に置換されたテトラジンであり、 L^3 は、一重結合、任意に置換されたアルキレンリンカー、または任意に置換されたヘテロアルキレンリンカーから選択される。

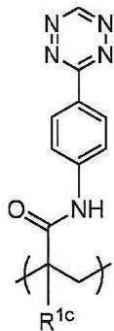
【0 1 2 3】

一部の実施形態では、 R^{1c} は、水素である。一部の実施形態では、 R^{2c} は、水素である。一部の実施形態では、 R^{3c} は、水素である。一部の実施形態では、 R^{1c} は、水素または任意に置換されたアルキル、好適には $C_1 \sim 6$ アルキルから選択され、 R^{2c} および R^{3c} はそれぞれ水素である。一部の実施形態では、 R^{1c} 、 R^{2c} 、および R^{3c} は、それぞれ水素である。一部の実施形態では、 Ar は、任意に置換されたフェニルである。一部の実施形態では、 L^3 は、一重結合である。一部の実施形態では、式 (IV) の反復単位は、式 (IV a) によっても表される。

20

【0 1 2 4】

【化 3 3】



30

【0 1 2 5】

式中、 R^{1c} は、水素またはメチルから選択される。

40

【0 1 2 6】

一部の実施形態では、ポリマーはさらに、ポリアクリルアミド、ポリアクリレート、ポリウレタン、ポリシロキサン、シリコーン、ポリアクロレイン、ポリホスファゼン、ポリイソシアネート、ポリオール、およびポリサッカライドからなる群から選択される反復単位もしくはそれらの組み合わせを、1 つまたは複数含み得る。一部のそのような実施形態では、ポリマーはさらに、上記に示す構造を有する式 (III a) もしくは式 (III b) のポリアクリルアミドの反復単位を 1 つまたは複数含み得る。

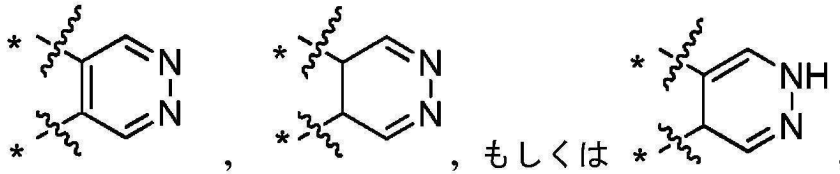
【0 1 2 7】

本明細書に記載の一部の実施形態は、本明細書に記載するように、式 (IV) の反復単

50

位を有するポリマーに共有結合した官能化オリゴヌクレオチドを含む、グラフト化ポリマーに関する。一部の実施形態では、ポリマーはさらに、上記の種々の異なるポリマー骨格の反復単位、例えば、式(III a)もしくは式(III b)またはその両方のポリアクリルアミドの反復単位を1つまたは複数含む得る。一部の実施形態では、官能化オリゴヌクレオチドとポリマーとの間の共有結合は、構造部分

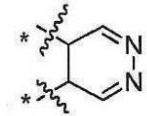
【化34】



10

またはそれらの組み合わせを含み、式中、*は、ポリマーの官能化オリゴヌクレオチドとの連結点を示す。一部のそのような実施形態では、官能化オリゴヌクレオチドとポリマーとの間の共有結合は、構造部分

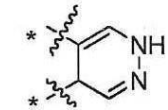
【化35】



20

を含む。一部の他のそのような実施形態では、官能化オリゴヌクレオチドとポリマーとの間の共有結合は、構造部分

【化36】



30

を含む。一部の実施形態では、官能化オリゴヌクレオチドの1つまたは複数の官能基をポリマーと反応させることによりグラフト化ポリマーを調製するが、前記1つまたは複数の官能部分には、アルキン、シクロアルケン、シクロアルキン、ヘテロシクロアルケン、ヘテロシクロアルキン、任意に置換されたそれらの変異体、もしくはそれらの組み合わせが含まれる、または、前記1つまたは複数の官能部分は、アルキン、シクロアルケン、シクロアルキン、ヘテロシクロアルケン、ヘテロシクロアルキン、任意に置換されたそれらの変異体、もしくはそれらの組み合わせから選択される。一部のそのような実施形態では、1つまたは複数の官能部分には、ノルボルネン、シクロオクチン、ビスシクロノニン、任意に置換されたそれらの変異体、もしくはそれらの組み合わせが含まれ得る、または、1つまたは複数の官能部分は、ノルボルネン、シクロオクチン、ビスシクロノニン、任意に置換されたそれらの変異体、もしくはそれらの組み合わせから選択され得る。一実施形態では、ビスシクロノニンはビスシクロ[6.1.0]ノナ-4-インである。一部のそのような実施形態では、ポリマーのテトラジン基を前記官能化オリゴヌクレオチドの1つまたは複数の官能基、例えばビスシクロ[6.1.0]ノナ-4-インと反応させることにより、グラフト化ポリマーを調製する。

40

【0128】

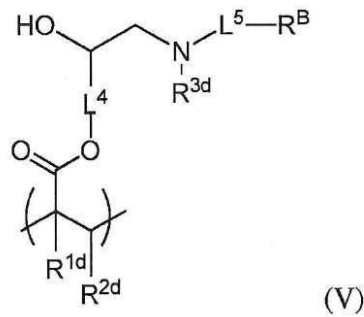
式(V)の反復単位を有するポリマーおよび核酸コポリマー

本明細書に記載の一部の実施形態は、上記のように式(V)の反復単位を含む、表面官能化のためのポリマーに関する。

50

【 0 1 2 9 】

【 化 3 7 】



10

【 0 1 3 0 】

式中、 R^{1d} および R^{2d} は、それぞれ独立して、水素、任意に置換されたアルキル、または任意に置換されたフェニルから選択され、 R^{3d} は、それぞれ、水素、任意に置換されたアルキル、任意に置換されたフェニル、または任意に置換された C_{7-14} アラルキルから選択され、 R^B は、アジド、任意に置換されたアミノ、Boc保護アミノ、ヒドロキシ、チオール、アルキニル、アルケニル、ハロ、エポキシ、テトラジニル、またはアルデヒドから選択され、 L^4 および L^5 は、それぞれ独立して、任意に置換されたアルキレンリンカーまたは任意に置換されたヘテロアルキレンリンカーから選択される。

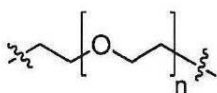
20

【 0 1 3 1 】

一部の実施形態では、 R^{1d} は、アルキル基、好適には C_{1-6} アルキルである。一部のそのような実施形態では、 R^{1d} は、メチルである。一部の他の実施形態では、 R^{1d} は、水素である。一部の実施形態では、 R^{2d} は、水素である。一部の実施形態では、 R^{3d} は、水素である。一部の実施形態では、 R^{2d} および R^{3d} は、それぞれ水素である。一部の実施形態では、 R^B は、アジド、アミノ、もしくはBoc保護アミノ、またはそれらの組み合わせから選択される。一部の実施形態では、 L^4 は、任意に置換されたアルキレンリンカーである。一部のそのような実施形態では、 L^4 は、メチレンリンカーである。一部の実施形態では、 L^5 は、任意に置換されたヘテロアルキレンリンカーである。一部のそのような実施形態では、 L^5 は、

30

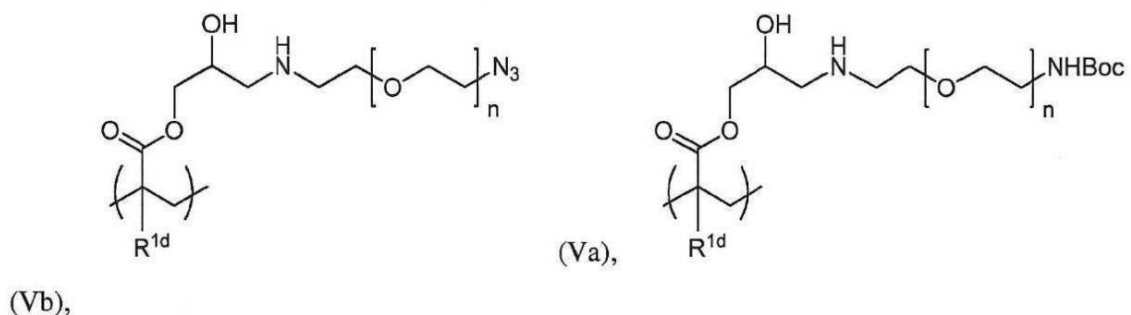
【 化 3 8 】



であって、式中、 n は、1 ~ 50の整数である。一部の実施形態では、式Vの反復単位は、式(Va)または式(Vb)によっても表される。

【 0 1 3 2 】

【 化 3 9 】



40

【 0 1 3 3 】

50

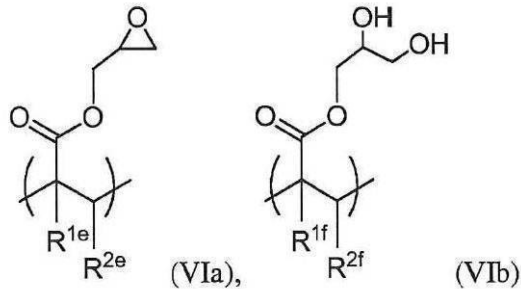
式中、 R^{1d} は、それぞれ独立して、水素またはメチルから選択される。一部のそのような実施形態では、 n は、1 ~ 20 の整数である。一部のそのような実施形態では、 n は、1 ~ 10 の整数である。一部のそのような実施形態では、 n は、1 ~ 5 の整数である。一実施形態では、 n は、3 である。一部の実施形態では、ポリマーは、式 (V a) および式 (V b) の両方を含む。

【0134】

一部の実施形態では、ポリマーはさらに、式 (VI a) もしくは式 (VI b) またはその両方の反復単位を含み得る。

【0135】

【化40】



【0136】

式中、 R^{1e} 、 R^{2e} 、 R^{1f} 、および R^{2f} は、それぞれ独立して、水素、任意に置換されたアルキル、または任意に置換されたフェニルから選択される。一部のそのような実施形態では、 R^{1e} は、アルキル、好適には C_{1-6} アルキル、例えばメチルである。一部の他の実施形態では、 R^{1e} は、水素である。一部の実施形態では、 R^{2e} は、水素である。一部のそのような実施形態では、 R^{1f} は、アルキル、好適には C_{1-6} アルキル、例えばメチルである。一部の他の実施形態では、 R^{1f} は、水素である。一部の実施形態では、 R^{2f} は、水素である。

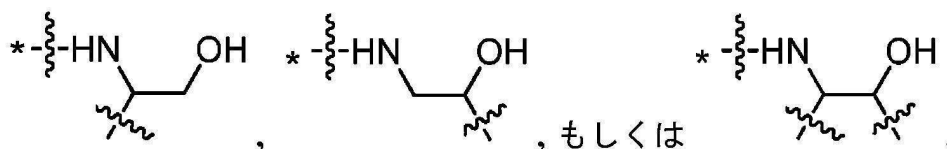
【0137】

一部の実施形態では、ポリマーはさらに、ポリアクリルアミド、ポリアクリレート、ポリウレタン、ポリシロキサン、シリコーン、ポリアクロレイン、ポリホスファゼン、ポリイソシアネート、ポリオール、およびポリサッカライドからなる群から選択される反復単位もしくはそれらの組み合わせを、1つまたは複数含み得る。一部のそのような実施形態では、ポリマーはさらに、上記に示す構造を有する式 (III a) もしくは式 (III b) のポリアクリルアミドの反復単位を1つまたは複数含み得る。

【0138】

本明細書に記載する一部の実施形態は、本明細書に記載するように、式 (V) の反復単位を有するポリマーに共有結合した官能化オリゴヌクレオチドを含む、グラフト化ポリマーに関する。一部の実施形態では、ポリマーはさらに、式 (VI a) もしくは式 (VI b) またはその両方の反復単位を含み得る。一部の実施形態では、官能化オリゴヌクレオチドとポリマーとの間の共有結合は、構造部分

【化41】



またはそれらの組み合わせを含み、式中、* は、ポリマーの官能化オリゴヌクレオチドとの連結点を示す。一部のそのような実施形態では、官能化オリゴヌクレオチドとポリマー

10

20

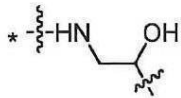
30

40

50

との間の共有結合は構造部分

【化 4 2】



を含む。一部の実施形態では、官能化オリゴヌクレオチドの1つまたは複数の官能基をポリマーと反応させることによりグラフト化ポリマーを調製するが、前記1つまたは複数の官能基には、任意に置換されたアミノ、ヒドロキシ、チオール、カルボキシル、酸無水物、もしくはそれらの組み合わせが含まれる、または、前記1つまたは複数の官能基は、任意に置換されたアミノ、ヒドロキシ、チオール、カルボキシル、酸無水物、もしくはそれらの組み合わせから選択される。一部の実施形態では、官能化オリゴヌクレオチドは、1つまたは複数の任意に置換されたアミノ基を含む。一部のそのような実施形態ではアミノ基は置換されていない。一部のそのような実施形態では、ポリマーのグリシジルエーテル基またはエポキシ基を、前記官能化オリゴヌクレオチドの1つまたは複数のアミノ基と反応させることにより、グラフト化ポリマーを調製する。一部のそのような実施形態では、ポリマーのエポキシ基は式(V I a)の反復単位に由来する。

10

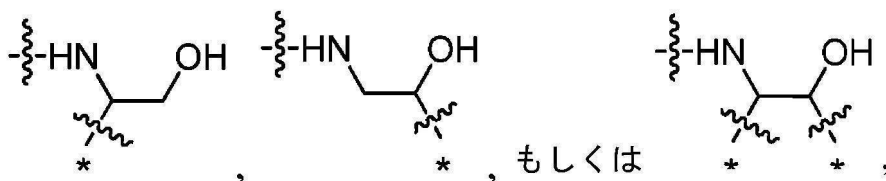
【0 1 3 9】

基材

本明細書に記載する一部の実施形態は、本明細書に記載するように、式(I)の反復単位および式(II)の反復単位を有するポリマーが共有結合した第1表面を備える基材に関する。一部の実施形態では、ポリマーはさらに、ポリアクリルアミド、ポリアクリレート、ポリウレタン、ポリシロキサン、シリコン、ポリアクロレイン、ポリホスファゼン、ポリイソシアネート、ポリオール、およびポリサッカライドからなる群から選択される反復単位もしくはそれらの組み合わせを、1つまたは複数含む得る。一部のそのような実施形態では、ポリマーはさらに、下記に示す構造を有する式(III a)もしくは式(III b)のポリアクリルアミドの反復単位を1つまたは複数含む得る。一部の実施形態では、ポリマーと基材との間の共有結合は、アミンエポキシ開環反応により形成される。一部の実施形態では、ポリマーと基材の第1表面との間の共有結合は、構造部分

20

【化 4 3】

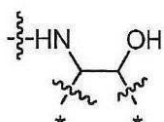


30

またはそれらの組み合わせを含み、ここにおいて置換アミノは、式(II)の反復単位に由来し、式中、*は、ポリマーの基材の、第1表面との連結点を示す。一部のそのような実施形態では、ポリマーと第1表面との間の共有結合は、構造部分

40

【化 4 4】



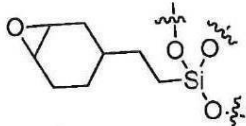
を含む。一部の実施形態では、ポリマーを第1表面に共有結合した第1の複数の官能基と反応させることにより基材を調製するが、前記第1の複数の官能基には、ビニル、アクリ

50

ロイル、アルケニル、シクロアルケニル、ヘテロシクロアルケニル、アルキニル、シクロアルキニル、ヘテロシクロアルキニル、ニトレン、アルデヒド、ヒドラジニル、グリシジルエーテル、エポキシ、カルベン、イソシアネート、マレイミド、任意に置換されたそれらの変異体、もしくはそれらの組み合わせが含まれる、または、前記第 1 の複数の官能基は、ビニル、アクリロイル、アルケニル、シクロアルケニル、ヘテロシクロアルケニル、アルキニル、シクロアルキニル、ヘテロシクロアルキニル、ニトレン、アルデヒド、ヒドラジニル、グリシジルエーテル、エポキシ、カルベン、イソシアネート、マレイミド、任意に置換されたそれらの変異体、もしくはそれらの組み合わせから選択される。一部のそのような実施形態では、第 1 の複数の官能基にはエポキシ基が含まれる、または、第 1 の複数の官能基はエポキシ基から選択される。一実施形態では、前記エポキシ基は構造

10

【化 4 5】



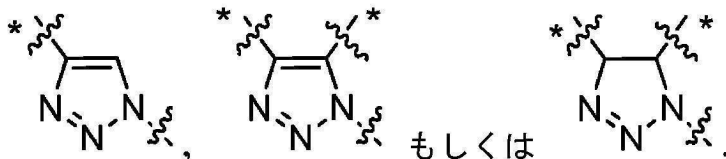
を有する。一部の実施形態では、ポリマーのアミノ基を第 1 表面のエポキシ基と反応させることにより基材を調製する。一部の実施形態では、上記の前記第 1 の複数の官能基を含む官能化シランで表面を前処理し、官能化シランの第 1 の複数の官能基との反応を介してポリマーを第 1 表面に共有結合させる。

20

【0 1 4 0】

一部の実施形態では、基材はさらに、ポリマーに共有結合した官能化オリゴヌクレオチドを含む。一部の実施形態では、オリゴヌクレオチドとポリマーとの間の共有結合は、アジドクリック環化付加反応により形成される。一部の実施形態は、官能化オリゴヌクレオチドとポリマーとの間の共有結合は、構造部分

【化 4 6】



30

またはそれらの組み合わせを含み、式中、* は、ポリマーの、官能化オリゴヌクレオチドとの連結点を示す。一部のそのような実施形態では、官能化オリゴヌクレオチドの 1 つまたは複数の官能基をポリマーのアジド基と反応させることにより官能化オリゴヌクレオチドをポリマーに共有結合させるが、前記 1 つもしくは複数の官能部分には、アルキン、シクロアルケン、シクロアルキン、ヘテロシクロアルケン、ヘテロシクロアルキン、任意に置換されたそれらの変異体、もしくはそれらの組み合わせが含まれる、または、前記 1 つもしくは複数の官能部分は、アルキン、シクロアルケン、シクロアルキン、ヘテロシクロアルケン、ヘテロシクロアルキン、任意に置換されたそれらの変異体、もしくはそれらの組み合わせから選択される。一部のそのような実施形態では、前記 1 つまたは複数の官能基にはアルキンが含まれる。一部の他の実施形態では、前記 1 つもしくは複数の官能部分には、ノルボルネン、シクロオクチン、ビスクロノニン、任意に置換されたそれらの変異体、もしくはそれらの組み合わせが含まれる、または、前記 1 つもしくは複数の官能部分は、ノルボルネン、シクロオクチン、ビスクロノニン、任意に置換されたそれらの変異体、もしくはそれらの組み合わせから選択される。一実施形態では、ビスクロノニンはビスクロ[6.1.0]ノナ-4-インである。一部の実施形態では、ポリマーのアジド基を

40

50

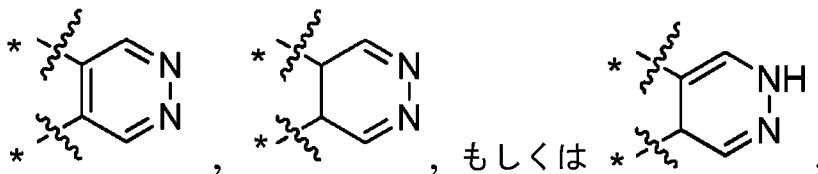
官能化オリゴヌクレオチドの1つまたは複数のアルキン部分と反応させることにより、官能化オリゴヌクレオチドをポリマーと共有結合させる。一部の他の実施形態では、ポリマーのアジド基を官能化オリゴヌクレオチドの1つまたは複数のビシクロ[6.1.0]ノナ-4-インと反応させることにより、官能化オリゴヌクレオチドをポリマーに共有結合させる。

【0141】

本明細書に記載する一部の実施形態は、本明細書に記載するように、式(IV)の反復単位を有するポリマーが共有結合した第1表面を備える基材に関する。一部の実施形態では、ポリマーはさらに、ポリアクリルアミド、ポリアクリレート、ポリウレタン、ポリシロキサン、シリコン、ポリアクロレイン、ポリホスファゼン、ポリイソシアネート、ポリオール、およびポリサッカライドからなる群から選択される反復単位もしくはそれらの組み合わせを、1つまたは複数含む得る。一部のそのような実施形態では、ポリマーはさらに、以下に示す構造を有する式(IIIa)もしくは式(IIIb)のポリアクリルアミドの反復単位を1つまたは複数含む得る。一部の実施形態では、ポリマーと基材との間の共有結合はテトラジン・ディールス・アルダー反応により形成され、これは窒素ガスの除去をもたらす。一部の実施形態では、ポリマーと基材の第1表面との間の共有結合は、構造部分

10

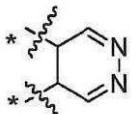
【化47】



20

またはそれらの組み合わせを含み、式中、*は、ポリマーの、第1表面との連結点を示す。一部のそのような実施形態では、ポリマーと第1表面との間の共有結合は、構造部分

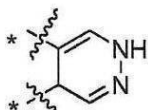
【化48】



30

を含む。一部の他のそのような実施形態では、ポリマーと第1表面との間の共有結合は、構造部分

【化49】



40

を含む。一部の実施形態では、ポリマーを第1表面に共有結合した第1の複数の官能基と反応させることにより基材を調製するが、前記第1の複数の官能基には、ビニル、アクリロイル、アルケニル、シクロアルケニル、ヘテロシクロアルケニル、アルキニル、シクロアルキニル、ヘテロシクロアルキニル、ニトレン、アルデヒド、ヒドラジニル、グリシジルエーテル、エポキシ、カルベン、イソシアネート、マレイミド、任意に置換されたそれらの変異体、もしくはそれらの組み合わせが含まれる、または、前記第1の複数の官能基は、ビニル、アクリロイル、アルケニル、シクロアルケニル、ヘテロシクロアルケニル、

50

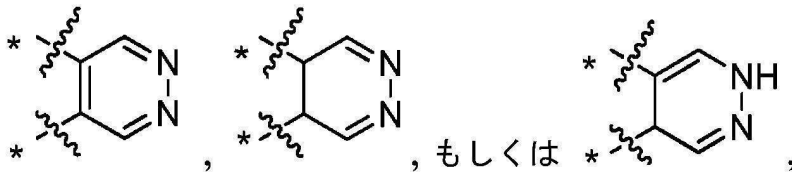
アルキニル、シクロアルキニル、ヘテロシクロアルキニル、ニトレン、アルデヒド、ヒドラジニル、グリシジルエーテル、エポキシ、カルベン、イソシアネート、マレイミド、任意に置換されたそれらの変異体、もしくはそれらの組み合わせから選択される。一部のそのような実施形態では、前記第 1 の複数の官能基には、任意に置換されたシクロアルケニル基が含まれる、または、前記第 1 の複数の官能基は、任意に置換されたシクロアルケニル基から選択される。一実施形態では、前記シクロアルケニルはノルボルネンである。一部の実施形態では、ポリマーのテトラジン基を第 1 表面のノルボルネン基と反応させることにより、基材を調製する。一部の実施形態では、上記のように前記第 1 の複数の官能基を含む官能化シランで表面を前処理し、官能化シランの第 1 の複数の官能基との反応を介してポリマーを第 1 表面に共有結合させる。

10

【0142】

一部の実施形態では、基材はさらに、ポリマーに共有結合した官能化オリゴヌクレオチドを含む。一部の実施形態では、オリゴヌクレオチドとポリマーとの間の共有結合はテトラジン・ディールス・アルダー反応により形成され、これは窒素ガスの除去をもたらす。一部の実施形態では、官能化オリゴヌクレオチドとポリマーとの間の共有結合は、構造部分

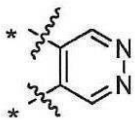
【化50】



20

またはそれらの組み合わせを含み、式中、*は、ポリマーの、官能化オリゴヌクレオチドとの連結点を示す。一部のそのような実施形態では、官能化オリゴヌクレオチドとポリマーとの間の共有結合は、構造部分

【化51】



30

を含む。一部のそのような実施形態では、官能化オリゴヌクレオチドの 1 つまたは複数の官能基をポリマーのテトラジン基と反応させることにより、官能化オリゴヌクレオチドをポリマーに共有結合させるが、前記 1 つもしくは複数の官能部分には、アルキン、シクロアルケン、シクロアルキン、ヘテロシクロアルケン、ヘテロシクロアルキン、任意に置換されたそれらの変異体、もしくはそれらの組み合わせが含まれる、または、前記 1 つもしくは複数の官能部分は、アルキン、シクロアルケン、シクロアルキン、ヘテロシクロアルケン、ヘテロシクロアルキン、任意に置換されたそれらの変異体、もしくはそれらの組み合わせから選択される。一部のそのような実施形態では、前記 1 つもしくは複数の官能部分には、ノルボルネン、シクロオクチン、ビスシクロノニン、任意に置換されたそれらの変異体、もしくはそれらの組み合わせが含まれる、または、前記 1 つもしくは複数の官能部分は、ノルボルネン、シクロオクチン、ビスシクロノニン、任意に置換されたそれらの変異体、もしくはそれらの組み合わせから選択される。一実施形態では、ビスシクロノニンはビスシクロ[6.1.0]ノナ-4-インである。一部のそのような実施形態では、ポリマーのテトラジン基を官能化オリゴヌクレオチドの 1 つまたは複数のビスシクロ[6.1.0]ノナ-4-イン部分と反応させることにより、官能化オリゴヌクレオチドをポリマーに共有結合させる。

40

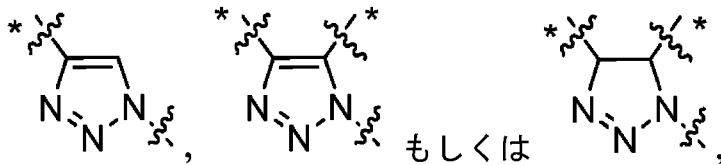
【0143】

50

本明細書に記載する一部の実施形態は、本明細書に記載するように、式(V)の反復単位を有するポリマーが共有結合した第1表面を備える基材に関する。一部の実施形態では、ポリマーはさらに、ポリアクリルアミド、ポリアクリレート、ポリウレタン、ポリシロキサン、シリコン、ポリアクロレイン、ポリホスファゼン、ポリイソシアネート、ポリオール、およびポリサッカライドからなる群から選択される反復単位もしくはそれらの組み合わせを、1つまたは複数含む得る。一部の実施形態では、ポリマーはさらに、式(VI a)もしくは式(VI b)またはその両方の反復単位を含み得る。一部の実施形態では、ポリマーと基材との間の共有結合は、アミンエポキシ開環反応により形成される。一部の他の実施形態では、ポリマーと基材との間の共有結合は、アジドクリック環化付加反応により形成される。一部の実施形態では、ポリマーと基材の第1表面との間の共有結合は、

10

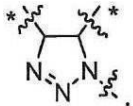
【化52】



20

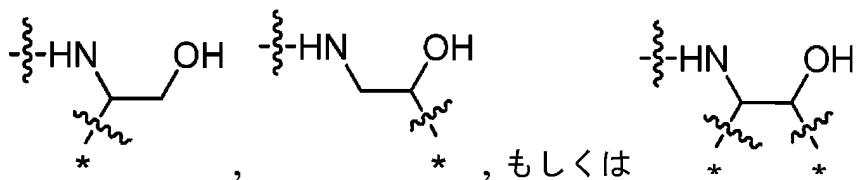
またはそれらの組み合わせを含み、式中、*は、ポリマーの、第1表面との連結点を示す。一部のそのような実施形態では、ポリマーと第1表面との間の共有結合は、

【化53】



を含む。一部の他の実施形態では、ポリマーと第1表面との間の共有結合は、

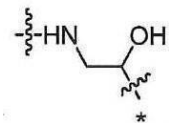
【化54】



30

またはそれらの組み合わせを含み、式中、*は、ポリマーの、第1表面との連結点を示す。一部のそのような実施形態では、ポリマーと第1表面との間の共有結合は、

【化55】



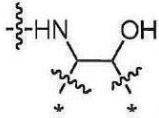
40

を含む。一部の他のそのような実施形態では、ポリマーと第1表面との間の共有結合は、

構造部分

50

【化 5 6】



を含む。一部の実施形態では、ポリマーを第 1 表面に共有結合した第 1 の複数の官能基と反応させることにより基材を調製するが、前記第 1 の複数の官能基には、ビニル、アクリロイル、アルケニル、シクロアルケニル、ヘテロシクロアルケニル、アルキニル、シクロアルキニル、ヘテロシクロアルキニル、ニトレン、アルデヒド、ヒドラジニル、グリシジルエーテル、エポキシ、カルベン、イソシアネート、マレイミド、任意に置換されたそれらの変異体、もしくはそれらの組み合わせが含まれる、または、前記第 1 の複数の官能基は、ビニル、アクリロイル、アルケニル、シクロアルケニル、ヘテロシクロアルケニル、アルキニル、シクロアルキニル、ヘテロシクロアルキニル、ニトレン、アルデヒド、ヒドラジニル、グリシジルエーテル、エポキシ、カルベン、イソシアネート、マレイミド、任意に置換されたそれらの変異体、もしくはそれらの組み合わせから選択される。一部のそのような実施形態では、第 1 の複数の官能基には、任意に置換されたシクロアルケニル基が含まれる、または、第 1 の複数の官能基は、任意に置換されたシクロアルケニル基から選択される。一実施形態では、前記シクロアルケニルはノルボルネンである。一部の実施形態では、ポリマーのアジド基を第 1 表面のノルボルネン基と反応させることにより、基材を調製する。一部の他の実施形態では、第 1 の複数の官能基には、グリシジルエーテル基もしくはエポキシ基が含まれる、または、第 1 の複数の官能基は、グリシジルエーテル基もしくはエポキシ基から選択される。一部の実施形態では、ポリマーの Boc 保護アミノを脱保護し、次に、ポリマーのアミノ基を第 1 表面のグリシジルエーテル基またはエポキシ基と反応させることにより基材を調製する。一部の実施形態では、上記の前記第 1 の複数の官能基を含む官能化シランで表面を前処理し、官能化シランの第 1 の複数の官能基との反応を介してポリマーを第 1 表面に共有結合させる。

10

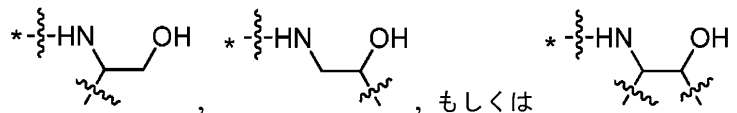
20

【0 1 4 4】

一部の実施形態では、基材はさらに、ポリマーに共有結合した官能化オリゴヌクレオチドを含む。一部の実施形態では、オリゴヌクレオチドとポリマーとの間の共有結合は、アミンエポキシ開環反応により形成される。一部の実施形態では、官能化オリゴヌクレオチドとポリマーとの間の共有結合は、構造部分

30

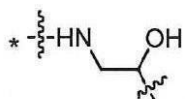
【化 5 7】



またはそれらの組み合わせを含み、式中、* は、ポリマーの、官能化オリゴヌクレオチドとの連結点を示す。一部の実施形態では、官能化オリゴヌクレオチドとポリマーとの間の共有結合は、構造部分

40

【化 5 8】



を含む。一部のそのような実施形態では、官能化オリゴヌクレオチドの 1 つまたは複数の官能基をポリマーのエポキシ基と反応させることにより、官能化オリゴヌクレオチドをポリマーに共有結合させるが、前記 1 つもしくは複数の官能基には、任意に置換されたアミ

50

ノ、ヒドロキシ、チオール、カルボキシル、酸無水物、もしくはそれらの組み合わせが含まれる、または、前記1つもしくは複数の官能基は、任意に置換されたアミノ、ヒドロキシ、チオール、カルボキシル、酸無水物、もしくはそれらの組み合わせから選択される。一部のそのような実施形態では、前記1つもしくは複数の官能基には任意に置換されたアミノ基が含まれる、または、前記1つもしくは複数の官能基は任意に置換されたアミノ基から選択される。一部のそのような実施形態では、ポリマーのエポキシ基を官能化オリゴヌクレオチドのアミノ基と反応させることにより、官能化オリゴヌクレオチドをポリマーに共有結合させる。

【0145】

本明細書に記載する実施形態では、基材材料には、ガラス、シリカ、プラスチック、石英、金属、金属酸化物、またはそれらの組み合わせが含まれ得る。一部の実施形態では、基材はガラスを含む。一部の実施形態では、基材の第1表面は、ポリマーコーティング領域および不活性領域の両方を含む。

10

【0146】

基材表面の調製

本明細書に記載する一部の実施形態は、第1の複数の官能基が共有結合した第1の表面を備える基材を提供し；ポリマーに共有結合した官能化オリゴヌクレオチドを有するグラフト化ポリマーを提供し、ここにおいて前記ポリマーは第2の複数の官能基を含み；前記第1表面の第1の複数の官能基を、前記ポリマーの第2の複数の官能基と反応させ、その結果、前記ポリマーを前記基材の第1表面に共有結合させることにより、グラフト化ポリマーを基材の第1表面に固定するプロセスまたは方法に関する。

20

【0147】

本明細書に記載する方法の一部の実施形態では、基材の第1表面を官能化シランで前処理するが、前記官能化シランは第1の複数の官能基を含む。一部の実施形態では、官能化シランを化学蒸着(CVD)法により表面に堆積させる。一部のそのような実施形態では、官能化シランを、Yield Engineering Systems (YES) オープンを用いたCVD法により第1表面に適用することが可能である。

【0148】

本明細書に記載の方法の一部の実施形態では、ポリマーの第3の複数の官能基を、官能化オリゴヌクレオチドの1つまたは複数の官能基と反応させることにより、グラフト化ポリマーを形成する。一部の他の実施形態では、官能化オリゴヌクレオチドの前記1つまたは複数の官能基を、第3の複数の官能基を含むモノマーと反応させ；前記反応モノマーを重合してポリマーを形成し、その結果、前記官能化オリゴヌクレオチドをポリマーに共重合させることにより、グラフト化ポリマーを形成する。

30

【0149】

本明細書に記載する方法の一部の実施形態では、ポリマーの第2の複数の官能基は、ポリマーの第3の複数の官能基と同一である。例えば、ポリマーの第2の複数の官能基および第3の複数の官能基は、両方がテトラジンであり得る。一部の他の実施形態では、ポリマーの第2の複数の官能基内の官能基は、ポリマーの第3の複数の官能基内の官能基とは異なる。

40

【0150】

本明細書に記載する方法で用いるポリマー骨格は、線形、分岐状、多分岐状、または樹状であり得る。最終のポリマー構造は、例えばランダムコポリマー、ブロックコポリマー、くし形ポリマー、または星形ポリマーの構造を含む、種々の構成であり得る。限定されるわけではないが、ポリアクリルアミド、ポリアクリレート、ポリウレタン、ポリシロキサン、シリコーン、ポリアクロレイン、ポリホスファゼン、ポリイソシアネート、ポリオール、ポリサッカライドなどを含む異なる種類のポリマー骨格を、本明細書に記載する方法で用いることが可能である。一部の実施形態では、ポリマーはポリアクリルアミド骨格を含む。一部の他の実施形態では、ポリマーはポリアクリレート骨格を含む。一部のさらに他の実施形態では、ポリマーはポリウレタン骨格を含む。一部のさらに他の実施形態で

50

は、ポリマーはポリホスファゼン骨格を含む。一部のさらに他の実施形態では、ポリマーはデンドリマー骨格を含む。

【0151】

本明細書に記載する方法の一部の実施形態では、第1表面の第1の複数の官能基には、ビニル、アクリロイル、アルケニル、シクロアルケニル、ヘテロシクロアルケニル、アルキニル、シクロアルキニル、ヘテロシクロアルキニル、ニトレン、アルデヒド、ヒドラジニル、グリシジルエーテル、エポキシ、カルベン、イソシアネート、マレイミド、任意に置換されたそれらの変異体、もしくはそれらの組み合わせが含まれる、または、第1表面の第1の複数の官能基は、ビニル、アクリロイル、アルケニル、シクロアルケニル、ヘテロシクロアルケニル、アルキニル、シクロアルキニル、ヘテロシクロアルキニル、ニトレン、アルデヒド、ヒドラジニル、グリシジルエーテル、エポキシ、カルベン、イソシアネート、マレイミド、任意に置換されたそれらの変異体、もしくはそれらの組み合わせから選択される。一部のそのような実施形態では、第1の複数の官能基には、シクロアルケニル、グリシジルエーテル、エポキシ、任意に置換されたそれらの変異体、もしくはそれらの組み合わせが含まれる、または、第1の複数の官能基は、シクロアルケニル、グリシジルエーテル、エポキシ、任意に置換されたそれらの変異体、もしくはそれらの組み合わせから選択される。一部のさらなる実施形態では、第1の複数の官能基にはノルボルネンが含まれる、または、第1の複数の官能基はノルボルネンから選択される。一部の他の実施形態では、第1の複数の官能基にはエポキシが含まれる。一部のさらに他の実施形態では、第1の複数の官能基にはグリシジルエーテルが含まれる。

10

20

【0152】

本明細書に記載する方法の一部の実施形態では、ポリマーの官能基には、アミノ、テトラジニル、アジド、カルボキシル、ヒドロキシ、チオール、アルデヒド、ハロ、アルケニル、アルキニル、エポキシ、グリシジルエーテルなどが含まれ得る、または、ポリマーの官能基は、アミノ、テトラジニル、アジド、カルボキシル、ヒドロキシ、チオール、アルデヒド、ハロ、アルケニル、アルキニル、エポキシ、グリシジルエーテルなどから選択される。本明細書に記載する方法の一部の実施形態では、ポリマーの第2の複数の官能基には、アミノ、テトラジニル、アジド、カルボキシル、ヒドロキシ、チオール、アルデヒド、任意に置換されたそれらの変異体、もしくはそれらの組み合わせが含まれる、または、ポリマーの第2の複数の官能基は、アミノ、テトラジニル、アジド、カルボキシル、ヒドロキシ、チオール、アルデヒド、任意に置換されたそれらの変異体、もしくはそれらの組み合わせから選択される。一部のそのような実施形態では、第2の複数の官能基には、アミノもしくは保護アミノ、例えばBoc保護アミノが含まれる、または、第2の複数の官能基は、アミノもしくは保護アミノ、例えばBoc保護アミノから選択される。一部の他の実施形態では、第2の複数の官能基には任意に置換されたテトラジニルが含まれる。一部のさらに他の実施形態では、第2の複数の官能基にはアジドが含まれる。

30

【0153】

本明細書に記載する方法の一部の実施形態では、ポリマーの第3の複数の官能基には、アジド、テトラジニル、グリシジル、エポキシ、アルキニル、任意に置換されたそれらの変異体、もしくはそれらの組み合わせが含まれる、または、ポリマーの第3の複数の官能基は、アジド、テトラジニル、グリシジル、エポキシ、アルキニル、任意に置換されたそれらの変異体、もしくはそれらの組み合わせから選択される。一部のそのような実施形態では、第3の複数の官能基にはアジドが含まれる。一部の他の実施形態では、第3の複数の官能基には任意に置換されたテトラジニルが含まれる。一部のさらに他の実施形態では、第3の複数の官能基にはアルキニルが含まれる。一部のさらに他の実施形態では、第3の複数の官能基には、任意に置換されたグリシジルエーテルが含まれる。

40

【0154】

本明細書に記載する方法の一部の実施形態では、官能化オリゴヌクレオチドの前記1つもしくは複数の官能部分には、アミノ、アジド、カルボキシル、酸無水物、テトラジン、エポキシ、グリシジルエーテル、ビニル、アクリロイル、アルケニル、シクロアルケニル

50

、アルキニル、シクロアルキニル、ニトレン、アルデヒド、ヒドラジニル、マレイミド、任意に置換されたそれらの変異体、もしくはそれらの組み合わせが含まれる、または、官能化オリゴヌクレオチドの前記1つもしくは複数の官能部分は、アミノ、アジド、カルボキシル、酸無水物、テトラジン、エポキシ、グリシジルエーテル、ビニル、アクリロイル、アルケニル、シクロアルケニル、アルキニル、シクロアルキニル、ニトレン、アルデヒド、ヒドラジニル、マレイミド、任意に置換されたそれらの変異体、もしくはそれらの組み合わせから選択される。一部のさらなる実施形態では、官能化オリゴヌクレオチドの前記1つもしくは複数の官能部分には、アルキニル、シクロアルケニル、シクロアルキニル、アミノ、アジド、ヒドロキシ、チオール、カルボキシル、酸無水物、任意に置換されたそれらの変異体、もしくはそれらの組み合わせが含まれる、または、官能化オリゴヌクレオチドの前記1つもしくは複数の官能部分は、アルキニル、シクロアルケニル、シクロアルキニル、アミノ、アジド、ヒドロキシ、チオール、カルボキシル、酸無水物、任意に置換されたそれらの変異体、もしくはそれらの組み合わせから選択される。一部のそのような実施形態では、前記1つまたは複数の官能部分には、シクロアルキニル、例えばビスシクロ[6.1.0]ノナ-4-イン(BCN)が含まれる。一部の他の実施形態では、前記1つまたは複数の官能部分にはアルキニルが含まれる。一部のさらに他の実施形態では、前記1つまたは複数の官能部分にはアジドが含まれる。一部のさらに他の実施形態では、前記1つまたは複数の官能部分には任意に置換されたアミノが含まれる。

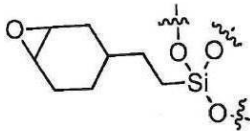
10

【0155】

本明細書に記載する方法の一部の実施形態では、グラフト化ポリマーは、本明細書に記載するように、式(I)の反復単位および式(II)の反復単位を有するポリマーに共有結合した官能化オリゴヌクレオチドを含む。一部のそのような実施形態では、第1表面の第1の複数の官能基にはエポキシ基が含まれる。一実施形態では、前記エポキシ基は、

20

【化59】



である。一部のそのような実施形態では、ポリマーのアミノ基を第1表面のエポキシ基と反応させることにより、グラフト化ポリマーを第1表面に共有結合させる。

30

【0156】

本明細書に記載する方法の一部の実施形態では、グラフト化ポリマーは、本明細書に記載するように、式(IV)の反復単位を有するポリマーに共有結合した官能化オリゴヌクレオチドを含む。一部のそのような実施形態では、第1表面の第1の複数の官能基には、任意に置換されたシクロアルケニル基、例えば任意に置換されたノルボルネンが含まれる。一部のそのような実施形態では、ポリマーのテトラジン基を第1表面のノルボルネン基と反応させることにより、グラフト化ポリマーを第1表面に共有結合させる。

【0157】

本明細書に記載の方法の一部の実施形態では、グラフト化ポリマーは、本明細書に記載するように、式(V)の反復単位を有するポリマーに共有結合した官能化オリゴヌクレオチドを含む。一部の実施形態では、ポリマーはさらに、本明細書に記載するように、式(VIa)もしくは式(VIb)またはその両方の反復単位を含み得る。一部のそのような実施形態では、第1の複数の官能基には、任意に置換されたシクロアルケニル基、例えば、任意に置換されたノルボルネンが含まれる。一部のそのような実施形態では、ポリマーのアジド基を第1表面のノルボルネン基と反応させることにより、グラフト化ポリマーを第1表面に共有結合させる。一部の他の実施形態では、第1の複数の官能基にはグリシジルエーテル基またはエポキシ基が含まれる。一部の他の実施形態では、ポリマーのBoc保護アミノ基を脱保護し；ポリマーのアミノ基を、第1表面のグリシジルエーテル基またはエポキシ基と反応させることにより、グラフト化ポリマーを第1表面に共有結合させる

40

50

【0158】

本明細書に記載の一部の実施形態は、第1の複数の官能基が共有結合した第1表面を備える基材を提供するステップと、本明細書に記載するように、式(I)および式(II)、式(IV)、または式(V)の反復単位を有するポリマーを提供するステップと、前記第1表面の第1の複数の官能基を前記ポリマーと反応させ、その結果、前記ポリマーを前記基材の第1表面に共有結合させるステップとを含む、本明細書に記載のポリマーを基材の第1表面に固定するプロセスまたは方法に関する。一部のそのような実施形態では、プロセスまたは方法はさらに、1つまたは複数の官能化部分を含む官能化オリゴヌクレオチドを提供するステップと、前記1つまたは複数の官能化部分を前記ポリマーと反応させ、その結果、前記官能化オリゴヌクレオチドを前記ポリマーに共有結合させるステップとを含む。一部のそのような実施形態では、第1の表面の第1の複数の官能基には、ビニル、アクリロイル、アルケニル、シクロアルケニル、ヘテロシクロアルケニル、アルキニル、シクロアルキニル、ヘテロシクロアルキニル、ニトレン、アルデヒド、ヒドラジニル、グリシジルエーテル、エポキシ、カルベン、イソシアネート、マレイミド、任意に置換されたそれらの変異体、もしくはそれらの組み合わせが含まれる、または、第1の表面の第1の複数の官能基は、ビニル、アクリロイル、アルケニル、シクロアルケニル、ヘテロシクロアルケニル、アルキニル、シクロアルキニル、ヘテロシクロアルキニル、ニトレン、アルデヒド、ヒドラジニル、グリシジルエーテル、エポキシ、カルベン、イソシアネート、マレイミド、任意に置換されたそれらの変異体、もしくはそれらの組み合わせから選択される。一部のそのような実施形態では、前記1つもしくは複数の官能化部分には、アミノ、アジド、カルボキシル、酸無水物、テトラジン、エポキシ、グリシジルエーテル、ビニル、アクリロイル、アルケニル、シクロアルケニル、アルキニル、シクロアルキニル、ニトレン、アルデヒド、ヒドラジニル、マレイミド、任意に置換されたそれらの変異体、もしくはそれらの組み合わせが含まれる、または、前記1つもしくは複数の官能化部分は、アミノ、アジド、カルボキシル、酸無水物、テトラジン、エポキシ、グリシジルエーテル、ビニル、アクリロイル、アルケニル、シクロアルケニル、アルキニル、シクロアルキニル、ニトレン、アルデヒド、ヒドラジニル、マレイミド、任意に置換されたそれらの変異体、もしくはそれらの組み合わせから選択される。

【0159】

本明細書に記載する方法の任意の実施形態では、式(I)および式(II)、式(IV)、または式(V)の反復単位を有するポリマーまたはグラフト化ポリマーはさらに、ポリアクリルアミド、ポリアクリレート、ポリウレタン、ポリシロキサン、シリコーン、ポリアクロレイン、ポリホスファゼン、ポリイソシアネート、ポリオール、およびポリサッカライドからなる群から選択される反復単位もしくはそれらの組み合わせを、1つまたは複数含み得る。一部のそのような実施形態では、ポリマーはさらに、下記に示す構造を有する式(IIIa)もしくは式(IIIb)のポリアクリルアミドの反復単位を1つまたは複数含み得る。

【0160】

本明細書に記載する方法の任意の実施形態では、方法はさらに、結合していない過剰な官能化オリゴヌクレオチドを取り除く洗浄ステップを含む。一部の実施形態では、方法はさらに、乾燥ステップを含む。

【0161】

本明細書に記載する実施形態の何れかでは、基材は、パターンのある、もしくはない、またはその組み合わせの、ガラス、シリカ、石英、プラスチック、金属、金属酸化物から選択される材料を含み得る。一実施形態では、基材の表面はガラスを含む。一部の実施形態では、基材の表面は官能化シランコーティング領域および不活性領域の両方を含み得る。一部の実施形態では、不活性領域は、ガラス領域、金属領域、マスク領域、および間隙領域、またはそれらの組み合わせから選択される。一実施形態では、不活性領域はガラスを含む。

【 0 1 6 2 】

本明細書に記載する実施形態の何れかでは、Q C マーカがポリマーおよび/またはポリマー構造に含まれ得る。

【 0 1 6 3 】

本明細書に記載の任意の実施形態では、ポリマーまたはグラフト化ポリマーを、当業者に既知の種々の表面適用技法、例えば、スピコーティング、スプレーコーティング、浸漬コーティング、インクジェットコーティングなどを介して基材の表面に適用することができる。

【 0 1 6 4 】

基材材料および設計

一部の実施形態では、本出願で用いられる基材には、ガラス、溶融石英、および他のシリカ含有材料などのシリカ系基材が含まれる。一部の実施形態では、シリカ系基材はまた、シリコン、二酸化ケイ素、窒化ケイ素、水素化ケイ素であり得る。一部の実施形態では、本出願で用いられる基材には、ポリエチレン、ポリスチレン、ポリ(塩化ビニル)、ポリプロピレン、ナイロン、ポリエステル、ポリカーボネート、およびポリ(メチルメタクリレート)などのプラスチック材料が含まれる。好適なプラスチック材料は、ポリ(メチルメタクリレート)基材、ポリスチレン基材、および環状オレフィンポリマー基材である。一部の実施形態では、基材はシリカ系材料またはプラスチック材料である。特定の実施形態では、基材は少なくとも1つの、ガラスを含む表面を備える。

【 0 1 6 5 】

一部の実施形態では、基材は金属であり得る、または金属を含み得る。一部のそのような実施形態では、金属は金である。一部の実施形態では、基材は少なくとも1つの、金属酸化物を含む表面を備える。一実施形態では、表面は酸化タンタルまたは酸化スズを含む。

【 0 1 6 6 】

アクリルアミド、エノン、またはアクリレートも、基材材料として利用することができる。他の基材材料としては、限定されるわけではないが、ヒ化ガリウム、リン化インジウム、アルミニウム、セラミックス、ポリイミド、石英、樹脂、ポリマー、およびコポリマーが挙げられ得る。前述のリストは本出願の例示であり、本出願を限定することは意図しない。

【 0 1 6 7 】

一部の実施形態では、基材および/または基材表面は石英であり得る。一部の他の実施形態では、基材および/または基材表面は半導体、つまり、G a A s または I T O であり得る。

【 0 1 6 8 】

基材は、単一の材料、または複数の異なる材料を含み得る。基材は複合材またはラミネートであり得る。基材は、平ら、円形であり、テクスチャード加工され、かつパターン付きであり得る。パターンは、例えば、米国特許第 8 7 7 8 8 4 9 号明細書(これは参照により本明細書に組み込まれる)に記載されているような、非金属表面にフィーチャを形成する金属パッドなどにより形成することが可能である。別の有用なパターン付き表面は、例えば、米国特許出願公開第 2 0 1 4 / 0 2 4 3 2 2 4 号明細書、同第 2 0 1 1 / 0 1 7 2 1 1 8 号明細書、および米国特許第 7 6 2 2 2 9 4 号明細書(これらはそれぞれ、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる)に記載されているような、表面にウェルフィーチャが形成されたものである。パターン付き基材を用いる実施形態では、ゲルをパターンフィーチャに選択的に付着させることが可能である(例えば、ゲルを金属パッドに付着させることが可能である、または、ゲルをウェルの内部に付着することが可能である)か、あるいは、ゲルをパターンフィーチャおよび間隙領域の両方に均一に付着させることが可能である。

【 0 1 6 9 】

分子アレイの調製および使用においてプラスチック系基材を用いる利点としては、コス

10

20

30

40

50

トが挙げられる。例えば射出成型により適切なプラスチック系基材を調製することは、シリカ系基材を例えばエッチングおよびボンディングにより調製するよりも概して安価である。別の利点は、ほぼ制限のない種々のプラスチックにより、支持体の光学特性を微調整して、意図するまたは用いる用途に適合させることが可能なことである。

【0170】

金属を基材として、または基材上のパッドとして用いる場合、これは、所望の用途、つまり、金属の伝導性によりDNA系センサの電場の変調を可能にするためであり得る。このようにして、DNAミスマッチ識別を強化することができる、固定化オリゴヌクレオチド分子の向きに影響を与えることができる、または、DNAハイブリダイゼーション動態を加速させることができる。

10

【0171】

一部の実施形態では、基材はシリカ系だが、本出願を實踐する用途に応じて、用いる基材の形状は変わり得る。しかしながら、概して、シリカ、例えば溶融シリカなどの支持体材料のスライドが、分子の調製およびそれに続く統合において得に有用である。本出願の實踐において特に役立つのは、商標名SPECTRASIL(商標)で売られている溶融シリカスライドである。そうであっても、本出願は、ビーズおよびロッドなどの基材(シリカ系支持体を含む)の他の表現に等しく適用可能であることが当業者には明らかであろう。

【0172】

一部の実施形態では、基材の表面は、機能性分子コーティング領域およびコーティングのない不活性領域の両方を含む。一部の実施形態では、機能性分子コーティングは、ハイドロゲルコーティングまたはポリマーコーティングである。機能性分子コーティング領域は反応性部位を含み得るため、該領域を用いて、化学結合または他の分子の相互作用を介して分子を結合させることが可能である。一部の実施形態では、機能性分子コーティング領域(例えば、反応性フィーチャ、パッド、ビーズ、ポスト、またはウェル)および不活性領域(間隙領域と言われる)を、パターンまたはグリッドを形成するように交互にすることが可能である。そのようなパターンは1次元または2次元であり得る。一部の実施形態では、不活性領域は、ガラス領域、金属領域、マスク領域、またはそれらの組み合わせから選択することが可能である。あるいは、これらの材料は反応性領域を形成することが可能である。不活性または反応性は、基材で用いられる化学反応およびプロセスに左右されよう。一実施形態では、表面はガラス領域を含む。別の実施形態では、表面は金属領域を含む。さらに別の実施形態では、表面はマスク領域を含む。本明細書に記載する構成物の一部の実施形態では、基材はビーズであり得る。本開示のポリマーでコーティングすることが可能な、または、そうでなければ、本明細書に記載の構成物または方法において用いることが可能な、非限定的な例示的基材材料は、米国特許第8778848号明細書および同第8778849号明細書に記載されており、これらはそれぞれ参照によって本明細書に組み込まれる。

20

30

【0173】

一部の実施形態では、本明細書に記載の基材は、フローセルの少なくとも一部を形成するか、またはフローセル内に位置する。一部のそのような実施形態では、フローセルはさらに、機能性分子コーティング、例えばポリマーコーティングを介して基材の表面に結合したポリヌクレオチドを含む。一部の実施形態では、ポリヌクレオチドはフローセル内にポリヌクレオチドクラスタの状態が存在し、ポリヌクレオチドクラスタのポリヌクレオチドは、ポリマーコーティングを介してフローセルの表面に結合する。そのような実施形態では、ポリヌクレオチドが結合するフローセル体の表面は、基材であると考えられる。他の実施形態では、ポリマーコーティング表面を備える別個の基材がフローセル体にはめ込まれる。好適な実施形態では、フローセルは複数のレーンまたは複数のセクタに分割されるフローチャンバであり、ここにおいて複数レーンまたは複数セクタの1つまたは複数は、本明細書に記載するように、共有結合したポリマーコーティングでコーティングされた表面を備える。本明細書に記載するフローセルの一部の実施形態では、単一ポリヌクレオ

40

50

チドクラスタ内の結合ポリヌクレオチドは、同一または類似のヌクレオチド配列を有する。本明細書に記載するフローセルの一部の実施形態では、異なるポリヌクレオチドクラスタの結合ポリヌクレオチドは、異なるまたは非類似のヌクレオチド配列を有する。本明細書に記載する方法および構成物で用いることが可能なフローセルを製造するための、例示的なフローセルおよび基材としては、限定されるわけではないが、Illumina社（カリフォルニア州、サンディエゴ）より商業的に入手可能なもの、または、米国特許出願公開第2010/0111768号明細書もしくは同第2012/0270305号明細書（これらはそれぞれ参照により本明細書に組み込まれる）に記載されているものが挙げられる。

【0174】

シーケンシング用途

本明細書に記載する構成物、装置、または方法は、種々の増幅技法の何れかとともに用いることが可能である。用いることが可能な例示的な技法としては、限定されるわけではないが、ポリメラーゼ連鎖反応（PCR）、ローリングサークル増幅（RCA）、多置換増幅（MDA）、またはランダムプライム増幅（RPA）が挙げられる。特定の実施形態では、増幅に用いる1つまたは複数のプライマーをポリマーコーティングに結合させることが可能である。PCRの実施形態では、増幅に用いるプライマーの一方または両方をポリマーコーティングに結合させることが可能である。2種の結合プライマーを利用するフォーマットは、二本鎖アンプリコンが、コピーされた鋳型配列に隣接する2つの結合プライマーの間でブリッジ状の構造を形成することから、しばしばブリッジ増幅と言われる。ブリッジ増幅に用いることが可能な例示的な試薬および条件は、例えば、米国特許第5641658号明細書、米国特許出願公開第2002/0055100号明細書、米国特許第7115400号明細書、米国特許出願公開第2004/0096853号明細書、同第2004/0002090号明細書、同第2007/0128624号明細書、および同第2008/0009420号明細書に記載されており、これらはそれぞれ、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。PCR増幅はまた、ポリマーコーティングに結合した増幅プライマーの1つと溶液中の第2プライマーを用いて実行することが可能である。1つの結合プライマーおよび可溶性プライマーの組み合わせを用いる例示的なフォーマットは、例えば、Dressman et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 100: 8817 - 8822 (2003)、国際公開第05/010145号、米国特許出願公開第2005/0130173号明細書、または同第2005/0064460号明細書（これらはそれぞれ、参照により本明細書に組み込まれる）に記載されている、エマルジョンPCRである。エマルジョンPCRは例示的なフォーマットであり、本明細書に記載の方法では、エマルジョンの使用は任意にあり、実際には、いくつかの実施形態ではエマルジョンは用いられないことが理解されよう。さらに、プライマーは、ePCRの参考文献に記載されているように基材または固体支持体に直接結合している必要はなく、代わりに、本明細書に記載するポリマーコーティングに結合させることが可能である。

【0175】

本開示の方法、構成物、または装置で用いるために、RCA技法を修正することが可能である。RCA反応で用いることが可能な例示的な構成要素およびRCAがアンプリコンを生成する原理は、例えば、Lizardi et al., Nat. Genet. 19: 225 - 232 (1998)および米国特許出願公開第2007/0099208号明細書に記載されており、これらはそれぞれ、参照により本明細書に組み込まれる。RCAに用いるプライマーは溶液中にあるか、またはポリマーコーティングに結合させることが可能である。

【0176】

本開示の方法、構成物、または装置とともに用いるため、MDA技法を修正することが可能である。MDA用の一部の基本原則および有用な条件は、例えば、Dean et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 99: 5261 - 66 (20

10

20

30

40

50

02)、Lage et al., Genome Research 13:294-307 (2003)、Walker et al., Molecular Methods for Virus Detection, Academic Press, Inc., 1995、Walker et al., Nucl. Acids Res. 20:1691-96 (1992)、米国特許第5455166号明細書、同第5130238号明細書、および同第6214587号明細書に記載されており、これらはそれぞれ、参照により本明細書に組み込まれる。MDAに用いるプライマーは溶液中にあるか、またはポリマーコーティングに結合させることが可能である。

【0177】

特定の実施形態では、上記で例示した増幅技法の組み合わせを用いることが可能である。例えば、RCAとMDAを組み合わせて用いることが可能であり、ここでは、RCAを用いて（例えば、溶液相プライマーを用いて）溶液中で鎖状（concatameric）のアンプリコンを生成する。該アンプリコンを次に、ポリマーコーティングに結合したプライマーを用いるMDA用の鋳型として用いることが可能である。この例では、RCAとMDAを組み合わせたステップの後に生成されるアンプリコンは、ポリマーコーティングに結合するだろう。

10

【0178】

一部の実施形態では、本明細書に記載するように、官能化ハイドロゲルまたはポリマーでコーティングした基材を、ポリヌクレオチドのヌクレオチド配列を決定する方法に用いることが可能である。そのような実施形態では、前記方法は、（a）ポリヌクレオチドポリメラーゼを、本明細書に記載するポリマーコーティングまたはハイドロゲルコーティングの何れか一方を介して基材の表面に結合したポリヌクレオチドクラスタに接触させるステップと、（b）ヌクレオチドを前記基材のポリマーコーティング表面に提供して、その結果、1つまたは複数のヌクレオチドがポリヌクレオチドポリメラーゼに利用される際、検出可能なシグナルを生成させるステップと、（c）1つまたは複数のポリヌクレオチドクラスタにおいてシグナルを検出ステップと、（d）ステップ（b）とステップ（c）を繰り返すことにより、1つまたは複数のポリヌクレオチドクラスタに存在するポリヌクレオチドのヌクレオチド配列を決定するステップとを含み得る。

20

【0179】

核酸シーケンシングを用いて、当技術分野で既知の種々のプロセスによりポリヌクレオチドのヌクレオチド配列を決定することが可能である。好適な方法では、シーケンシング-バイ-シンセシス（SBS）法を利用して、本明細書に記載するポリマーコーティングの何れか1つを介して基材の表面に結合したポリヌクレオチドのヌクレオチド配列を決定する。そのようなプロセスでは、1つまたは複数のヌクレオチドを、ポリヌクレオチドポリメラーゼに関連する鋳型ポリヌクレオチドに提供する。ポリヌクレオチドポリメラーゼは、ポリヌクレオチド鋳型に対し相補的な、新しく合成された核酸鎖に1つまたは複数のヌクレオチドを組み込む。合成は、鋳型ポリヌクレオチドの一部、または、鋳型ポリヌクレオチドの一方の末端に共有結合した、ユニバーサル核酸もしくは非可変（non-variable）核酸の一部に対し相補的なオリゴヌクレオチドプライマーから開始される。ヌクレオチドが鋳型ポリヌクレオチドに組み込まれる際、検出可能なシグナルが生成され、これはシーケンシングプロセスの各ステップでどのヌクレオチドが組み込まれたかを決定することを可能にする。このようにして、鋳型ポリヌクレオチドの少なくとも一部に対し相補的な核酸配列が生成され得ることにより、鋳型ポリヌクレオチドの少なくとも一部のヌクレオチド配列の決定が可能になる。

30

40

【0180】

フローセルは、本開示の方法により作成され、シーケンシング-バイ-シンセシス（SBS）法または他の、サイクル中に試薬の反復送達を要する検出技法にかけられるアレイを収容する、利便性の高いフォーマットを提供する。例えば、第1のSBSサイクルを開始するために、1つまたは複数の標識化ヌクレオチド、DNAポリメラーゼなどを、本明細書に記載する方法により作成された核酸アレイを収容するフローセルに/フローセルを

50

通して流すことが可能である。プライマー伸長が標識化ヌクレオチドの組み込みを引き起こすアレイの部位は、検出することが可能である。オプションとして、ヌクレオチドはさらに、いったんヌクレオチドがプライマーに加えたらさらなるプライマー伸長を終わらせる、可逆的停止特性を備え得る。例えば、可逆的ターミネータ部分を有するヌクレオチドアナログをプライマーに加え、その結果、デブロッキング剤を送達して該部分を取り除くまで、後続の伸長を起きないようにすることが可能である。したがって、可逆的終結を用いる実施形態では、デブロッキング剤を（検出を行う前後で）フローセルに送達することが可能である。洗浄を種々の送達ステップの間で行うことが可能である。サイクルを次に n 回繰り返して、プライマーを n ヌクレオチド分伸長させることにより、長さ n の配列を検出することが可能である。本開示の方法により生成されるアレイで用いるために容易に適合させることが可能な例示的な SBS 手順、流体系、および検出プラットフォームは、例えば、Bentley et al., Nature 456: 53 - 59 (2008)、国際出願第 04/018497 号、米国特許第 7057026 号明細書、国際出願第 91/06678 号、同第 07/123744 号、米国特許第 7329492 号明細書、同第 7211414 号明細書、同第 7315019 号明細書、同第 7405281 号明細書、および米国特許出願公開第 2008/0108082 号明細書に記載されており、これらはそれぞれ、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。

10

【0181】

例えば、パイロシーケンシングなどサイクル性反応を用いるものを含む、他のシーケンシング手順を用いることが可能である。パイロシーケンシングは、特定のヌクレオチドが新生核酸鎖に組み込まれる際の無機ピロリン酸 (PPi) の放出を検出する (Ronaghi, et al., Analytical Biochemistry 242 (1), 84 - 9 (1996)、Ronaghi, Genome Res. 11 (1), 3 - 11 (2001)、Ronaghi et al. Science 281 (5375), 363 (1998)、米国特許第 6210891 号明細書、同第 6258568 号明細書、および同第 6274320 号明細書 (これらはそれぞれ、その全体が参照により本明細書に組み込まれる))。パイロシーケンシングでは、放出された PPi を、ATP スルフリラーゼによりアデノシン三リン酸 (ATP) に即時に変換することにより、検出することが可能であり、生成された ATP の程度は、ルシフェラーゼにより生成される光子を介して検出することが可能である。したがって、シーケンシング反応は、発光検出系を介してモニターすることが可能である。蛍光に基づく検出系で用いられる励起放射線源は、パイロシーケンシング手順では必要ではない。パイロシーケンシングを本開示のアレイに適用するために用いることが可能な有用な流体系、検出器、および手順は、例えば国際公開第 12/058096 号、米国特許出願公開第 2005/0191698 号明細書、米国特許第 7595883 号明細書、および同第 7244559 号明細書に記載されており、これらはそれぞれ、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。

20

30

【0182】

例えば、Shendure et al. Science 309: 1728 - 1732 (2005)、米国特許第 5599675 号明細書、および同第 5750341 号明細書 (これらはそれぞれ、その全体が参照により本明細書に組み込まれる) に記載されているものを含め、シーケンシング - バイ - ライゲーション反応も有用である。一部の実施形態には、例えば Bains et al., Journal of Theoretical Biology 135 (3), 303 - 7 (1988)、Drmanac et al., Nature Biotechnology 16, 54 - 58 (1998)、Fodor et al., Science 251 (4995), 767 - 773 (1995)、国際公開第 1989/10977 号 (これらはそれぞれ、その全体が参照により本明細書に組み込まれる) に記載されているような、シーケンシング - バイ - ハイブリダイゼーション手順が含まれ得る。シーケンシング - バイ - ライゲーション手順とシーケンシング - バイ - ハイブリダイゼーション手順の両方において、アレイの部位に存在する核酸は、オリゴヌクレオチドの送達と検出の反復サイクルにかけられる。本明細書または

40

50

本明細書で引用する参考文献に記載されるSBS法のための流体系は、シーケンシング - バイ - ライゲーション手順またはシーケンシング - バイ - ハイブリダイゼーション手順用の試薬の送達に、容易に適合させることが可能である。典型的には、オリゴヌクレオチドは蛍光標識され、これは、本明細書または本明細書で引用する参考文献に記載されるSBS手順に関して記載されるものに似た蛍光検出器を用いて、検出することが可能である。

【0183】

一部の実施形態は、DNAポリメラーゼ活性のリアルタイムモニタリングを伴う方法を利用することが可能である。例えば、ヌクレオチドの組み込みは、蛍光体担持ポリメラーゼと - リン酸標識ヌクレオチドとの間の蛍光共鳴エネルギー移動 (FRET) 相互作用を介して、または、zeromode waveguides (ZMWs) を用いて検出することが可能である。FRETに基づくシーケンシングのための技法および試薬は、例えば、Levene et al. Science 299, 682 - 686 (2003)、Lundquist et al. Opt. Lett. 33, 1026 - 1028 (2008)、Korlach et al. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 105, 1176 - 1181 (2008) に記載されており、これらの開示はその全体が参照により本明細書に組み込まれる。

10

【0184】

一部のSBSの実施形態には、ヌクレオチドが伸長産物に組み込まれる際に放出されるプロトンの検出が含まれる。例えば、放出プロトンの検出に基づくシーケンシングは、Ion Torrent社 (コネチカット州ギルフォード、Life Technologies社の子会社) から商業的に入手可能な電気検出器および関連技法、または、米国特許出願公開第2009/0026082号明細書、同第2009/0127589号明細書、同第2010/0137143号明細書、もしくは同第2010/0282617号 (これらはそれぞれ、その全体が参照により本明細書に組み込まれる) に記載されるシーケンシング法および系を用いることが可能である。

20

【0185】

例えば本明細書に記載の方法により作成された、本開示のアレイの別の有用な用途は、遺伝子発現解析である。遺伝子発現は、デジタルRNAシーケンシングと呼ばれるものなどのRNAシーケンシング技法を用いて検出または定量化することが可能である。RNAシーケンシング技法は、上記のような当技術分野で既知のシーケンシング方法論を用いて実行することが可能である。遺伝子発現はまた、アレイへの直接的なハイブリダイゼーションにより実行されるハイブリダイゼーション技法を用いて、または、産物がアレイ上で検出されるマルチプレックスアッセイを用いて、検出または定量化することが可能である。例えば本明細書に記載の方法により作成された本開示のアレイを用いて、1つまたは複数の個体に由来するゲノムDNAサンプルの遺伝子型を決定することも可能である。本開示のアレイ上で実行することが可能な、アレイに基づく発現およびジェノタイピングの解析のための例示的な方法は、米国特許第7582420号明細書、同第6890741号明細書、同第6913884号明細書、同第6355431号明細書、米国特許出願公開第2005/0053980号明細書、同第2009/0186349号明細書、または2005/0181440号明細書に記載されており、これらはそれぞれ、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。

30

40

【0186】

フローセルを用いる上記の方法の一部の実施形態では、単一種類のヌクレオチドのみが単一フローステップ時のフローセルに存在する。そのような実施形態では、ヌクレオチドは、dATP、dCTP、dGTP、dTTP、およびそれらのアナログからなる群から選択され得る。フローセルを用いる上記方法の他の実施形態では、複数の異なる種類のヌクレオチドが単一フローステップ時のフローセルに存在する。そのような方法では、ヌクレオチドは、dATP、dCTP、dGTP、dTTP、およびそれらのアナログからなる群から選択され得る。

【0187】

50

フローセル内に存在する基材の表面のポリマーコーティングに結合した1つまたは複数のポリヌクレオチドについて、各フローステップ時に組み込まれるヌクレオチド (nucleotide) またはヌクレオチド (nucleotides) の決定は、ポリヌクレオチド鑄型において、またはその近くで生じるシグナルを検出することにより達成される。上記方法の一部の実施形態では、検出可能なシグナルには光学的シグナルが含まれる。他の実施形態では、検出可能なシグナルには非光学的シグナルが含まれる。そのような実施形態では、非光学的シグナルには、1つまたは複数のポリヌクレオチド鑄型における、またはその近くでのpHの変化が含まれる。

【実施例】

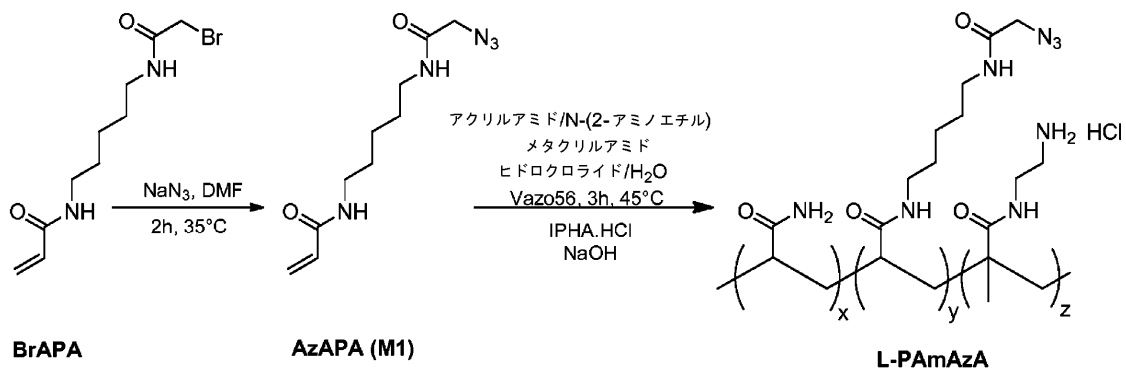
【0188】

追加の実施形態を、以下の例においてさらに詳細に開示するが、これは特許請求の範囲を限定することは決して意図しない。

【0189】

(実施例1) スキーム1. 直交二官能化ポリアクリルアミドの合成

【化60】



【0190】

スキーム1は、ポリ-アクリルアミド-co-AzAPA-co-アミノエチルアクリルアミド (L-PAmAzA) の調製のための合成スキームを示す。第1ステップでは、N-(5-プロモアセトアミジルペンチル)アクリルアミド (BrAPA) をDMFにおいて35で2時間、アジ化ナトリウムと反応させることで、N-(5-アジドアセトアミジルペンチル)アクリルアミド (AzAPA) を合成した。次に、AIBN型ポリマー開始システム (Vazo56) を用いて、AzAPAをアクリルアミドおよびN-(2-アミノエチル)メタクリルアミドHClと反応させることにより、L-PAmAzAを合成した。結果として生じるL-PAmAzAは、モル比率x:y:zが約90%対約5%対約5%である3つの反復単位を有する。

【0191】

加えて、N,N'-メチレンビスアクリルアミドモノマーを重合反応に導入することにより、L-PAmAzAの架橋を達成し、これは、以下に示す例示的な構造を有する架橋ポリマー (XL-PAmAzA) を生じさせた。

【0192】

10

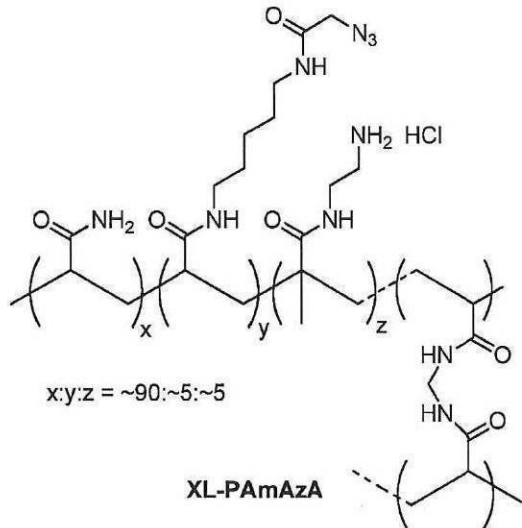
20

30

40

50

【化61】



10

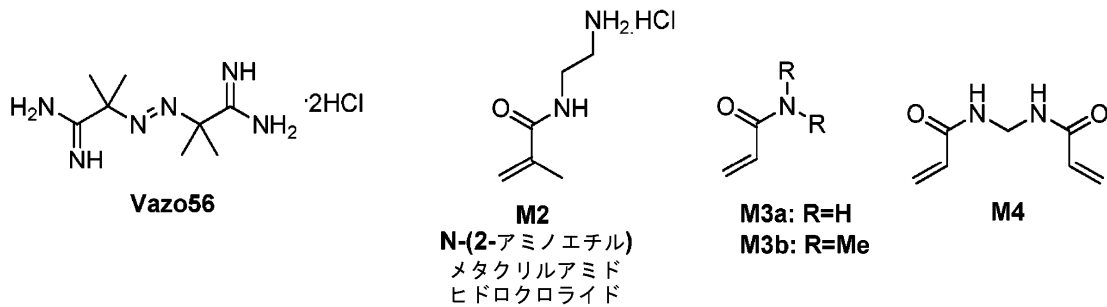
【0193】

直交官能性を帯びた一連の線形ポリアクリルアミドを、上記の類似した手順の後に熱開始剤 V a z o 5 6 を用いて調製した。反応時間は約 1 . 5 時間 ~ 約 3 時間で、その後、M e C N への析出を介した精製ステップが続いた。下記の表 1 に、重合反応のためのモノマーの量をまとめる。

20

【0194】

【化62】



30

【0195】

【表1】

表1.				
ポリマー	M1 (モル%)	M2 (モル%)	M3a/b (モル%)	M4 (モル%)
1	5	5	a: 90	0
2	5	5	a: 90	1
3	5	10	a: 85	1
4	5	5	b: 90	1
5	5	5	a: 90	2
6	5	5	a: 90	0.5

40

【0196】

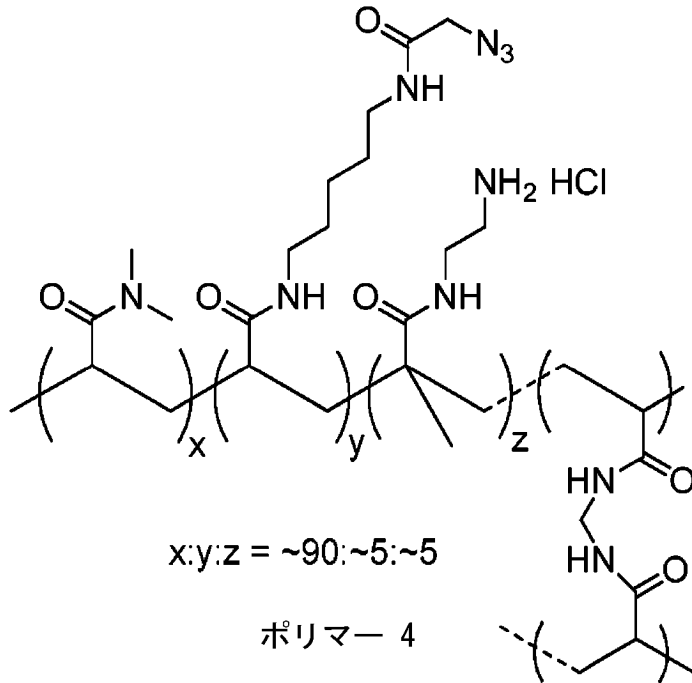
二官能性ポリアクリルアミドの直交反応性を実証するため、エポキシ単層表面上に 5 モ

50

ル%のアミノエチル官能性を含有する表1の3つの新しいポリアクリルアミド(ポリマー1、「P1」;ポリマー4、「P4」;ポリマー6、「P6」)のコーティング性能を、標準的なノルボルネン単層表面と対比させて評価した。ポリマー1およびポリマー6は上記に示す構造を有するL-PAmAZAおよびXL-PAmAZAである。ポリマー4の簡略化した構造を以下に示す。

【0197】

【化63】



10

20

30

【0198】

標準的なPAZAMポリマーを対照として用いた。ノルボルネン単層表面とエポキシ単層表面についてのフローセルのレイアウトを、表2と表3それぞれにまとめる。

【0199】

【表2】

チャンネル	ポリマー カップリング 温度(°C)	ポリマー カップリング 時間(分)	標準体積 PAZAM (uL)	ポリマー	[最終 PAZAM] / w/v%	[P5/P7]/ uM
1	60	60	420	PAZAM 対照	0.5	18
2	60	60	420	P1	0.5	18
3	60	60	420	P4	0.5	18
4	60	60	420	P6	0.5	18
5	60	60	420	PAZAM 対照	0.5	18
6	60	60	420	P1	0.5	18
7	60	60	420	P4	0.5	18
8	60	60	420	P6	0.5	18

40

50

【 0 2 0 0 】

【 表 3 】

表3.						
チャンネル	ポリマー カップリング 温度(°C)	ポリマー カップリング 時間(分)	標準体積 PAZAM (uL)	ポリマー	[最終 PAZAM] / w/v%	[P5/P7] / uM
1	60	60	420	PAZAM 対照	0.5	18
2	60	60	420	P1	0.5	18
3	60	60	420	P4	0.5	18
4	60	60	420	P6	0.5	18
5	60	60	420	PAZAM 対照	0.5	18
6	60	60	420	P1	0.5	18
7	60	60	420	P4	0.5	18
8	60	60	420	P6	0.5	18

【 0 2 0 1 】

HiSeq 基材 (カリフォルニア州、サンディエゴ、Illumina 社より提供) をこの初期のスクリーニングに用い、CVD プロセスを乾燥器を用いて実行した。二官能性ポリアクリルアミドポリマーを、歪み促進アジドクリック反応 (strain-promoted azide click reaction) を介してノルボルネンと反応させて、60 でノルボルネン単層表面に共有結合させた。同様に二官能性ポリアクリルアミドポリマーを、ポリマーを表面に共有結合させるアミン官能基を用いたエポキシ開環反応を介して、エポキシ単層にコーティングした。2つのQCメトリクスを用いて方法の成果を測った。QC1とQC3の両方が、450VのPMTおよび555BPのフィルタエミッションとともに緑色レーザーを利用する。QC1用のTET QCオリゴミックスは1.6mM : 100mLの16µMオリゴ+0.9mLのHT1である。QC3用のTET QCオリゴミックスは0.6mM (それぞれ) : 35mLの16µMオリゴ+0.9mLのHT1である。TET QC1およびTET QC3での、ノルボルネンシラン単層表面におけるポリマーコーティングフローセルのTyphoon蛍光画像とポリマーのTyphoon強度中央値の関連チャートを、図1A、図1B、図1C、および図1Dそれぞれに示す。TET QC1およびTET QC3での、エポキシシラン単層表面におけるポリマーコーティングフローセルのTyphoon蛍光画像とポリマーのTyphoon強度中央値の関連チャートを図2A、図2B、図2C、および図2Dそれぞれに示す。

【 0 2 0 2 】

ノルボルネン表面とエポキシ表面についてのTET QC測定を、表4と表5それぞれにまとめる。

【 0 2 0 3 】

10

20

30

40

50

【表 4】

レーン	%強度変化, QC1->QC3	%表面減少	ポリマー
1	11%	-11%	PAZAM 対照
2	-1%	1%	P1
3	0%	0%	P4
4	-3%	3%	P6
5	13%	-13%	PAZAM 対照
6	-2%	2%	P1
7	-6%	6%	P4
8	-5%	5%	P6

10

20

【 0 2 0 4 】

【表 5】

レーン	%強度変化, QC1->QC3	%表面減少	ポリマー
1	84%	-84%	PAZAM 対照
2	31%	-31%	P1
3	11%	-11%	P4
4	13%	-13%	P6
5	84%	-84%	PAZAM 対照
6	32%	-32%	P1
7	12%	-12%	P4
8	24%	-24%	XL-PAAm3

30

40

【 0 2 0 5 】

上記で述べたフローセル対の結果は、シーケンシング - バイ - シンセシスをサポートするポリアクリルアミド材料の、直交反応性の効用を支持する証拠を提供した。第 1 に、テストした全てのアジド官能化材料は全て、ノルボルネン表面にしっかり結合することが可能だった。これは、熱応力試験により測定されるように、安定した表面が得られるようにアジドがポリマー構造に組み込まれたことを意味する。第 2 に、アミン官能化ポリマーは全て、乾燥器の使用により生成されたエポキシ表面をコーティングすることが可能だった。表面のプライマー濃度は約 20 ~ 30 k だった。これらの実験で、対照のポリマー（つ

50

まり標準的な P A Z A M) はアミン官能性を持たず、熱応力試験の後で最大の表面減少を示した。これは予想された結果である。二官能化ポリアクリルアミドポリマーの P 1 , P 4、および P 6 はそれぞれ 5 % アミン官能性を有し、適度な表面安定性を示した。本結果は、これらのポリアクリルアミドコーティング表面が頑強であることを示した (ポリマーコーティング表面を標準的な応力試験にかけた後の表面減少は約 20 % ~ 30 % だった) 。ノルボルネン単層表面とエポキシ単層表面の T E T Q C のシグナル変化の結果を、図 3 A および図 3 B にそれぞれ示す。テストした 3 つの二官能化ポリアクリルアミドのうち、ポリマー 4 が最良の表面頑強性を示す。

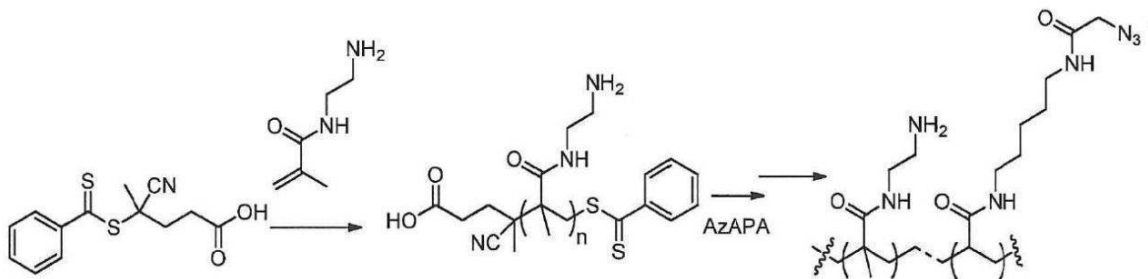
【 0 2 0 6 】

上記の手順により調製した直交ポリアクリルアミドは、概してランダムコポリマーである。ポリマー構造の異なる官能性部分を分けること、例えば、全てのアジド官能基を全てのアミン官能基からポリマー鎖の異なるセグメントへ分けることが望ましい場合がある。この代替合成は、制御ラジカル重合 (C R P) 法 (例えば、R A F T、A T R P) を用いて容易に達成可能である。スキーム 2 . 1 とスキーム 2 . 2 は、ブロックコポリマー A E M A - b - A z A P A (ポリマー 7) を調製するための 2 つの合成経路を示す。

【 0 2 0 7 】

スキーム 2 . 1

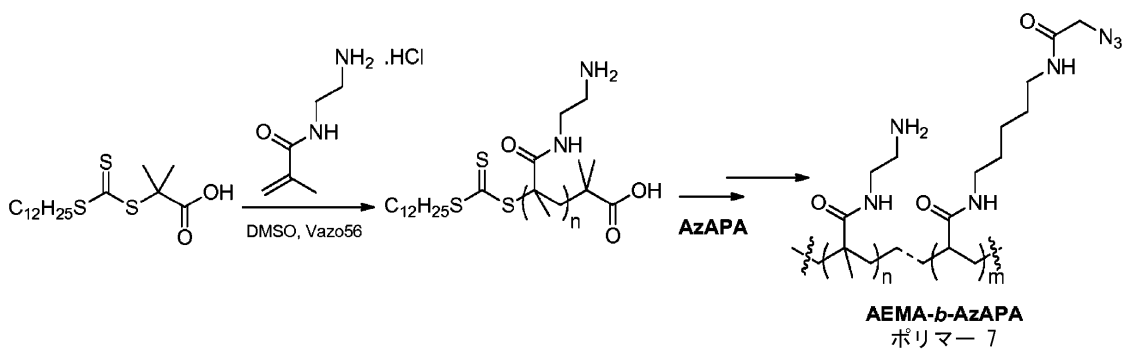
【 化 6 4 】



【 0 2 0 8 】

スキーム 2 . 2

【 化 6 5 】



【 0 2 0 9 】

スキーム 2 . 2 に従って R A F T 技法により調製したブロックコポリマー A E M A - b - A z A P A のコーティング性能を、エポキシシラン単層表面においてランダムコポリマーのポリマー 4 のそれと比較した。C V D プロセスを 60 のオープン内で乾燥器を用いてフローセル上で実行し、該フローセルを一晩インキュベートした。フローセルのレイアウトを表 6 にまとめる。ポリマー 7 のアミノ官能基とエポキシ表面でのポリマー 4 との間のカップリング反応を、60 で 1 時間行った。

【 0 2 1 0 】

10

20

30

40

50

【表 6】

チャンネル	ポリマー カップリング 温度(°C)	ポリマー/ エポキシ表面 カップリング 時間(分)	カップリングに 用いたポリマー の体積(μL)	ポリマー	概算 [ポリマー] / w/v%	[P5/P7] / μM
1	60	60	450	ポリマー7	0.3*	10
2	60	60	450	ポリマー7	0.3*	10
3	60	60	450	ポリマー7	0.3*	10
4	60	60	450	ポリマー7	0.3*	10
5	60	60	450	ポリマー4	0.5	10
6	60	60	450	ポリマー4	0.5	10
7	60	60	450	ポリマー4	0.5	10
8	60	60	450	ポリマー4	0.5	10

*本バッチの固体含有量は、RIにより測定されるように、非常に高かった (4.9%Brix @ 0.3%w/v)

【0211】

2つのQCメトリクス(QC1およびQC3)を用いて本方法の成果を測った。TET QC1およびTET QC3での、エポキシシラン単層表面におけるポリマーコーティングフローセルのTyphoon蛍光画像とポリマーのTyphoon強度中央値の関連チャートを、図4A、図4B、図4C、および図4Dそれぞれに示す。TET QCのシグナル変化の結果を図4Eに示す。エポキシ表面についてのTET QC測定を下記の表7にまとめる。両材料とも、熱応力試験後に実行されるTET QCにより測定されるように、安定した表面をもたらした。それぞれの場合において、コーティングは極めて均質だった。

【0212】

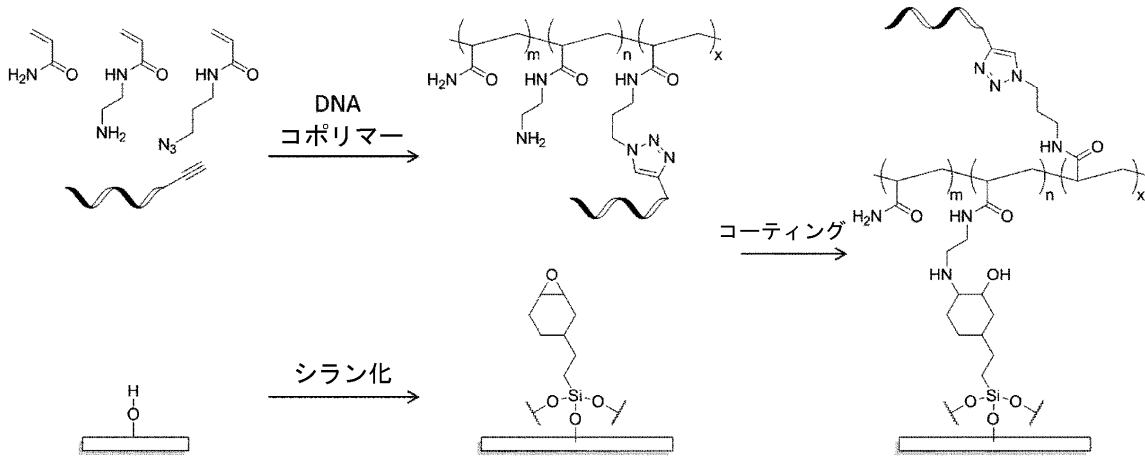
【表 7】

レーン	ポリマー	%強度変化, QC1->QC3	%表面減少
1	ポリマー7	4%	-4%
2	ポリマー7	4%	-4%
3	ポリマー7	3%	-3%
4	ポリマー7	2%	-2%
5	ポリマー4	12%	-12%
6	ポリマー4	13%	-13%
7	ポリマー4	13%	-13%
8	ポリマー4	14%	-14%

【0213】

(実施例2)

スキーム 3
【化 6 6】



10

20

【0214】

スキーム 3 は、DNA コポリマーをシラン化基材表面に固定することによる基材調製についてのフローチャートを示す。第 1 に、アルキン官能化プライマーをアクリルアミドモノマー、アジド - アクリルアミドモノマー、およびアミノ - アクリルアミドモノマーと反応させて予備グラフト化三元コポリマー (DNA コポリマー) を形成することにより、DNA コポリマーを形成する。基材表面をまずエポキシ基を含むシランで処理する。次に、ポリマーの第一アミノ基をシランのエポキシ基と反応させることにより、DNA コポリマーを基材表面に固定する。このプロセスにより調製される DNA コポリマーの構造は、他のモノマーの添加により修飾することができ、例えば、N, N - メチレンビスアクリルアミドを加えて規定のやり方で架橋を導入する、または、イニマー (またはモノマー開始剤) を加えて規定のやり方で分岐点を導入することが可能である。RAFT、ATRP、または NMP などの制御重合技法を用いて、必要であれば、ポリマーの官能性部分を分離したブロックコポリマー構造を作製して、より効果的にすることもできる。

30

【0215】

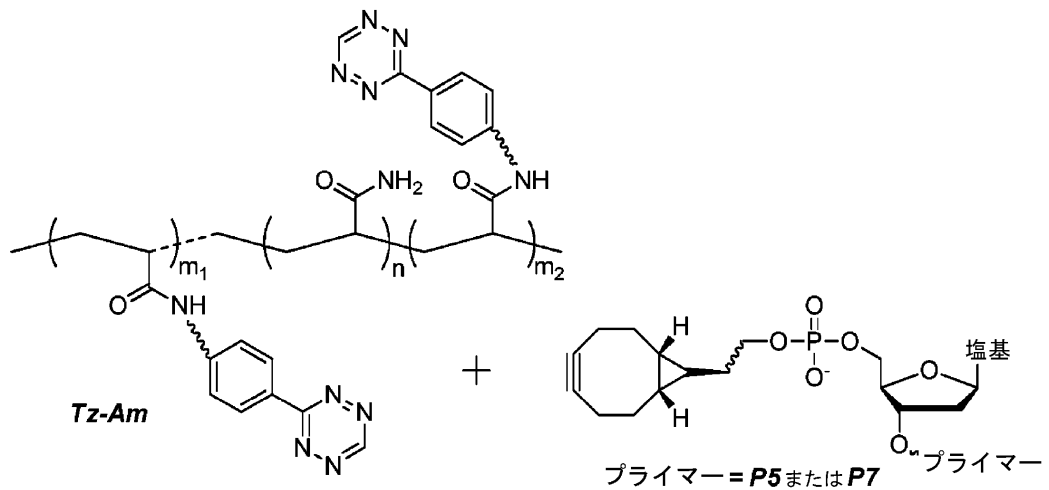
(実施例 3)

スキーム 4 . テトラジン官能化ポリマーとのオリゴ反応

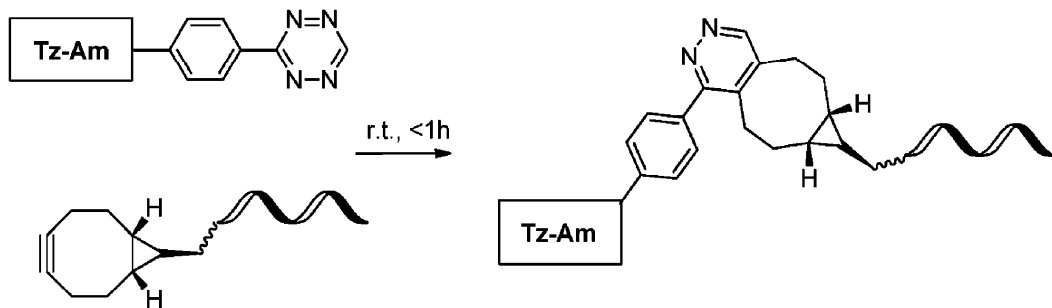
40

50

【化67】



10



20

【0216】

スキーム4は、グラフト化ポリマーを形成するための、ビスクロ[6.1.0]ノナ-4-イン(「BCN」)官能化P5またはP7プライマーと、テトラジン修飾アクリルアミドポリマー(「Tz-Am」)との間の反応を示す。この無触媒の歪み促進クリック反応は室温で行うことが可能であり、それは水性環境に適応する。結果として生じるグラフト化ポリマーを、いくつかの方法、例えば、析出またはタンジェンシャルフロー・フィルトレーション(「TEF」)などを用いて精製することが可能である。このプロセスで用いることができる、他の非限定的な実現可能なポリマー骨格としては、ポリアクリレートまたはポリホスファゼンが挙げられる。

30

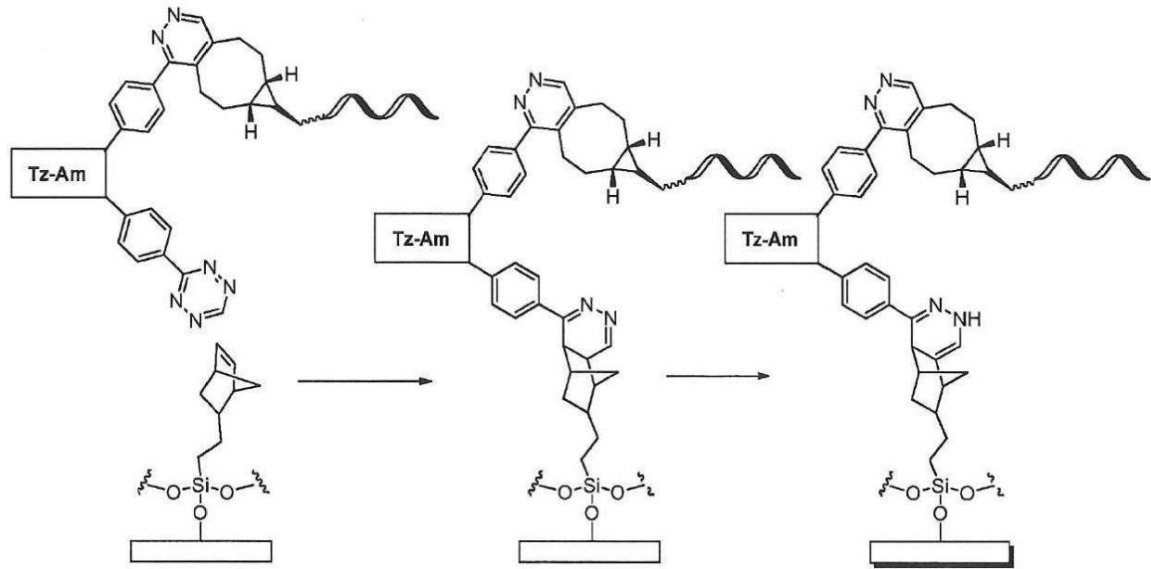
【0217】

スキーム5. 予備グラフト化テトラジンポリマーの表面への結合

40

50

【化68】



10

【0218】

スキーム5は、予備グラフト化したテトラジンアクリルアミドポリマーの、基材のノルボルネン官能化表面への結合を示す。ノルボルネンシラン化表面は、Illumina社のNextSeq（登録商標）プラットフォームの標準部品である。あるいは、テトラジン官能化ポリマーおよびBCNポリマーは、グラフト化ポリマーを形成する代わりに基材表面に*in situ*で結合させることができる。

20

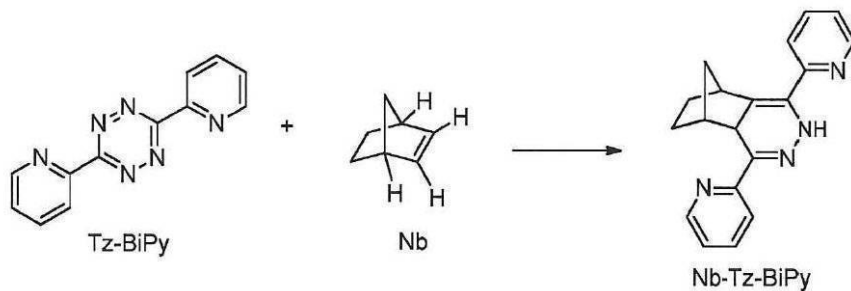
【0219】

このアプローチの実現可能性を評価するため、初期実験を、モデルシステムを用いて小規模の溶液反応において実行した（スキーム6）。

【0220】

スキーム6

【化69】



30

【0221】

スキーム6は、モル比率が1:1の、ノルボルネン(Nb)と商業的に入手可能なビピリジルテトラジン(BiPy)との間の反応を示す。軽く攪拌し、溶媒としてCDCl₃を用いて、室温でNMR管において反応を行った。反応混合物のNMRスペクトルを、反応開始時(t=0)で1回、15分後に1回、および60分後に1回と、3つの異なる時点で取り込んだ。NMRスペクトルは、ノルボルネン(約5.8 ppmで化学シフトあり)の2つのアルケン水素のピークが消失し、1時間後にほぼ見えなくなることを示した(図5参照)。これは、テトラジンとノルボルネンとの間の反応の迅速な動態を示す。

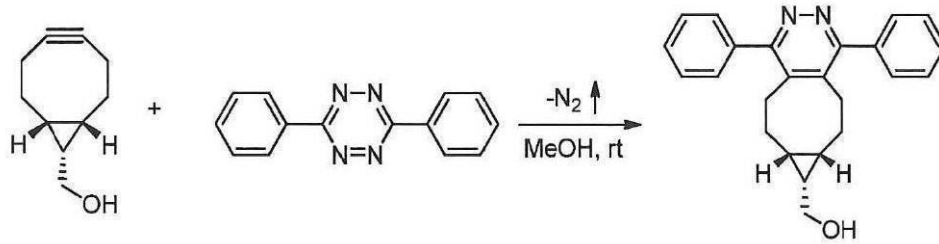
40

【0222】

スキーム7

50

【化 7 0】



【0 2 2 3】

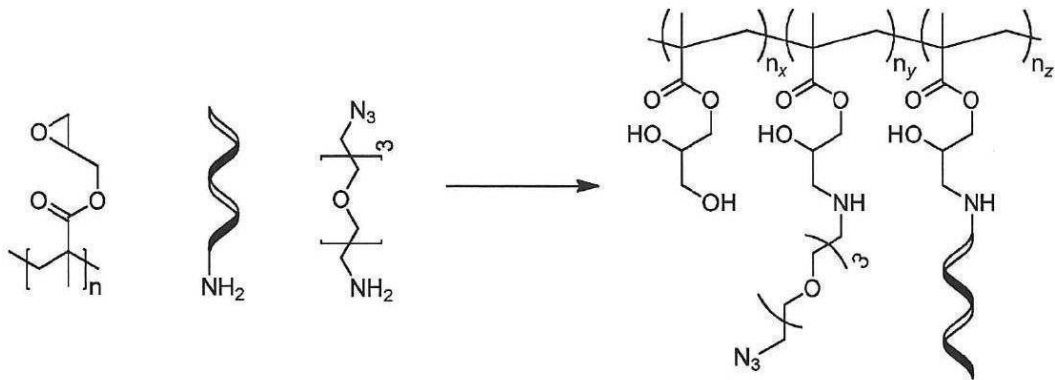
別の実験において、スキーム 7 は、ビスフェニル置換 1, 2, 4, 5 - テトラジン (1 mM) を用いた、シクロオクチンの (10 mM) の簡易歪み促進 [4 + 2] 付加環化を示す。反応を室温で乾燥 MeOH において実行した。図 6 は、シクロオクチンの UV - vis 吸収が減少するパターンを示し、これは、反応がたった 9 分後にほぼ完了したことを示す。W. Chen, D. Wang, C. Dai, D. Hamelberg, B. Wang, Chem. Commun., 2012, 48, 1736 - 1738 を参照されたい。

【0 2 2 4】

(実施例 4)

スキーム 8 . 予備グラフト化ポリ (グリシジルメタクリレート) の調製

【化 7 1】



【0 2 2 5】

スキーム 8 は、ポリ (グリシジルメタクリレート) のグリシジルエーテル基を、官能化プライマーとアミノ - PEG - アジドのアミノ基と反応させることによる、予備グラフト化ポリ (グリシジルメタクリレート) のくし状ポリマーの調製を示す。このグラフト化ポリマーは、ポリマーの側鎖アジド基とノルボルネンとの間の無触媒、歪み促進クリック反応を介して、標準的なノルボルネンの表面に結合させることが可能である。いくつかの商業的に利用可能なアミノアジドを用いることが可能であり、アジド基はまた、他の直交官能基で置換することができる。

【0 2 2 6】

(実施例 5)

スキーム 9 . 予備グラフト化ポリ (グリシジルメタクリレート) の調製

10

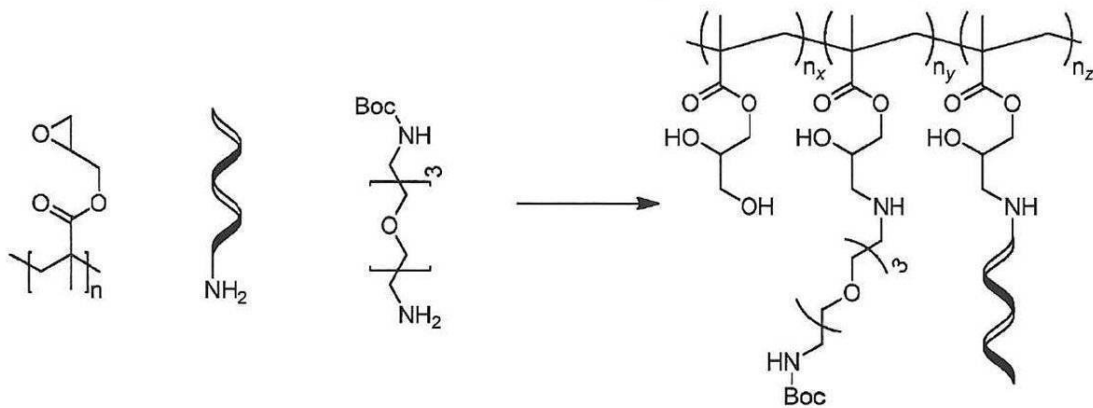
20

30

40

50

【化 7 2】



10

【 0 2 2 7】

スキーム 9 は、ポリ(グリシジルメタクリレート)のグリシジル基を、官能化プライマーとアミノ-PEG-Boc-アミドのアミノ基と反応させることによる、予備グラフト化ポリ(グリシジルメタクリレート)くし状ポリマーの調製を示す。このグラフト化ポリマーを次に、Boc-脱保護にかけて第一アミノ官能化側鎖を生成し、これをグリシジルまたはエポキシ官能化表面に結合させる。

20

【 0 2 2 8】

(実施例 6)

図 7 は、予備グラフト化 dendrimer とオリゴヌクレオチドが結合した外面との、起こり得る界面化学を示す。Dendrimer の原点は、直接表面結合のためにアジド基で官能化することが可能である。あるいは、アジド基を、第 2 dendrimer の中心点にあるアルキル基と反応させることが可能であり、ここで、該第 2 dendrimer は基材結合基「A」に覆われた外面を備えて、自己集合のためのヤヌス型粒子を作る。

【 0 2 2 9】

(実施例 7)

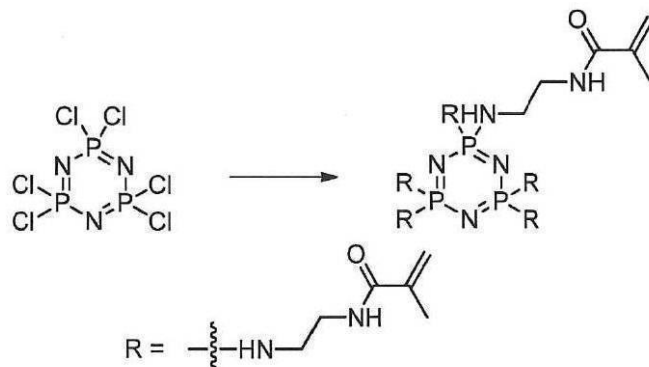
ポリホスファゼン骨格を有する直交ポリマーはまた、本出願でも用いることが可能である。ポリホスファゼンは、Dendron 化ポリマーを構築する、ポリマー構造の起こり得る分岐のため、または後続のポリマー結合のための、線形足場として機能し得る。スキーム 10.1 は、修飾アクリルアミドモノマーの構築のための、環式ヘキサクロホスファゼンの核を利用した合成経路を示す。

30

【 0 2 3 0】

スキーム 10.1

【化 7 3】



40

【 0 2 3 1】

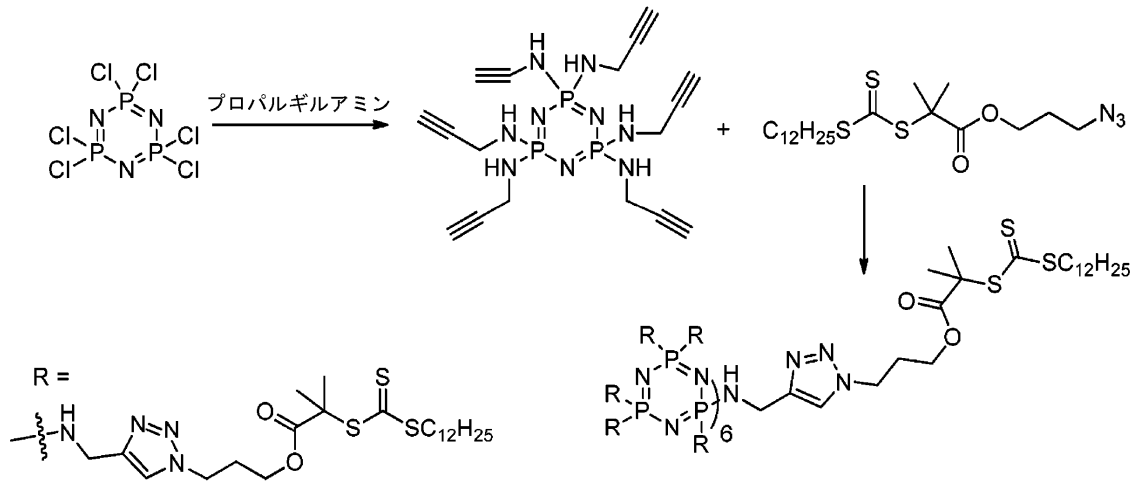
50

スキーム 10.2 および 10.3 は、後続のポリマー結合のための、2つのポリホスファゼン足場の合成を示す。いくつかのポリホスファゼン合成が Qiu et al., *Nanotechnology*, 18 (2007) 475-602 および Cheng et al., *Journal of Polymer Science, Part A: Polymer Chemistry*, 2013, 51, 1205-1214 で報告されている。

【0232】

スキーム 10.2 .

【化74】



【0233】

スキーム 10.3 .

10

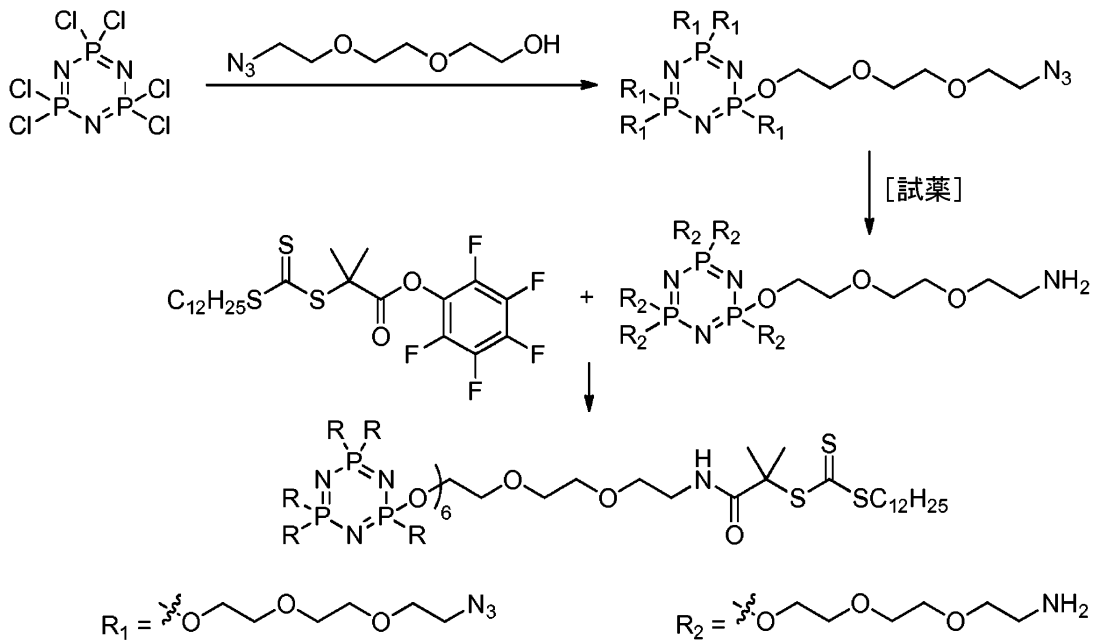
20

30

40

50

【化 7 5】



【 0 2 3 4】

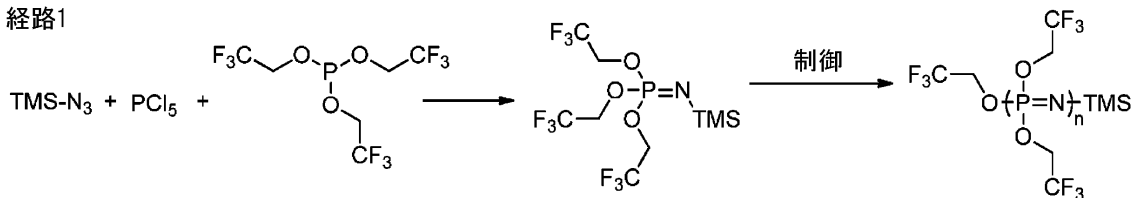
スキーム 10 . 4 は、線形ポリジクロロホスファゼン (P D C P) 骨格を調製するための 2 つの実現可能な経路を示す。経路 1 は、アニオン制御重合である。経路 2 は、ヘキサクロロホスファゼンの開環反応である。架橋が導入される可能性と同様に、線形、環線状、および架橋したポリマー構造に対する潜在的アクセス権のある経路 1 が好適である。

【 0 2 3 5】

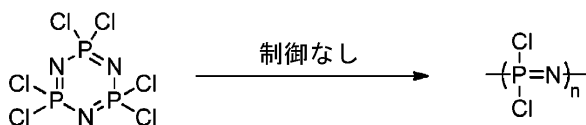
スキーム 10 . 4 .

【化 7 6】

経路 1



経路 2



10

20

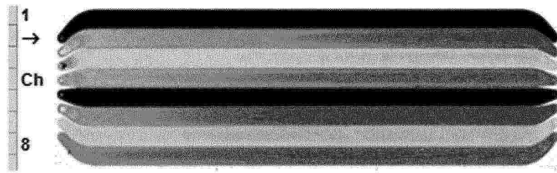
30

40

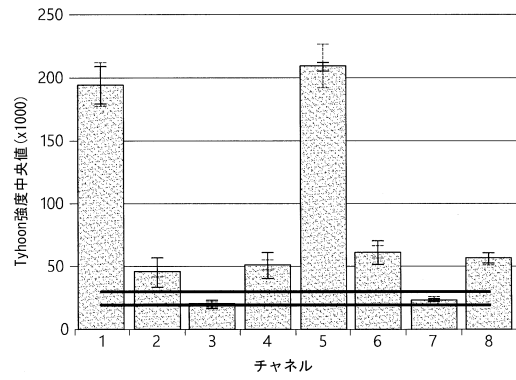
50

【図面】

【図 1 A】

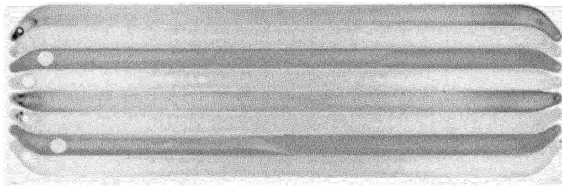


【図 1 B】

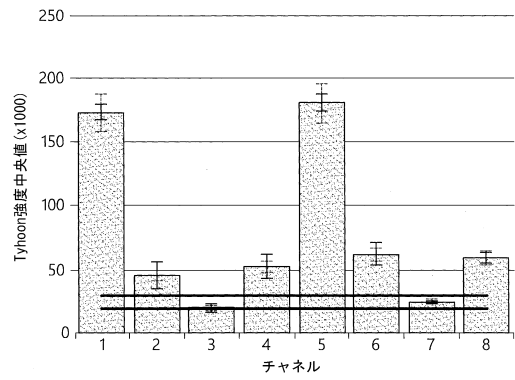


10

【図 1 C】



【図 1 D】



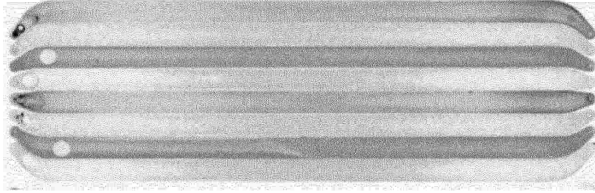
20

30

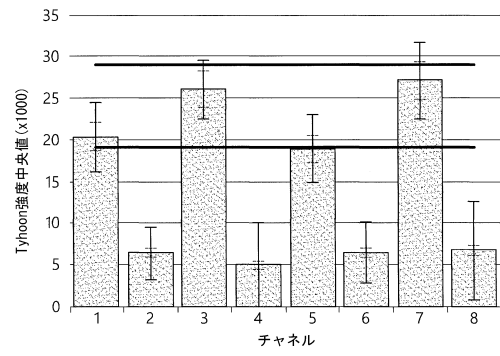
40

50

【図 2 A】

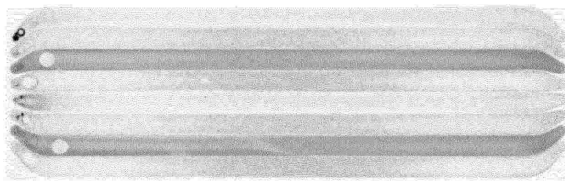


【図 2 B】

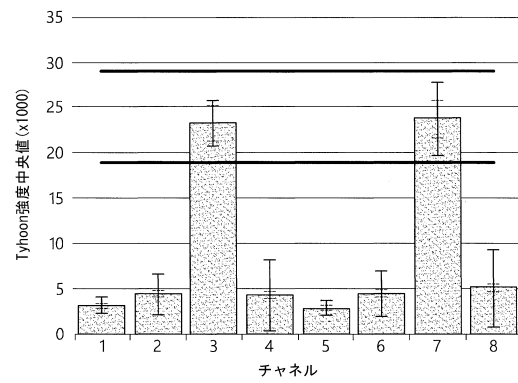


10

【図 2 C】



【図 2 D】



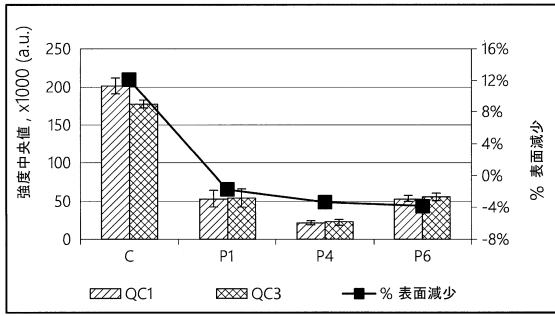
20

30

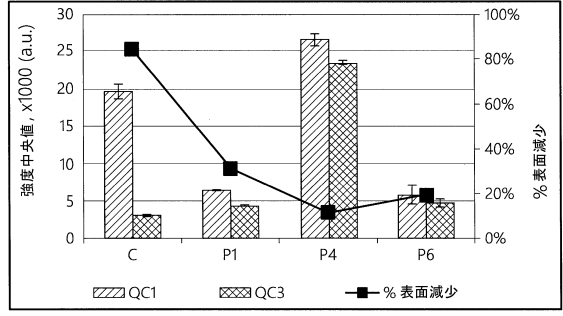
40

50

【 図 3 A 】

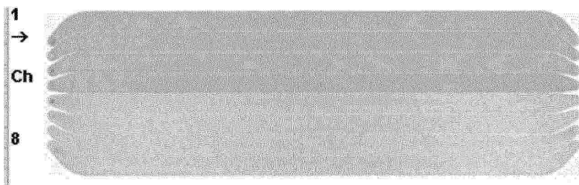


【 図 3 B 】

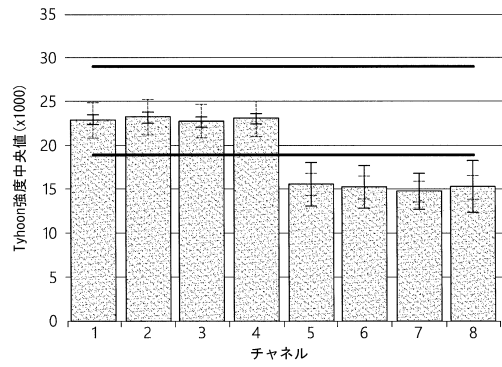


10

【 図 4 A 】



【 図 4 B 】



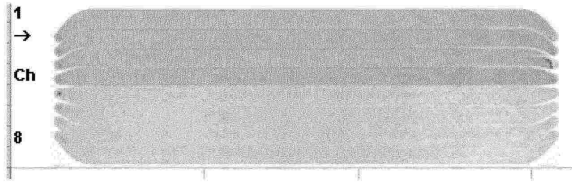
20

30

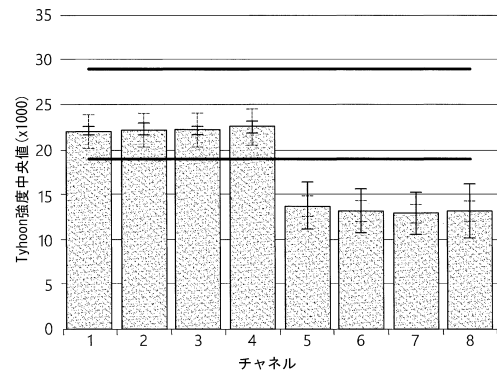
40

50

【 図 4 C 】

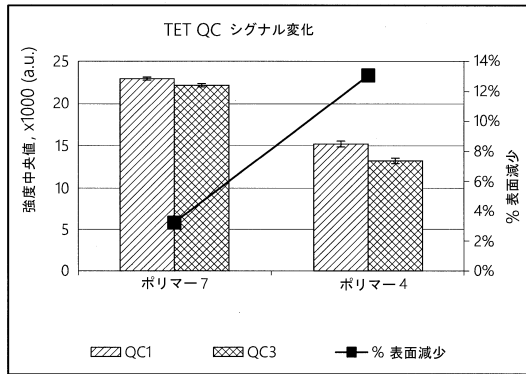


【 図 4 D 】

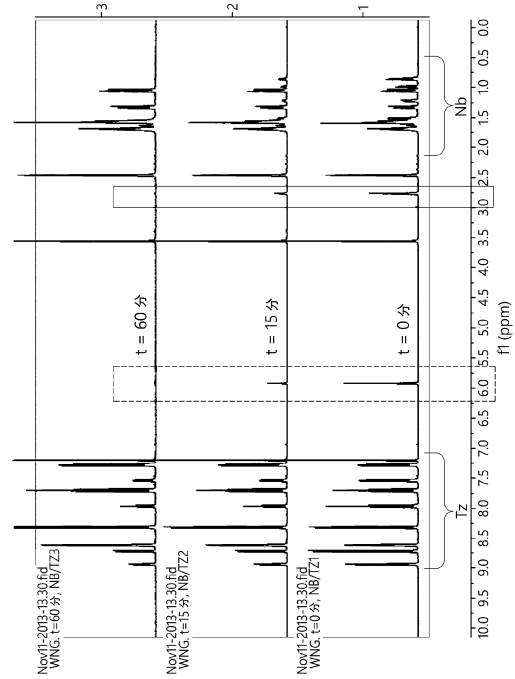


10

【 図 4 E 】



【 図 5 】



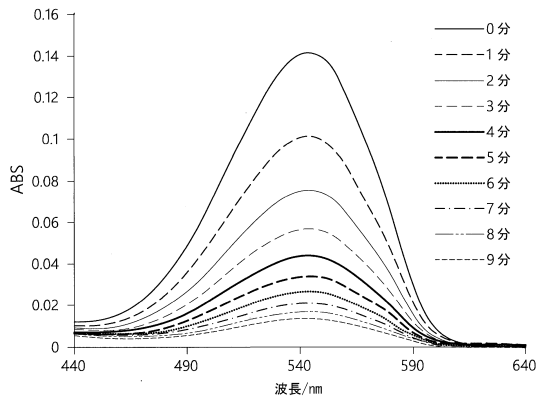
20

30

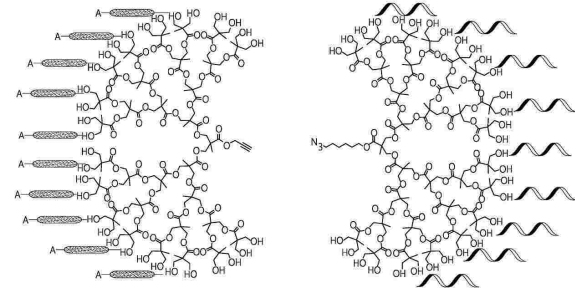
40

50

【 図 6 】



【 図 7 】



10

20

30

40

50

フロントページの続き

- ワルデン リトル チェスターフォード チェスターフォード リサーチ パーク
 (72)発明者 アレクサンダー リシェ
 イギリス国 エセックス州 シービー 1 0 1 エックスエル エヌアール サフロン ワルデン リトル
 チェスターフォード チェスターフォード リサーチ パーク
- (72)発明者 アンヌーセシル ディングウォール
 イギリス国 エセックス州 シービー 1 0 1 エックスエル エヌアール サフロン ワルデン リトル
 チェスターフォード チェスターフォード リサーチ パーク
- (72)発明者 サビエル ボン ハッテン
 イギリス国 エセックス州 シービー 1 0 1 エックスエル エヌアール サフロン ワルデン リトル
 チェスターフォード チェスターフォード リサーチ パーク
- 審査官 藤原 研司
- (56)参考文献 特開昭 6 3 - 1 6 3 8 1 2 (J P , A)
 特開平 0 9 - 0 5 9 3 1 5 (J P , A)
 特開 2 0 0 9 - 1 4 8 2 7 6 (J P , A)
 Changgang XU et al. , Clickable molecularly imprinted nanoparticles , Chemical Communic
 ations , 2011年 , Vol. 47 , No. 21 , p.6096-6098 , DOI: 10.1039/c1cc11439e
 Stephen RIMMER et al. , Epithelialization of hydrogels achieved by amine functionalization
 and co-culture with stromal cells , Biomaterials , 2007年12月 , Vol. 28 , No. 35 , p.5319-
 5331 , DOI: 10.1016/j.biomaterials.2007.08.028
 Erick SOTO-CANTU et al. , Versatility of Alkyne-Modified Poly(Glycidyl Methacrylate) Layer
 s for Click Reactions , Langmuir , 2011年04月 , Vol. 27 , No. 10 , p.5986-5996 , DOI: 10.
 1021/la2000798
 X. B. DOU et al. , Aminated Poly(glycidyl methacrylate)s for Constructing Efficient Gene Car
 riers , ACS Applied Materials & Interfaces , 2013年04月 , Vol. 5 , No. 8 , p.3212-3218 ,
 DOI: 10.1021/am4002277
 Scott D. KIMMINS et al. , Amine-functionalization of glycidyl methacrylate-containing emul
 sion-templated porous polymers and immobilization of proteinase K for biocatalysis , Poly
 mer , 2014年01月 , Vol. 55 , No. 1 , p.416-425 , DOI: 10.1016/j.polymer.2013.09.019
- (58)調査した分野 (Int.Cl. , D B 名)
 C 0 8 F
 C 0 9 D
 C A p l u s / R E G I S T R Y (S T N)