

【公報種別】特許法第 17 条の 2 の規定による補正の掲載

【部門区分】第 3 部門第 2 区分

【発行日】平成22年6月24日(2010.6.24)

【公表番号】特表2009-544660(P2009-544660A)

【公表日】平成21年12月17日(2009.12.17)

【年通号数】公開・登録公報2009-050

【出願番号】特願2009-521246(P2009-521246)

【国際特許分類】

C 0 7 D 403/14 (2006.01)

C 1 2 N 9/10 (2006.01)

C 1 2 Q 1/48 (2006.01)

C 0 7 D 495/04 (2006.01)

C 0 7 D 407/12 (2006.01)

C 0 7 D 493/10 (2006.01)

【 F I 】

C 0 7 D 403/14 C S P

C 1 2 N 9/10

C 1 2 Q 1/48 Z

C 0 7 D 495/04 1 0 3

C 0 7 D 407/12

C 0 7 D 493/10 B

【手続補正書】

【提出日】平成22年5月7日(2010.5.7)

【手続補正 1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

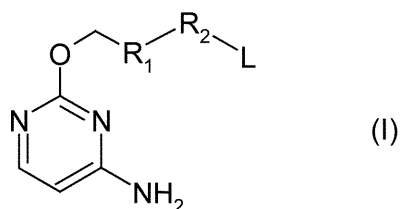
【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

式 (I)

【化 1 7】



(式中、

R₁ は、芳香族もしくはヘテロ芳香族基であるか、または場合により置換されている不飽和アルキル、場合により置換されているシクロアルキルもしくは場合により置換されている OCH₂- に連結された二重結合を有する、ヘテロサイクリル基であり；

R₂ は、リンカーであり、そして

L は、標識または複数の同じまたは異なる標識である）
の化合物。

【請求項 2】

R₁ が、フェニルである、請求項 1 に記載の式 (I) の化合物。

【請求項 3】

R_1 が、パラ - 置換されたフェニルである、請求項 2 に記載の式 (I) の化合物。

【請求項 4】

R_2 が、1 ~ 300 個の炭素原子を有する直鎖または分岐鎖アルキレン基であって、場合により

(a) 1 個以上の炭素原子が、酸素で置き換えられている、特に 3 番目毎の炭素原子が、酸素で置き換えられている、例えば 1 ~ 100 のエチレンオキシ単位を有するポリエチレンオキシ基；

(b) 1 個以上の炭素原子が、水素原子を有する窒素で置き換えられており、そして隣接炭素原子が、オキソにより置換されており、アミド官能基 - NH - CO - を示す；

(c) 1 個以上の炭素原子が、酸素で置き換えられており、そして隣接炭素原子が、オキソにより置換されており、エステル官能基 - O - CO - を示す；

(d) 2 つの隣接炭素原子間の結合が、二重結合または三重結合であり、官能基 - CH = CH - または - C ≡ C - を示す；

(e) 1 個以上の炭素原子が、フェニレン、飽和もしくは不飽和シクロアルキレン、飽和もしくは不飽和ビスシクロアルキレン、橋かけヘテロ芳香族または橋かけ飽和もしくは不飽和ヘテロサイクリル基で置き換えられている；

(f) 2 個の隣接炭素原子が、ジスルフィド結合 - S - S - で置き換えられている；
1 ~ 300 個の炭素原子を有する直鎖または分岐鎖アルキレン基、または 2 つ以上の、特に 2 つもしくは 3 つの、アルキレンおよび / または前記 (a) ~ (f) 下に定義された改変されたアルキレン基の組み合わせであり、これらの基は場合により置換基を含有する、請求項 1 に記載の式 (I) の化合物。

【請求項 5】

R_2 が、炭素原子が場合によりアミド官能基 - NH - CO - で置き換えられている、1 ~ 25 個の炭素原子を有する直鎖アルキレン基である、請求項 4 に記載の式 (I) の化合物。

【請求項 6】

L が、分光学的プローブ、特異的結合ペアの 1 つの部分を表す分子、または固体支持体に共有結合により結合した分子である、請求項 1 に記載の式 (I) の化合物。

【請求項 7】

L が、発蛍光団である、請求項 6 に記載の式 (I) の化合物。

【請求項 8】

請求項 7 に記載の化合物 N - [4 - (4 - アミノピリミジン - 2 - イルオキシメチル) - ベンジル] - テトラメチルローダミン - 5 - もしくは 6 - カルボキサミドまたはその混合物。

【請求項 9】

請求項 7 に記載の化合物 N - [4 - (4 - アミノピリミジン - 2 - イルオキシメチル) - ベンジル] - フルオレセイン - 5 もしくは 6 - カルボキサミドまたはその混合物。

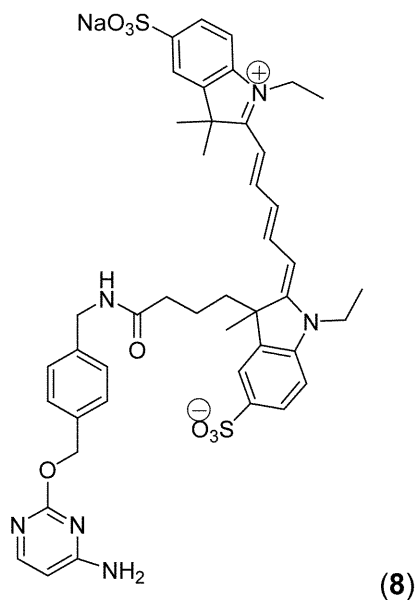
【請求項 10】

請求項 7 に記載の化合物 N - [4 - (4 - アミノピリミジン - 2 - イルオキシメチル) - ベンジル] - ジアセチルフルオレセイン - 5 もしくは 6 - カルボキサミドまたはその混合物。

【請求項 11】

式 8

【化 1 8】

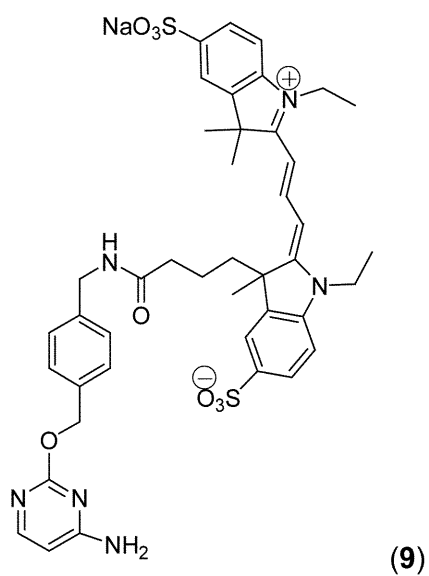


の N - [4 - (4 - アミノピリミジン - 2 - イルオキシメチル) - ベンジル] - D Y 6 4
7 - カルボキサミドである、請求項 7 に記載の化合物。

【請求項 1 2】

式 9

【化 1 9】

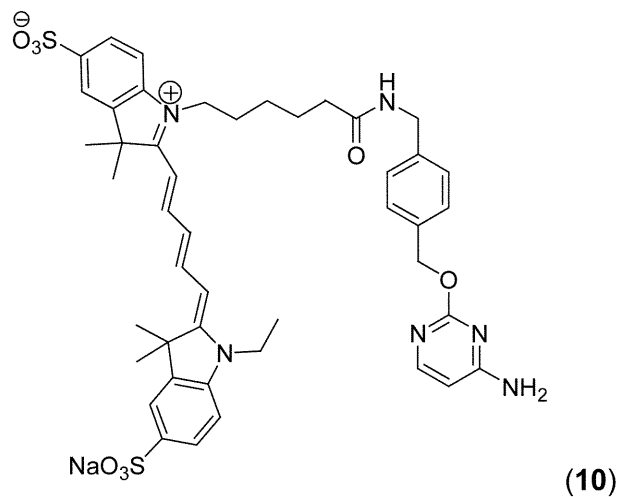


の N - [4 - (4 - アミノピリミジン - 2 - イルオキシメチル) - ベンジル] - D Y 5 4
7 - カルボキサミドである、請求項 7 に記載の化合物。

【請求項 1 3】

式 1 0

【化 2 0】

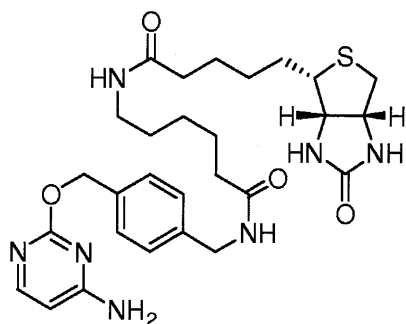


の N - [4 - (4 - アミノピリミジン - 2 - イルオキシメチル) - ベンジル] - C y 5 - カルボキサミドである、請求項 7 に記載の化合物。

【請求項 1 4】

式 1 2

【化 2 1】

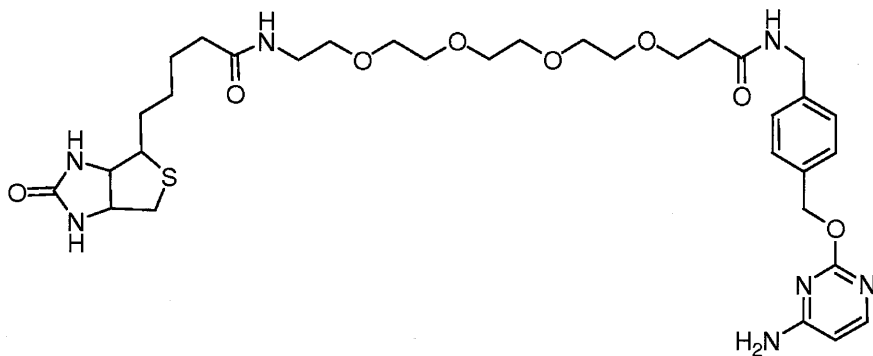


の請求項 7 に記載の化合物 B C - ビオチン。

【請求項 1 5】

式 1 3

【化 2 2】

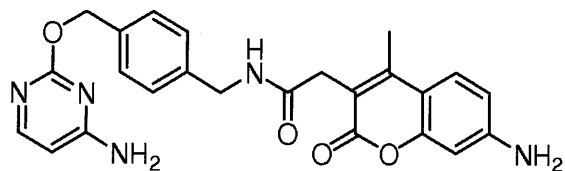


の請求項 7 に記載の化合物 B C - P E G - ビオチン。

【請求項 1 6】

式 1 4

【化 2 3】

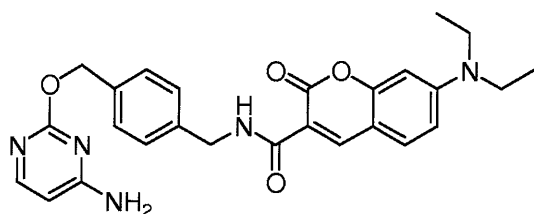


の請求項 7 に記載の化合物 B C - 3 6 0。

【請求項 1 7】

式 1 5

【化 2 4】

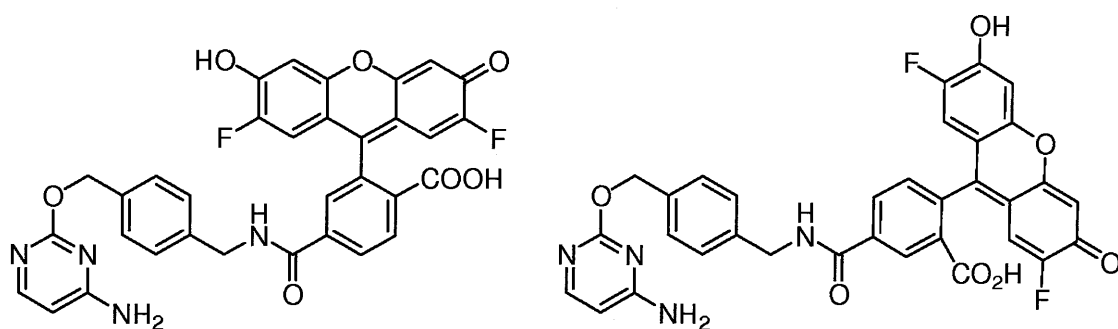


の請求項 7 に記載の化合物 B C - 4 3 0。

【請求項 1 8】

式 1 6

【化 2 5】

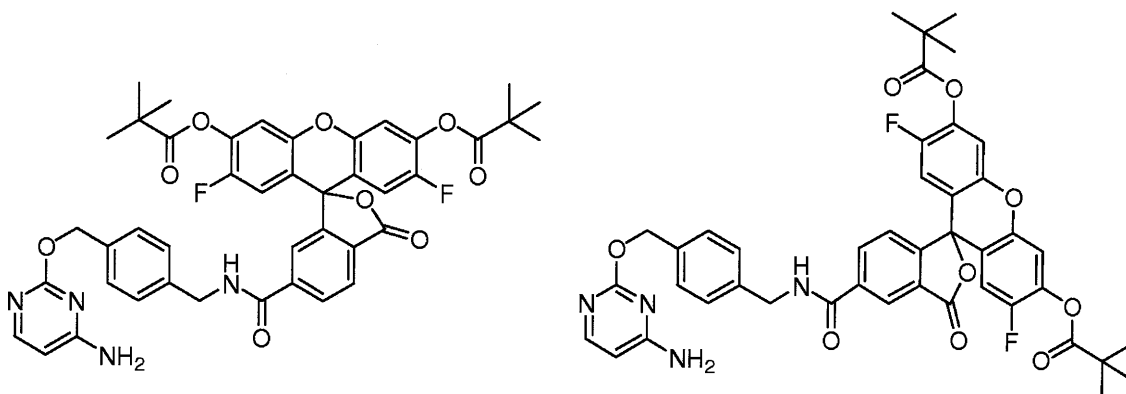


の 1 つの請求項 7 に記載の化合物 B C - O r e g o n G r e e n またはその混合物。

【請求項 1 9】

式 1 7

【化 2 6】

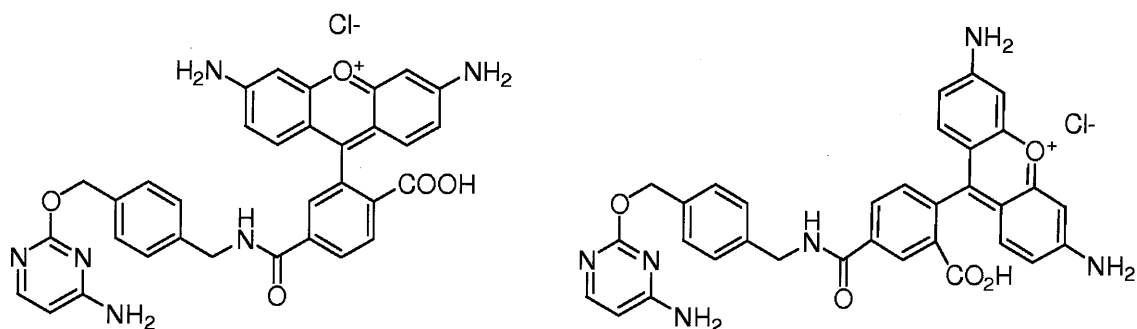


の 1 つの請求項 7 に記載の化合物 B C - O r e g o n G r e e n ジピバロイルエステ
またはその混合物。

【請求項 2 0】

式 1 8

【化 2 7】



の 1 つの請求項 7 に記載の化合物 B C - 5 0 5 またはその混合物。

【請求項 2 1】

(a) 1 7 0 ~ 2 2 0 アミノ酸からなり ;
(b) 少なくとも 1 つのシステインを含み ;
(c) O^2 - ベンジルシトシンと反応し、それによって同じ条件下に O^6 - ベンジルグア
ニンとの反応における場合と少なくとも同じに速く (b) のシステインのメルカプト官能
基にベンジル置換基を移行させる、
タンパク質である アルキルシトシントランスフェラーゼ (A C T) 。

【請求項 2 2】

配列番号 1 に記載のタンパク質 ;

下記の置換、

R 1 1 4 A、S 1 3 1 V、E 1 4 8 Q、G 1 5 7 W および M 1 5 9 R ;
R 1 1 4 S、S 1 3 1 T、D 1 3 5 T、E 1 4 8 D、G 1 5 7 P および M 1 5 9 E ;
R 1 1 4 N、S 1 3 1 N、G 1 5 7 A および M 1 5 9 S ;
R 1 1 4 A、S 1 3 1 T、D 1 3 5 S、G 1 5 7 K および M 1 5 9 E ;
R 1 1 4 E、S 1 3 1 R、D 1 3 5 A、G 1 5 7 E および M 1 5 9 E ;
R 1 1 4 S、S 1 3 1 V、E 1 4 8 Q、G 1 5 7 L および M 1 5 9 R ;
R 1 1 4 E、S 1 3 1 N、D 1 3 5 N、G 1 5 7 T および M 1 5 9 F ;

により配列番号 1 とは異なるタンパク質 ;

および位置 1 1 4、1 3 1、1 3 5、1 4 8、1 5 7 および 1 5 9 以外の位置で 1 個、2
個または 3 個のアミノ酸が異なるこのようなタンパク質 ;

からなる群より選ばれる、請求項 2 1 に記載の アルキルシトシントランスフェラーゼ (A
C T) 。

【請求項 2 3】

配列番号 1 2 に記載のタンパク質 ;

位置 6 0 のアミノ酸が、M または I であり、

位置 1 1 4 のアミノ酸が、A、E、N、R または S であり、

位置 1 2 1 のアミノ酸が、A または V であり、

位置 1 3 1 のアミノ酸が、N、S、T または V であり、

位置 1 3 5 のアミノ酸が、D、N または T であり、

位置 1 4 8 のアミノ酸が、D、E、Q または V であり、

位置 1 5 3 のアミノ酸が、L または S であり、

位置 1 5 7 のアミノ酸が、A、G、L、T、P または W であり、そして

位置 1 5 9 のアミノ酸が、E、F、M、R、S または L である、

配列番号 12 のタンパク質；

および位置 60、114、121、131、135、148、153、157 および 159 以外の位置で 1 個、2 個または 3 個のアミノ酸が異なるこのようなタンパク質；
からなる群より選ばれる、請求項 21 に記載の アルキシルシトシントランスフェラーゼ（ACT）。

【請求項 24】

請求項 1 に記載の式（I）の化合物から、標識 L を、請求項 21 に記載のアルキシルシトシントランスフェラーゼ、または請求項 21 に記載のアルキシルシトシントランスフェラーゼを含む融合タンパク質に移行させる方法。

【請求項 25】

関心のあるタンパク質を請求項 21 に記載のアルキシルシトシントランスフェラーゼを含む融合タンパク質に組み込み、該アルキシルシトシントランスフェラーゼ融合タンパク質を請求項 1 に記載の式（I）の化合物と接触させ、そして標識 L を認識および / または処理するためにデザインされたシステムにおいて標識 L を使用して、前記アルキシルシトシントランスフェラーゼ融合タンパク質を検出しそして場合により更に操作する、関心のあるタンパク質を検出および / または操作するための方法。