

【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 17 年 4 月 7 日 (2005.4.7)

【公表番号】特表 2004-532805 (P2004-532805A)

【公表日】平成 16 年 10 月 28 日 (2004.10.28)

【年通号数】公開・登録公報 2004-042

【出願番号】特願 2002-539575 (P2002-539575)

【国際特許分類第 7 版】

C 07 D 311/82

C 07 D 405/12

C 07 K 14/00

C 12 N 15/09

C 12 Q 1/68

// C 07 M 7:00

【F I】

C 07 D 311/82

C 07 D 405/12

C 07 K 14/00

C 12 Q 1/68 A

C 12 Q 1/68 Z

C 12 N 15/00 A

C 07 M 7:00

【手続補正書】

【提出日】平成 15 年 5 月 19 日 (2003.5.19)

【手続補正 1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】特許請求の範囲

【補正方法】変更

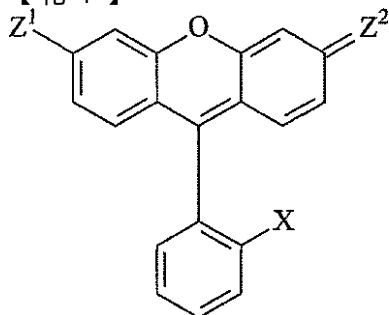
【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

以下の構造：

【化 1】



を有する化合物であって、

Z^1 は、OH、 NH_2 、NHR、または NR_2 であり、ここで、各 R は、独立して、水素、 $C_1 \sim C_{12}$ アルキル、フェニル、ベンジル、アリール、複素環、または連結部分であり；

Z^2 は、O、 $^+NH_2$ 、 ^+NHR 、または $^+NR_2$ であり、ここで、各 R は、独立して、水素、 $C_1 \sim C_{12}$ アルキル、フェニル、ベンジル、アリール、複素環、または連結部分であり；

X は、カルボキシレートまたはスルホネートであり；

そして該構造は、そのアリール置換形態を含み；

ここで、該化合物は、アトロプ異性体的に濃縮されている、化合物。

【請求項 2】

Z^1 が OH であり、 Z^2 が O であり、そして X がカルボキシレートである、請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 3】

Z^1 が NR_2 であり、 Z^2 が $^+NR_2$ であり、そして X がカルボキシレートである、請求項 1 に記載の化合物。

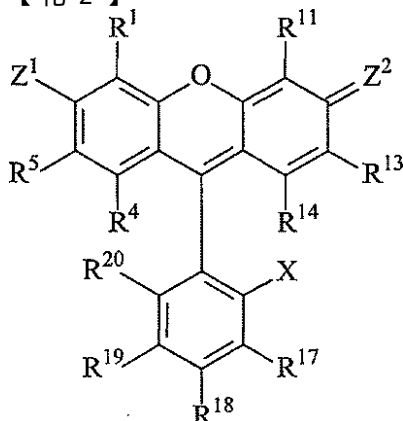
【請求項 4】

前記化合物が実質的に純粋なアトロプ異性体である、請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 5】

以下の構造：

【化 2】



を有する、請求項 1 に記載の化合物であって、

ここで、 R^1 、 R^4 、 R^5 、 R^{11} 、 R^{13} 、 R^{14} 、 R^{17} 、 R^{18} 、 R^{19} 、 R^{20} 、 Z^1 、または Z^2 のうちの少なくとも 1 つが、アジド、一置換第 1 級アミン、二置換第 2 級アミン、チオール、ヒドロキシル、ハロゲン化物、エポキシド、N - ヒドロキシスクシンイミジルエステル、カルボキシル、イソチオシアネート、塩化スルホニル、スルホン酸エステル、ハロゲン化シリル、クロロトリアジニル、スクシンイミジルエステル、ペントフルオロフェニルエステル、マレイミド、ハロアセチル、エポキシド、ハロゲン化アルキル、ハロゲン化アリル、アルデヒド、ケトン、アシルアジド、無水物、ヨードアセトアミドおよび活性化エステルからなる群より選択される連結部分である、化合物。

【請求項 6】

R^1 および R^{11} のうちの 1 つが連結部分である、請求項 5 に記載の化合物。

【請求項 7】

1 つ以上の置換基 R^1 、 R^4 、 R^5 、 R^{11} 、 R^{13} 、 R^{14} 、 R^{17} 、 R^{18} 、 R^{19} 、および R^{20} を含む、請求項 5 に記載の化合物であって、該置換基の各々が独立して、フッ素、塩素、 $C_1 \sim C_8$ アルキル、カルボキシレート、スルフェート、スルホネート、アルキルスルホネート、アミノメチル ($-CH_2NH_2$)、アミノアルキル、4 - ジアルキルアミノピリジニウム、ヒドロキシメチル ($-CH_2OH$)、メトキシ ($-OCH_3$)、ヒドロキシアルキル ($-ROH$)、チオメチル ($-CH_2SH$)、チオアルキル ($-RSH$)、アルキルスルホン ($-SO_2R$)、アリールチオ ($-SAr$)、アリールスルホン ($-SO_2Ar$)、スルホンアミド ($-SO_2NR_2$)、アルキルスルホキシド ($-SOR$)、アリールスルホキシド ($-SOAr$)、アミノ ($-NH_2$)、アンモニウム ($-NH_3^+$)、アミド ($-CONR_2$)、ニトリル ($-CN$)、 $C_1 \sim C_8$ アルコキシ ($-OR$)、フェノキシ、フェノール、トリル、フェニル、アリール、ベンジル、複素環、ホスホネート、ホスフェート、第 4 級アミン、スルフェート、ポリエチレンオキシ、および連結部分である、化合物。

【請求項 8】

前記 R^{13} および R^{14} が一緒になってベンゾを形成する、請求項 5 に記載の化合物。

【請求項 9】

R^1 、 R^4 、 R^5 、 R^{11} 、 R^{13} 、および R^{14} のうちの少なくとも 1 つが、2 - ピリジル、3 - ピリジル、4 - ピリジル、2 - キノリル、3 - キノリル、4 - キノリル、2 - イミダゾール、4 - イミダゾール、3 - ピラゾール、4 - ピラゾール、ピリダジン、ピリミジン、ピラジン、シンノリン、プタラジン、キナゾリン、キノキサリン、3 - (1, 2, 4 - N) - トリアゾリル、5 - (1, 2, 4 - N) - トリアゾリル、5 - テトラゾリル、4 - (1 - O, 3 - N) - オキサゾール、5 - (1 - O, 3 - N) - オキサゾール、4 - (1 - S, 3 - N) - チアゾール、5 - (1 - S, 3 - N) - チアゾール、2 - ベンゾオキサゾール、2 - ベンゾチアゾール、4 - (1, 2, 3 - N) - ベンゾトリアゾール、およびベンゾイミダゾールから選択される、電子不足複素環である、請求項 5 に記載の化合物。

【請求項 10】

R^1 、 R^4 、 R^5 、 R^{11} 、 R^{13} 、および R^{14} のうちの少なくとも 1 つが、フェニルまたは置換フェニルである、請求項 5 に記載の化合物。

【請求項 11】

R^1 、 R^4 、 R^5 、 R^{11} 、 R^{13} 、および R^{14} のうちの少なくとも 1 つが、ナフチルまたは置換ナフチルである、請求項 5 に記載の化合物。

【請求項 12】

R^1 、 R^4 、 R^5 、 R^{11} 、 R^{13} 、および R^{14} のうちの少なくとも 1 つが、フッ素または塩素である、請求項 5 に記載の化合物。

【請求項 13】

R^1 、 R^4 、 R^5 、 R^{11} 、 R^{13} 、および R^{14} のうちの少なくとも 1 つが、2 - ピリジルまたは 3 - ピリジルである、請求項 5 に記載の化合物。

【請求項 14】

R^1 、 R^4 、 R^5 、 R^{11} 、 R^{13} 、および R^{14} のうちの少なくとも 1 つが、2 - キノリルまたは 3 - キノリルである、請求項 5 に記載の化合物。

【請求項 15】

R^1 、 R^4 、 R^5 、 R^{11} 、 R^{13} 、および R^{14} のうちの少なくとも 1 つが、メトキシ (- OCH₃) である、請求項 5 に記載の化合物。

【請求項 16】

R^1 、 R^4 、 R^5 、 R^{11} 、 R^{13} 、および R^{14} のうちの少なくとも 1 つが、アミノメチル (- CH₂NH₂) である、請求項 5 に記載の化合物。

【請求項 17】

R^{17} 、 R^{18} 、 R^{19} 、および R^{20} のうちの少なくとも 1 つが、塩素である、請求項 5 に記載の化合物。

【請求項 18】

R^{17} 、 R^{18} 、 R^{19} 、および R^{20} のうちの少なくとも 1 つが、フッ素である、請求項 5 に記載の化合物。

【請求項 19】

R^{17} 、 R^{18} 、 R^{19} 、および R^{20} のうちの少なくとも 1 つが、4 - ジアルキルアミノピリジニウムである、請求項 5 に記載の化合物。

【請求項 20】

R^{17} 、 R^{18} 、 R^{19} 、および R^{20} のうちの少なくとも 1 つが、チオフェニルである、請求項 5 に記載の化合物。

【請求項 21】

R^{17} 、 R^{18} 、 R^{19} 、および R^{20} のうちの少なくとも 1 つが、チオ - 4 - カルボキシフェニルである、請求項 5 に記載の化合物。

【請求項 22】

R^{18} および R^{19} のうちの 1 つがカルボキシルであり、そして他方が水素である、請求項 5 に記載の化合物。

【請求項 23】

R^{18} および R^{19} のうちの 1 つが連結部分であり、そして他方が水素である、請求項 5 に記載の化合物。

【請求項 24】

R^{17} および R^{20} が塩素であり； R^{18} および R^{19} のうちの 1 つが連結部分であり、そして他方が水素であり；そして X がカルボキシルである、請求項 5 に記載の化合物。

【請求項 25】

請求項 5 に記載の化合物であって、以下：

第 1 の架橋基であって、該第 1 の架橋基は、 Z^1 の窒素、 Z^1 に結合する炭素、および R^1 に結合する炭素と一緒にあって、4～7員の第 1 の環構造を形成する、第 1 の架橋基；

必要に応じて、第 2 の架橋基であって、該第 2 の架橋基は、 Z^2 の窒素、 Z^2 に結合する炭素、および R^{11} に結合する炭素と一緒にあって、4～7員の第 2 の環構造を形成する、第 2 の架橋基、を含む、化合物。

【請求項 26】

前記第 1 の環構造および第 2 の環構造の一方または両方が、5員を有する、請求項 25 に記載の化合物。

【請求項 27】

前記 5 員環構造が、1つの gem 置換された炭素を含む、請求項 26 に記載の化合物。

【請求項 28】

前記 gem 置換基が $C_1 \sim C_8$ アルキルである、請求項 27 に記載の化合物。

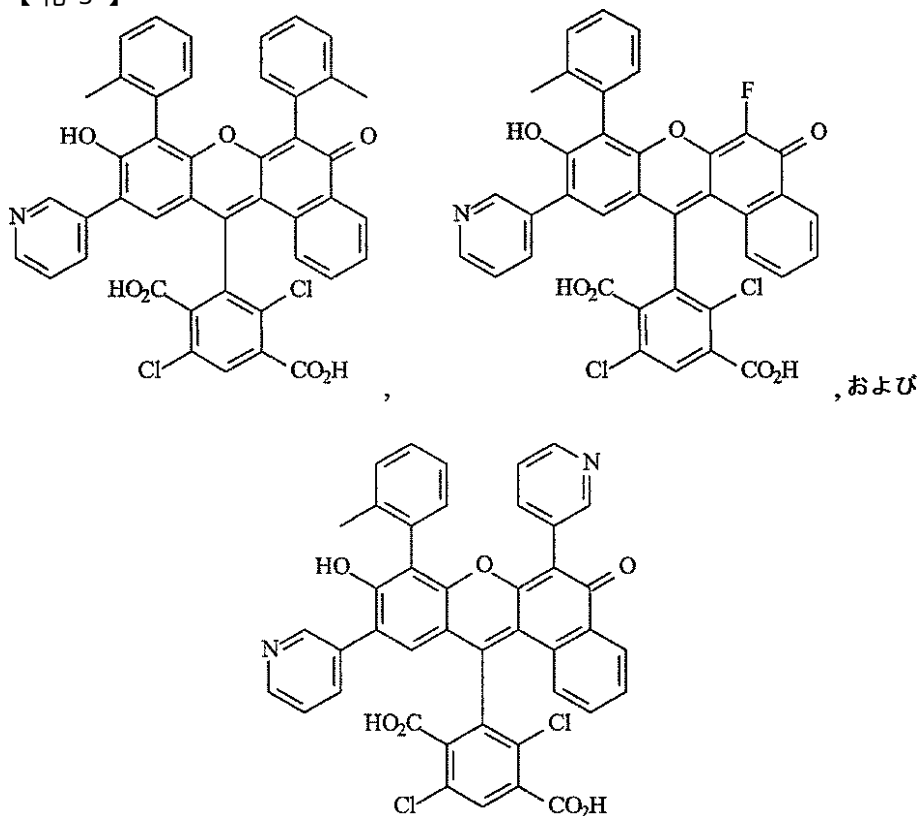
【請求項 29】

前記 5 員環が、連結部分で置換されている、請求項 25 に記載の化合物。

【請求項 30】

以下の構造：

【化 3】



からなる群より選択される、化合物であって、該化合物が、アトロプ異性体的に濃縮されている、化合物。

【請求項 3 1】

エネルギー移動色素であって、以下：

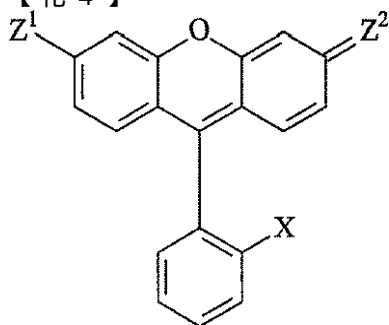
第 1 の波長の光を吸収し得、そして該吸収に応答して励起エネルギーを放出し得る、ドナー色素；

該ドナー色素によって放出された該励起エネルギーを吸収し得、そして応答して第 2 の波長で蛍光を発し得る、アクセプター色素；ならびに

該ドナー色素および該アクセプター色素を連結するための、リンカー、

を含み、ここで、該ドナー色素およびアクセプター色素のうちの少なくとも一方が、以下の構造：

【化 4】



またはそのアリアル置換形態を有する、アトロプ異性体的に濃縮されたキサンテン化合物であり；

ここで、 Z^1 および Z^2 は、O、OH、 NH_2 、 NHR 、または NR_2 であり；X は、カルボキシレートまたはスルホネートである、エネルギー移動色素。

【請求項 3 2】

前記ドナー色素が、アトロプ異性体的に濃縮されたキサンテン化合物であり、そして前記アクセプター色素が、シアニン色素、フタロシアニン色素、スクアレン色素、b o d i p y 色素、ベンゾフェノキサジン色素、フルオレセイン色素、ジベンゾローダミン色素、またはローダミン色素である、請求項 3 1 に記載のエネルギー移動色素。

【請求項 3 3】

前記アクセプター色素が、アトロプ異性体的に濃縮されたキサンテン化合物であり、そして前記ドナー色素が、該キサンテン化合物およびポリヌクレオチドに連結されている、請求項 3 1 に記載のエネルギー移動色素。

【請求項 3 4】

前記ドナー色素が、前記ポリヌクレオチドの 5' 末端に連結されている、請求項 3 3 に記載のエネルギー移動色素。

【請求項 3 5】

前記ドナー色素が、前記ポリヌクレオチドの 3' 末端に連結されている、請求項 3 3 に記載のエネルギー移動色素。

【請求項 3 6】

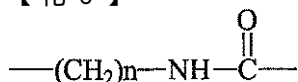
前記ドナー色素が、ポリヌクレオチドの核酸塩基に結合しており、ここで、該核酸塩基がプリンである場合、前記リンカーは、8 位で結合しており、該核酸塩基が 7 - デアザプリンである場合、該リンカーは、7 位または 8 位で結合しており、そして該核酸塩基がピリミジンである場合、該リンカーは、5 位で結合している、請求項 3 3 に記載のエネルギー移動色素。

【請求項 3 7】

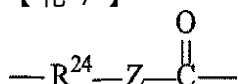
前記リンカーが、以下の構造：

$$\text{---R}^{21}\text{---Z---}\overset{\text{O}}{\overset{\parallel}{\text{C}}}\text{---} \quad \text{または} \quad \text{---R}^{21}\text{---Z---}\overset{\text{O}}{\overset{\parallel}{\text{C}}}\text{---R}^{22}\text{---R}^{23}\text{---}$$

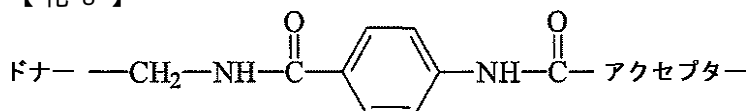
【化 6】



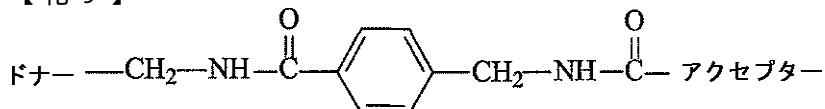
【化 7】



【化 8】

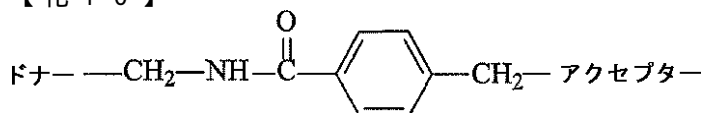


【化 9】



前記リンカーが、以下の構造：

【化 1 0】

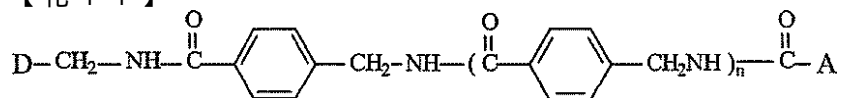


を有する、請求項 3 1 に記載のエネルギー移動色素。

【請求項 4 4】

前記リンカーが、以下の構造：

【化 1 1】

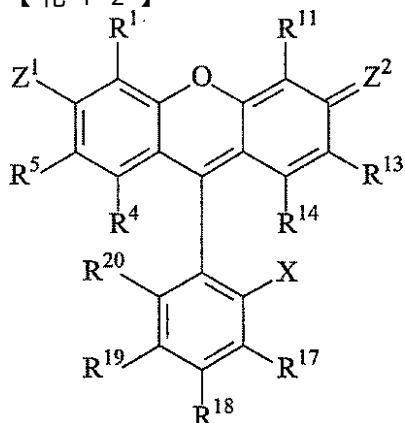


を有し、ここで、D はドナー色素であり、A はアクセプター色素であり、そして n は 1 または 2 である、請求項 3 1 に記載のエネルギー移動色素。

【請求項 4 5】

前記リンカーが、以下の構造：

【化 1 2】



を有する前記 アトロプ異性体的に濃縮されているキサンテン化合物の R¹、R¹¹、R¹⁸ または R¹⁹ において結合している、請求項 3 1 に記載のエネルギー移動色素。

【請求項 4 6】

前記ドナーまたは前記アクセプターに対するリンカーが、R¹ または R¹¹ において結合しており、そしてポリヌクレオチドに対するリンカーが、R¹⁸ または R¹⁹ において結合している、請求項 4 5 に記載のエネルギー移動色素。

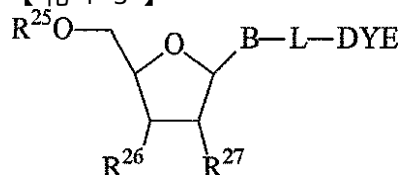
【請求項 4 7】

前記リンカーが、前記実質的に純粋なアトロプ異性体キサンテン化合物の Z¹ 位または Z² 位の 1 つにおいて結合している、請求項 4 5 に記載のエネルギー移動色素。

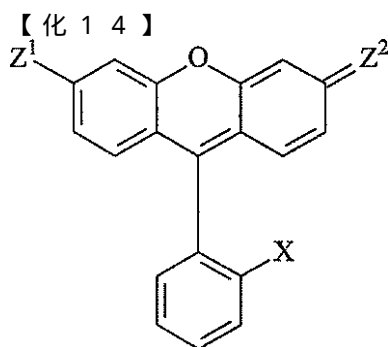
【請求項 4 8】

以下の式：

【化 1 3】



を有する、標識されたヌクレオシドまたはヌクレオチドであって、ここで、DYE が、以下の構造：



を有するキサンテン化合物の、実質的に純粋なアトロプ異性体であり、

Z^1 は、 OH 、 NH_2 、 NHR 、または NR_2 であり、ここで、各 R は、独立して、水素、 $\text{C}_1 \sim \text{C}_{12}$ アルキル、フェニル、ベンジル、アリール、複素環、または連結部分であり；

Z^2 は、 O 、 $^+ \text{NH}_2$ 、 $^+ \text{NHR}$ 、または $^+ \text{NR}_2$ であり、ここで、各 R は、独立して、水素、 $\text{C}_1 \sim \text{C}_{12}$ アルキル、フェニル、ベンジル、アリール、複素環、または連結部分であり；

X は、カルボキシレートまたはスルホネートであり；

DYE は、エネルギー移動色素であって、該エネルギー移動色素は、第 1 の波長において光を吸収し得、そして該吸収に应答して励起エネルギーを放出し得る、ドナー色素；該ドナー色素によって放出された該励起エネルギーを吸収し得、そして該吸収に应答して、第 2 の波長において蛍光を発し得る、アクセプター色素；ならびに該ドナー色素および該アクセプター色素を結合するための、リンカーを含み；ここで、該ドナー色素およびアクセプター色素のうちの少なくとも 1 つが、該キサンテン化合物の実質的に純粋なアトロプ異性体であり；

B は、核酸塩基であり；

L は、リンカーであり；

R^{25} は、 H 、モノホスフェート、ジホスフェート、トリホスフェート、チオホスフェート、またはホスフェートアナログであり；そして

R^{26} および R^{27} は、単独の場合、それぞれ独立して、 H 、 HO 、 F 、またはポリメラーゼにより媒介される標的特異的重合をブロックする他の部分であるか、あるいは一緒になって、 R^{26} および R^{27} は、 $2' - 3' -$ ジデヒドロリボースを形成し；そしてここで、 DYE は、必要に応じて、アリール置換されている、標識されたヌクレオシドまたはヌクレオチド。

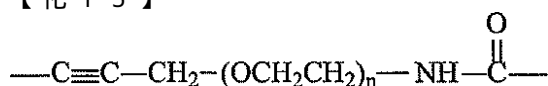
【請求項 49】

B が、ウラシル、チミン、シトシン、アデニン、7 - デアザアデニン、グアニン、および 7 - デアザグアニンからなる群より選択される、請求項 48 に記載の標識されたヌクレオシドまたはヌクレオチド。

【請求項 50】

L が、以下：

【化 15】



であり、ここで、 n は、0、1、または 2 である、請求項 48 に記載の標識されたヌクレオシドまたはヌクレオチド。

【請求項 51】

酵素的に組み込み可能である、請求項 48 に記載の標識されたヌクレオシドまたはヌクレオチド。

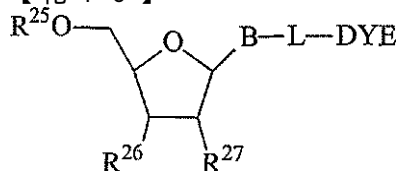
【請求項 52】

ターミネーターである、請求項 48 に記載の標識されたヌクレオシドまたはヌクレオチド。

【請求項 5 3】

以下の構造：

【化 1 6】



を有する、請求項 5 2 に記載の標識されたヌクレオシドまたはヌクレオチドであって、ここで、 R^{26} および R^{27} は、単独の場合、それぞれ独立して、H、F、またはポリメラーゼにより媒介される標的特異的重合をブロックする他の部分であるか、あるいは一緒になって、2' - 3' - ジデヒドロリボースを形成する、標識されたヌクレオシドまたはヌクレオチド。

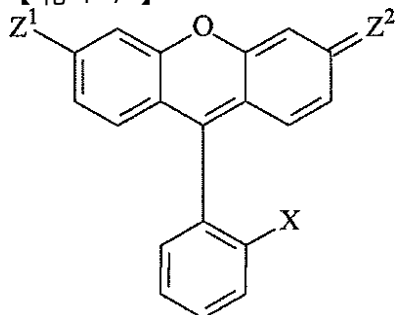
【請求項 5 4】

酵素的に伸長可能である、請求項 4 8 に記載の標識されたヌクレオシドまたはヌクレオチド。

【請求項 5 5】

標識に共有結合したポリヌクレオチドを含む、標識されたポリヌクレオチドであって、ここで、該標識が、以下の構造：

【化 1 7】



を有する、キサンテン化合物の実質的に純粋なアトロプ異性体であり、

Z^1 は、OH、 NH_2 、 NHR 、または NR_2 であり、ここで、各 R は、独立して、水素、 $C_1 \sim C_{12}$ アルキル、フェニル、ベンジル、アリール、複素環、または連結部分であり；

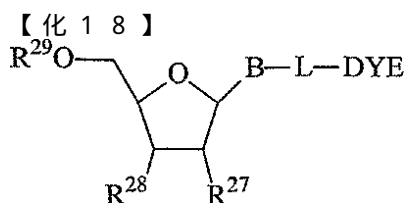
Z^2 は、O、 $+NH_2$ 、 $+NHR$ 、または $+NR_2$ であり、ここで、各 R は、独立して、水素、 $C_1 \sim C_{12}$ アルキル、フェニル、ベンジル、アリール、複素環、または連結部分であり；

X は、カルボキシレートまたはスルホネートであるか；

あるいは、エネルギー移動色素であって、以下：第 1 の波長の光を吸収し得、そして該吸収に応答して励起エネルギーを放出し得る、ドナー色素；該ドナー色素によって放出された該励起エネルギーを吸収し得、そして該吸収に応答して、第 2 の波長の蛍光を発し得る、アクセプター色素；ならびに該ドナー色素および該アクセプター色素を結合するための、リンカーを含み；ここで、該ドナー色素およびアクセプター色素のうちの少なくとも 1 つが、該キサンテン化合物の実質的に純粋なアトロプ異性体であり；そして該キサンテン化合物の実質的に純粋なアトロプ異性体が、必要に応じて、アリール置換されている、標識されたポリヌクレオチド。

【請求項 5 6】

以下の式：



を有する、請求項 55 に記載の標識されたポリヌクレオチドであって、
ここで、DYE は、キサンテン化合物の実質的に純粋なアトロプ異性体またはエネルギー移動色素であり；

B は、核酸塩基であり；

L は、リンカーであり；

R²⁷ は、H、OH、ハロゲン化物、アジド、アミン、アルキルアミン、C₁ ~ C₆ アルキル、アリル、C₁ ~ C₆ アルコキシ、OCH₃、または OCH₂CH=CH₂ であり；
そして

R²⁸ および R²⁹ は、単独の場合、それぞれ独立して、H、ホスフェート、ヌクレオチド間ホスホジエステル、またはヌクレオチド間アナログであり；

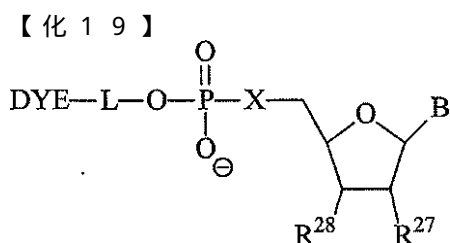
ここで、該ポリヌクレオチドが、2 ~ 100 のヌクレオチドを含む、標識されたポリヌクレオチド。

【請求項 57】

B が、ウラシル、チミン、シトシン、アデニン、7 - デアザアデニン、グアニン、および 7 - デアザグアニンからなる群より選択される、請求項 56 に記載の標識されたポリヌクレオチド。

【請求項 58】

以下の式：



を有する、請求項 55 に記載の標識されたポリヌクレオチドであって、
ここで、DYE は、キサンテン化合物の実質的に純粋なアトロプ異性体またはエネルギー移動色素であり；

B は、核酸塩基であり；

X は、O、NH、または S であり；

L は、リンカーであり；

R²⁷ は、H、OH、ハロゲン化物、アジド、アミン、アルキルアミン、C₁ ~ C₆ アルキル、アリル、C₁ ~ C₆ アルコキシ、OCH₃、または OCH₂CH=CH₂ であり；
そして

R²⁸ は、ヌクレオチド間ホスホジエステル、またはヌクレオチド間アナログであり；

ここで、該ポリヌクレオチドが、2 ~ 100 のヌクレオチドを含む、標識されたポリヌクレオチド。

【請求項 59】

B が、ウラシル、チミン、シトシン、アデニン、7 - デアザアデニン、グアニン、および 7 - デアザグアニンからなる群より選択される、請求項 58 に記載の標識されたポリヌクレオチド。

【請求項 60】

L が、C₁ ~ C₁₂ アルキルジイルである、請求項 58 に記載の標識されたポリヌクレオチド。

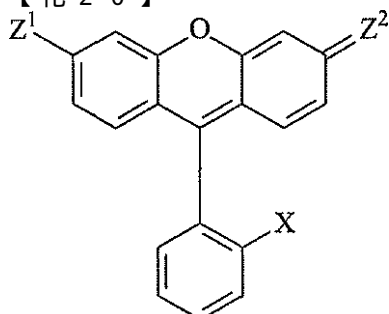
【請求項 6 1】

L が、 $-(CH_2CH_2O)_n-$ を含み、ここで、n は、1 ~ 100 である、請求項 5 8 に記載の標識されたポリヌクレオチド。

【請求項 6 2】

標識に共有結合したポリペプチドを含む、標識されたポリペプチドであって、ここで、該標識が、以下の構造：

【化 2 0】



を有する、キサンテン化合物の実質的に純粋なアトロプ異性体であり、

Z^1 は、OH、 NH_2 、NHR、または NR_2 であり、ここで、各 R は、独立して、水素、 $C_1 \sim C_{12}$ アルキル、フェニル、ベンジル、アリール、複素環、または連結部分であり；

Z^2 は、O、 $+NH_2$ 、 $+NHR$ 、または $+NR_2$ であり、ここで、各 R は、独立して、水素、 $C_1 \sim C_{12}$ アルキル、フェニル、ベンジル、アリール、複素環、または連結部分であり；

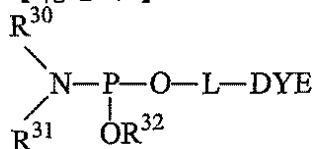
X は、カルボキシレートまたはスルホネートであるか；あるいは

該ポリペプチドは、エネルギー移動色素に共有結合しており、該エネルギー移動色素は、以下：第 1 の波長において光を吸収し得、そして該吸収にตอบสนองして励起エネルギーを放出し得る、ドナー色素；該ドナー色素によって放出された該励起エネルギーを吸収し得、そして該吸収にตอบสนองして、第 2 の波長において蛍光を発し得る、アクセプター色素；ならびに該ドナー色素および該アクセプター色素を連結するための、リンカーを含み；ここで、該ドナー色素およびアクセプター色素のうちの少なくとも 1 つが、該キサンテン化合物の実質的に純粋なアトロプ異性体であり；そして該キサンテン化合物の実質的に純粋なアトロプ異性体が、必要に応じて、アリール置換されている、標識されたポリペプチド。

【請求項 6 3】

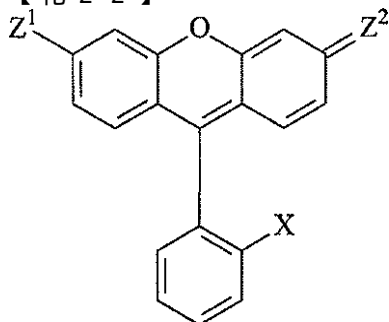
以下の式：

【化 2 1】



を有する、ホスホロアミダイト化合物であって、ここで、DYE は、以下の構造：

【化 2 2】



を有するキサンテン化合物の実質的に純粋なアトロプ異性体であり、

Z^1 は、 OH 、 NH_2 、 NHR 、または NR_2 であり、ここで、各 R は、独立して、水素、 $C_1 \sim C_{12}$ アルキル、フェニル、ベンジル、アリール、複素環、または連結部分であり；

Z^2 は、 O 、 $^+NH_2$ 、 ^+NHR 、または $^+NR_2$ であり、ここで、各 R は、独立して、水素、 $C_1 \sim C_{12}$ アルキル、フェニル、ベンジル、アリール、複素環、または連結部分であり；

X は、カルボキシレートまたはスルホネートであるか；あるいは

DYE は、第 1 の波長において光を吸収し得、そして該吸収に応答して励起エネルギーを放出し得る、ドナー色素；該ドナー色素によって放出された該励起エネルギーを吸収し得、そして該吸収に応答して、第 2 の波長において蛍光を発し得る、アクセプター色素；ならびに該ドナー色素および該アクセプター色素を連結するための、リンカーを含み；ここで、該ドナー色素およびアクセプター色素のうちの少なくとも 1 つが、該キサンテン化合物の実質的に純粋なアトロプ異性体であり；そしてここで、 DYE は、必要に応じて、アリール置換されており；

L は、リンカーであり；

R^{30} および R^{31} は、別々に、 $C_1 \sim C_{12}$ アルキル、 $C_1 \sim C_{12}$ シクロアルキル、およびアリールからなる群より選択されるか、または R^{30} および R^{31} は、窒素原子と一緒にあって、飽和窒素複素環を形成し；そして

R^{32} は、亜リン酸エステル保護基である、

ホスホロアミダイト化合物。

【請求項 64】

R^{32} が、メチル、2 - シアノエチル、および 2 - (4 - ニトロフェニル) エチルからなる群より選択される、請求項 63 に記載のホスホロアミダイト化合物。

【請求項 65】

R^{30} および R^{31} が、それぞれイソプロピルである、請求項 63 に記載のホスホロアミダイト化合物。

【請求項 66】

R^{30} および R^{31} が、一緒にあってモルホリノである、請求項 63 に記載のホスホロアミダイト化合物。

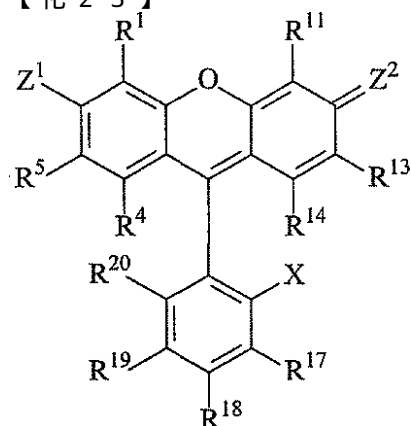
【請求項 67】

L が $C_1 \sim C_{12}$ アルキルジールである、請求項 63 に記載のホスホロアミダイト化合物。

【請求項 68】

L が、以下の構造：

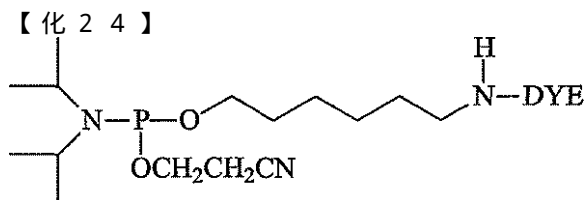
【化 23】



を有する DYE の R^{18} または R^{19} に結合している、請求項 63 に記載のホスホロアミダイト化合物。

【請求項 69】

以下の構造：

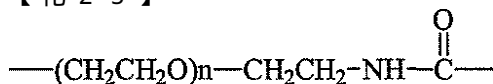


を有する、請求項 6 8 に記載のホスホロアミダイト化合物。

【請求項 7 0】

L が、以下：

【化 2 5】



であり、そして n が、1 ~ 10 の範囲である、請求項 6 3 に記載のホスホロアミダイト化合物。

【請求項 7 1】

標識された基質を形成する方法であって、ポリヌクレオチド、ヌクレオチド、ヌクレオシド、ポリペプチド、炭水化物、リガンド、エナンチオマー的に実質的に純粋な化合物、粒子、および表面からなる群より選択される基質を、請求項 5 に記載の化合物の連結部分、または請求項 3 1 に記載のエネルギー移動色素と反応させ、これによって、標識された基質が形成する工程を包含する、方法。

【請求項 7 2】

前記連結部分が N - ヒドロキシスクシンイミドである、請求項 7 1 に記載の方法。

【請求項 7 3】

前記連結部分がホスホロアミダイトである、請求項 7 1 に記載の方法。

【請求項 7 4】

前記基質がエナンチオマー的に実質的に純粋である、請求項 7 1 に記載の方法。

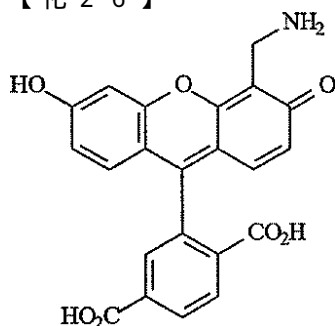
【請求項 7 5】

前記エナンチオマー的に実質的に純粋な化合物が、(+)メンチルクロロホルメートまたは(-)メンチルクロロホルメートである、請求項 7 1 に記載の方法。

【請求項 7 6】

前記標識された基質が、以下の構造：

【化 2 6】



を有する、C - 11 アミノメチル，C - 19 カルボキシルフルオレセインを含む、請求項 7 1 に記載の方法。

【請求項 7 7】

前記粒子が、ナノ粒子、微小球、ビーズ、またリポソームである、請求項 7 1 に記載の方法。

【請求項 7 8】

前記表面がガラスである、請求項 7 1 に記載の方法。

【請求項 7 9】

標識されたポリヌクレオチドを合成する方法であって、請求項 63 に記載のホスホロアミダイト化合物を、ポリヌクレオチドにカップリングさせ、これによって、標識されたポリヌクレオチドが形成される工程を包含し、ここで、該ポリヌクレオチドが、固体支持体に結合されている、方法。

【請求項 80】

C - 11 アミノメチル，C - 19 カルボキシルフルオレセイン化合物のアトロプ異性体を分離する方法であって、以下の工程：

(a) C - 11 アミノメチル，C - 19 カルボキシルフルオレセインを、活性エステルまたはカルボン酸の実質的に純粋なエナンチオマーと反応させて、ジアステレオマーカルバメートを形成する工程；

(b) 該ジアステレオマーカルバメートを分離する工程；および

(c) 該分離されたジアステレオマーを、水性の酸で加水分解する工程、を包含する、方法。

【請求項 81】

前記活性エステルが、メンチルクロロホルメートである、請求項 80 に記載の方法。

【請求項 82】

前記ジアステレオマーカルバメートが、逆相 HPLC によって分離される、請求項 80 に記載の方法。

【請求項 83】

標識された基質の混合物を分離する方法であって、ここで該標識された基質が、請求項 1 に記載の化合物、または請求項 31 に記載のエネルギー移動色素からなり、該方法は、以下の工程：

(a) 電気泳動によって、標識された基質の混合物を分離する工程；および

(b) 蛍光検出によって、該標識された基質を検出する工程、を包含する、方法。

【請求項 84】

前記標識された基質が、標識されたポリヌクレオチドである、請求項 83 に記載の方法。

【請求項 85】

標識された基質の混合物を分離する方法であって、ここで、該標識された基質が、請求項 1 に記載の化合物または請求項 31 に記載のエネルギー移動色素からなり、該方法は、以下の工程：

(a) クロマトグラフィーによって、標識された基質の混合物を分離する工程；および

(b) 蛍光検出によって、該標識された基質を検出する工程、を包含する、方法。

【請求項 86】

標識されたプライマー伸長産物を生成する方法であって、プライマー - 標的ハイブリッドを、酵素的に組み込み可能なヌクレオチドで伸長させ、これによって、該プライマーが伸張する工程を包含し、ここで、該プライマーまたは該ヌクレオチドが、請求項 1 に記載の化合物、または請求項 31 に記載のエネルギー移動化合物で標識されている、方法。

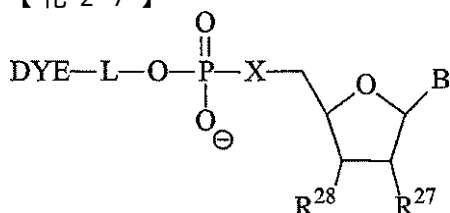
【請求項 87】

前記ヌクレオチドが、酵素的に伸長可能である、請求項 86 に記載の方法。

【請求項 88】

前記プライマーが、以下の式：

【化 27】



を含む標識されたポリヌクレオチドであり、ここで、

D Y E は、キサンテン化合物の実質的に純粋なアトロプ異性体またはエネルギー移動色素であり；

B は、核酸塩基であり；

X は、O、NH、またはSであり；

L は、リンカーであり；

R^{2-7} は、H、OH、ハロゲン化物、アジド、アミン、アルキルアミン、 $C_1 \sim C_6$ アルキル、アリル、 $C_1 \sim C_6$ アルコキシ、 OCH_3 、または $OCH_2CH=CH_2$ であり；そして

R^{2-8} は、ヌクレオチド間ホスホジエステルまたはヌクレオチド間アナログであり；

ここで、該ポリヌクレオチドは、2 ~ 100 のヌクレオチドを含む、請求項 86 に記載の方法。

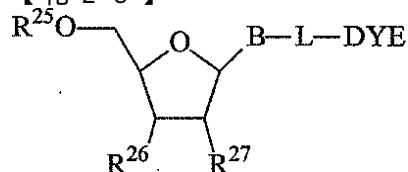
【請求項 89】

B が、ウラシル、チミン、シトシン、アデニン、7 - デアザアデニン、グアニン、および 7 - デアザグアニンからなる群より選択される、請求項 88 に記載の方法。

【請求項 90】

前記酵素的に組み込み可能なヌクレオチドが、以下の式：

【化 28】



を有する標識されたヌクレオシドまたはヌクレオチドであり、ここで、

D Y E は、キサンテン化合物の実質的に純粋なアトロプ異性体またはエネルギー移動色素であり；

B は、核酸塩基であり；

L は、リンカーであり；

R^{2-5} は、H、モノホスフェート、ジホスフェート、トリホスフェート、チオホスフェート、またはホスフェートアナログであり；そして

R^{2-6} および R^{2-7} は、単独の場合、それぞれ独立して、H、HO、および F である、請求項 86 に記載の方法。

【請求項 91】

ターミネーターヌクレオチドをさらに含む、請求項 86 に記載の方法。

【請求項 92】

R^{2-6} および R^{2-7} は、単独の場合、それぞれ独立して、H、F、ポリメラーゼにより媒介される標的特異的プライマー伸長をブロックする部分であるか、あるいは一緒になって、2' - 3' - ジデヒドロリボースを形成する、請求項 90 に記載の方法。

【請求項 93】

ポリヌクレオチド配列決定の方法であって、以下の工程：

第 1、第 2、第 3、および第 4 のクラスのポリヌクレオチドの混合物を形成する工程であって、その結果：

該第 1 のクラスの各ポリヌクレオチドが、3' - 末端ジデオキシアデノシンを含み、そして第 1 の色素で標識されており；

該第 2 のクラスの各ポリヌクレオチドが、3' - 末端ジデオキシシチジンを含み、そして第 2 の色素で標識されており；

該第 3 のクラスの各ポリヌクレオチドが、3' - 末端ジデオキシグアニンを含み、そして第 3 の色素で標識されており；そして

該第 4 のクラスの各ポリヌクレオチドが、3' - 末端ジデオキシチミジンを含み、そして第 4 の色素で標識されており；

ここで、該第 1、第 2、第 3、または第 4 の色素のうちの 1 つが、請求項 1 に記載の化合物、または請求項 3 1 に記載のエネルギー移動色素であり、そして他の色素が、互いから分光学的に分解可能である、工程；ならびに
該ポリヌクレオチドを、大きさに基づいて分離する工程、
を包含する、方法。

【請求項 9 4】

蛍光検出によって、前記分離されたポリヌクレオチドを検出する工程をさらに包含する、請求項 9 3 に記載の方法。

【請求項 9 5】

前記色素の蛍光スペクトルによって、前記ポリヌクレオチドの 3' - 末端ヌクレオチドを同定する工程をさらに包含する、請求項 9 3 に記載の方法。

【請求項 9 6】

オリゴヌクレオチドの連結の方法であって、2 つのプローブを標的配列にアニーリングする工程、および一方のプローブの 5' 末端と他方のプローブの 3' 末端との間にホスホジエステル結合を形成する工程を包含し；

ここで、一方または両方のプローブが、請求項 1 に記載の化合物または請求項 3 1 に記載のエネルギー移動色素で標識されている、方法。

【請求項 9 7】

フラグメント分析の方法であって、大きさに依存する分離プロセスによって、標識されたポリヌクレオチドフラグメントを分離する工程、および該分離プロセスに引き続いて、該分離された標識されたポリヌクレオチドフラグメントを検出する工程を包含し；

ここで、該フラグメントが、請求項 1 に記載の化合物または請求項 3 1 に記載のエネルギー移動色素で標識されている、方法。

【請求項 9 8】

前記フラグメントが、移動度改変標識で標識されている、請求項 9 7 に記載の方法。

【請求項 9 9】

前記フラグメントが、連結によって形成されている、請求項 9 7 に記載の方法。

【請求項 1 0 0】

前記大きさに依存する分離プロセスが、電気泳動であり、そして前記標識されたポリヌクレオチドフラグメントが、蛍光によって検出される、請求項 9 7 に記載の方法。

【請求項 1 0 1】

増幅の方法であって、2 つ以上のプライマーを標的ポリヌクレオチドにアニーリングする工程、ならびにポリメラーゼおよび酵素的に伸長可能なヌクレオチドの混合物によって、該プライマーを伸張させる工程を包含し；

ここで、該プライマーのうちの少なくとも 1 つが、請求項 5 5 に記載の標識されたポリヌクレオチドで標識されている、方法。

【請求項 1 0 2】

増幅の方法であって、2 つ以上のプライマーを標的ポリヌクレオチドにアニーリングする工程、ならびにポリメラーゼおよび酵素的に伸長可能なヌクレオチドの混合物によって、該プライマーを伸張させる工程を包含し；

ここで、該ヌクレオチドのうちの少なくとも 1 つが、請求項 4 8 に記載の標識されたヌクレオチドである、方法。

【請求項 1 0 3】

増幅の方法であって、2 つ以上のプライマーおよび蛍光色素 - 消光剤プローブを、標的核酸にアニーリングする工程、ならびにポリメラーゼおよび酵素的に伸長可能なヌクレオチドの混合物によって、該プライマーを伸張させる工程を包含し；

ここで、該プローブが、請求項 5 5 に記載の標識されたポリヌクレオチドである、方法。

【請求項 1 0 4】

ポリヌクレオチドを標識するためのキットであって、請求項 6 に記載の連結部分およびポリヌクレオチドを含む化合物を備える、キット。

【請求項 105】

ポリヌクレオチドを標識するためのキットであって、請求項 31 に記載のエネルギー移動色素およびポリヌクレオチドを備える、キット。

【請求項 106】

ポリヌクレオチドを標識するためのキットであって、請求項 63 に記載のホスホロアミダイト化合物およびポリヌクレオチドを備える、キット。

【請求項 107】

標識されたプライマー伸長産物を生成するためのキットであって、1つ以上の酵素的に組み込み可能なヌクレオチドおよびプライマーを備え、ここで、該プライマーが、請求項 55 に記載の標識されたポリヌクレオチドである、キット。

【請求項 108】

標識されたプライマー伸長産物を生成するためのキットであって、1つ以上の酵素的に組み込み可能なヌクレオチドおよびプライマーを備え、ここで、少なくとも1つのヌクレオチドが、請求項 48 に記載の標識されたヌクレオチドである、キット。

【請求項 109】

前記標識されたヌクレオチドがターミネーターである、請求項 108 に記載のキット。

【請求項 110】

4つの異なるターミネーターを備える、請求項 109 に記載のキットであって、1つは、標的 A において終結するターミネーターであり、1つは、標的 G において終結するターミネーターであり、1つは、標的 C において終結するターミネーターであり、1つは、標的 T または U において終結するターミネーターである、キット。