

【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 0 7 D 311/82

C 0 7 D 405/12

C 0 7 K 14/00

C 1 2 N 15/09

C 1 2 Q 1/68

// C 0 7 M 7:00

【F I】

C 0 7 D 311/82

C 0 7 D 405/12

C 0 7 K 14/00

C 1 2 Q 1/68 A

C 1 2 Q 1/68 Z

C 1 2 N 15/00 A

C 0 7 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

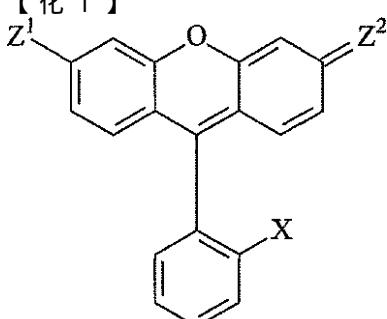
【補正の内容】

【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、

Z¹は、OH、NH₂、NHR、またはNR₂であり、ここで、各Rは、独立して、水素、C₁～C₁₂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；

Z²は、O、⁺NH₂、⁺NHR、または⁺NR₂であり、ここで、各Rは、独立して、水素、C₁～C₁₂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、アトロブ異性体的に濃縮されている、化合物。

【請求項 2】

Z¹ が OH であり、Z² 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】

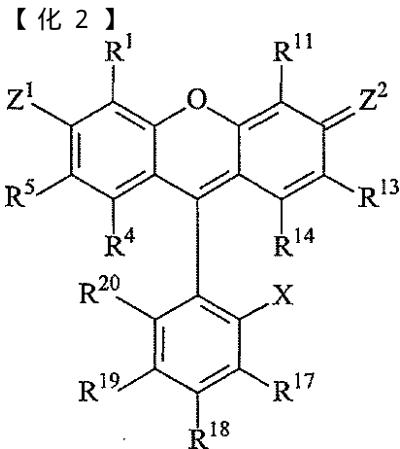
Z¹ が NR₂ であり、Z² が ⁺ NR₂ であり、そして X がカルボキシレートである、請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 4】

前記化合物が実質的に純粹なアトロブ異性体である、請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 5】

以下の構造：



を有する、請求項 1 に記載の化合物であって、

ここで、R¹、R⁴、R⁵、R¹¹、R¹³、R¹⁴、R¹⁷、R¹⁸、R¹⁹、R²⁰、Z¹、またはZ² 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 - ヒドロキシスル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】

R¹ および R¹¹ 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 R¹、R⁴、R⁵、R¹¹、R¹³、R¹⁴、R¹⁷、R¹⁸、R¹⁹、および R²⁰ 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、C₁ ~ C₈ 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 (-CH₂NH₂)、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 (-CH₂OH)、メトキシ (-OCH₃)、ヒドロキシアルキル (-ROH)、チオメチル (-CH₂SH)、チオアルキル (-RS)、アルキルスルホン (-SO₂R)、アリールチオ (-SAr)、アリールスルホン (-SO₂Ar)、スルホンアミド (-SO₂NR₂)、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 (-NH₂)、アンモニウム (-NH₃⁺)、アミド (-CONR₂)、ニトリル (-CN)、C₁ ~ C₈ 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^{1-3} および R^{1-4} 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^{1-1} 、 R^{1-3} 、および R^{1-4} 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^{1-1} 、 R^{1-3} 、および R^{1-4} 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^{1-1} 、 R^{1-3} 、および R^{1-4} 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^{1-1} 、 R^{1-3} 、および R^{1-4} 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^{1-1} 、 R^{1-3} 、および R^{1-4} 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^{1-1} 、 R^{1-3} 、および R^{1-4} 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^{1-1} 、 R^{1-3} 、および R^{1-4} 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^{1-1} 、 R^{1-3} 、および R^{1-4} 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^{1-7} 、 R^{1-8} 、 R^{1-9} 、および R^{2-0} 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^{1-7} 、 R^{1-8} 、 R^{1-9} 、および R^{2-0} 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^{1-7} 、 R^{1-8} 、 R^{1-9} 、および R^{2-0} 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^{1-7} 、 R^{1-8} 、 R^{1-9} 、および R^{2-0} 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^{1-7} 、 R^{1-8} 、 R^{1-9} 、および R^{2-0} 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】

R¹⁻⁸ および R¹⁻⁹ 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 2 3】

R^{1-8} および R^{1-9} 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 2 4】

R^{1-7} および R^{2-0} が塩素であり； R^{1-8} および R^{1-9} 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の架橋基であつて、該第1の架橋基は、Z¹の窒素、Z¹に結合する炭素、およびR¹に結合する炭素と一緒にになって、4～7員の第1の環構造を形成する、第1の架橋基；ならびに

必要に応じて、第2の架橋基であって、該第2の架橋基は、Z²の窒素、Z²に結合する炭素、およびR¹⁻¹に結合する炭素と一緒にになって、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】

【請求項 2-5】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2-5に記載の化合物。

【請求項 27】

前記 5 品目環構造が、1 つの *gem*-置換された炭素を含む、請求項 2-6 に記載の化合物。

【 請求項 28 】

前記の e.m. 値換算が $C_1 \sim C_2$ アルキルである。請求項 27 に記載の化合物

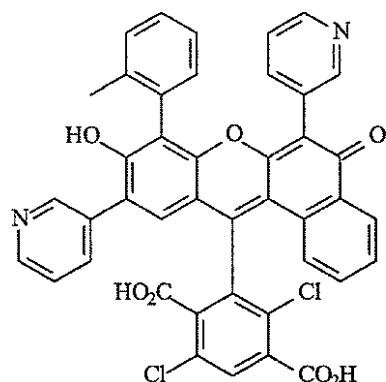
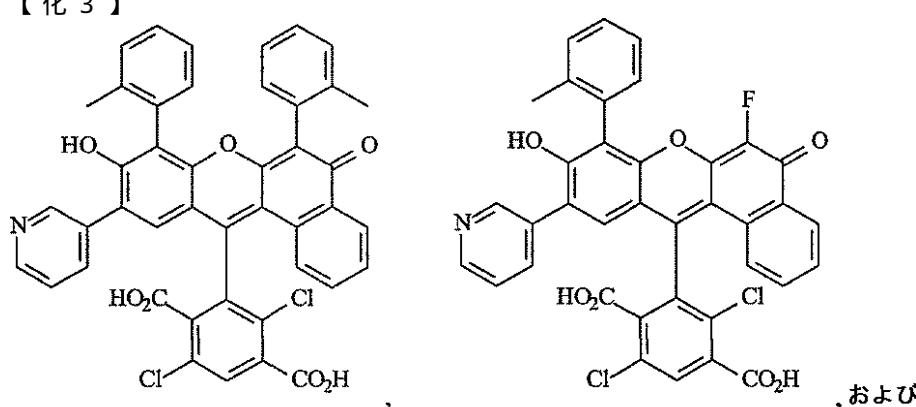
前記

前記請求項が、連結部分で置換されている。請求項3-5に記載の化合物

前記 5 貢壞方、 【請求項 20】

【請求項 30】

以下の構造化リスト



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

【請求項 3 1】

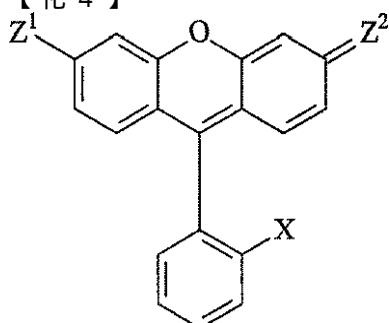
エネルギー移動色素であって、以下：

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】



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

ここで、Z¹ および Z² は、O、OH、NH₂、NHR、またはNR₂ 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、アトロブ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、アトロブ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。

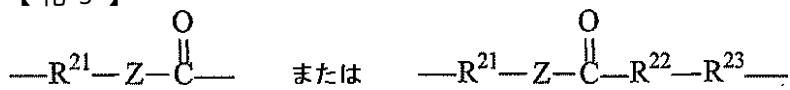
【請求項 3 6】

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：

【化5】



を有し、ここで、

Zは、N H、SおよびOからなる群より選択され；

R²¹は、前記ドナー色素に結合したC₁～C₁₂アルキルであり；

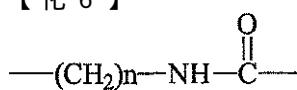
R²²は、C₁～C₁₂アルキルジイル、少なくとも1つの不飽和結合を有する5員環または6員環、およびカルボニル炭素に結合した縮合環構造からなる群より選択される置換基であり；

R²³は、該リンカーを前記アクセプター色素に結合させる、官能基を含む、請求項31に記載のエネルギー移動色素。

【請求項38】

前記リンカーが、以下の構造：

【化6】

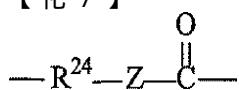


を有し、そしてnが2～10の範囲である、請求項37に記載の化合物。

【請求項39】

R²³が、以下の構造：

【化7】



を有し、ここで、R²⁴は、C₁～C₁₂アルキルである、請求項37に記載のエネルギー移動色素。

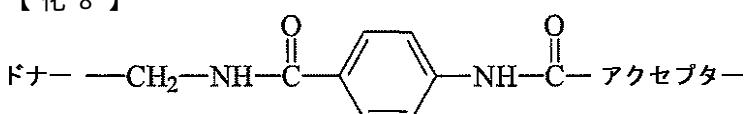
【請求項40】

R²²が、シクロヘキセン、シクロヘキサン、シクロヘキサジエン、シクロヘキサジエン、フラン、チオフラン、ピロール、イソピロール、イソアゾール、ピラゾール、イソイミダゾール、ピラン、ピロン、ベンゼン、ピリジン、ピリダジン、ピリミジン、ピラジン、オキサジン、インデン、ベンゾフラン、チオナフテン、インドールおよびナフタレンからなる群より選択される、5員環または6員環である、請求項37に記載のエネルギー移動色素。

【請求項41】

前記リンカーが、以下の構造：

【化8】

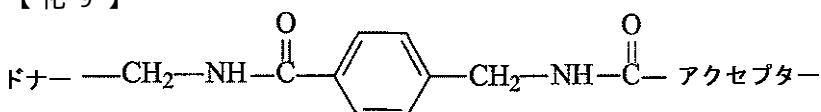


を有する、請求項31に記載のエネルギー移動色素。

【請求項42】

前記リンカーが、以下の構造：

【化9】

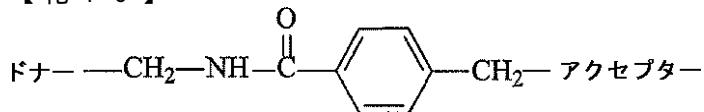


を有する、請求項31に記載のエネルギー移動色素。

【請求項43】

前記リンカーが、以下の構造：

【化10】

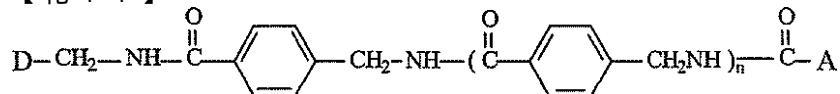


を有する、請求項31に記載のエネルギー移動色素。

【請求項44】

前記リンカーが、以下の構造：

【化11】

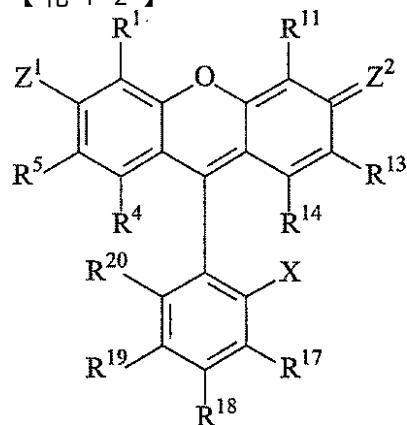


を有し、ここで、Dはドナー色素であり、Aはアクセプター色素であり、そしてnは1または2である、請求項31に記載のエネルギー移動色素。

【請求項45】

前記リンカーが、以下の構造：

【化12】



を有する前記アトロブ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31に記載のエネルギー移動色素。

【請求項46】

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45に記載のエネルギー移動色素。

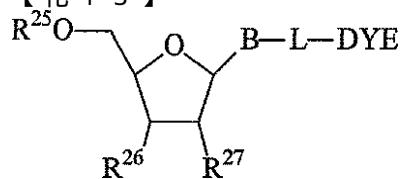
【請求項47】

前記リンカーが、前記実質的に純粋なアトロブ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45に記載のエネルギー移動色素。

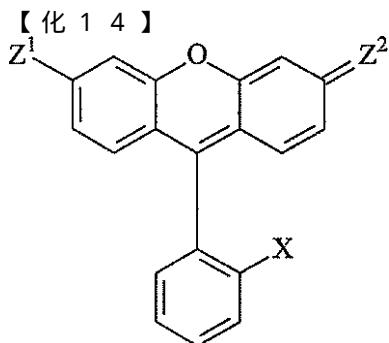
【請求項48】

以下の式：

【化13】



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、実質的に純粹なアトロブ異性体であり、

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 ～ 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 ～ 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粹なアトロブ異性体であり；

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。

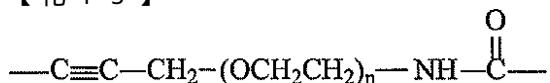
【請求項49】

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-デアザグアノシ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。

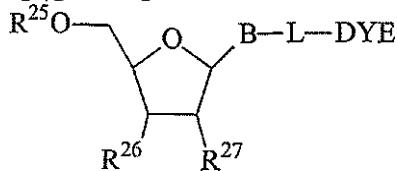
【請求項52】

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、R²₆ および R²₇ 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ロックする他の部分であるか、あるいは一緒にになって、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。

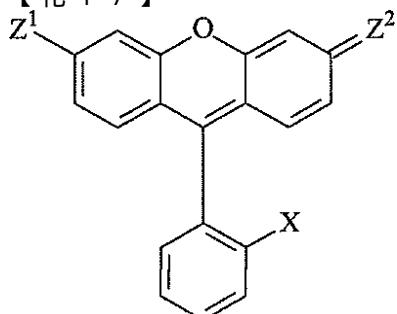
【請求項 5 4】

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粹なアトロブ異性体であり、

Z¹ は、O H、N H₂、N H R、またはN R₂ であり、ここで、各 R は、独立して、水素、C₁ ~ C₁₂ 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；

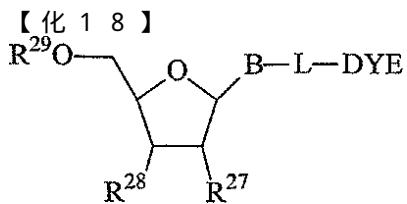
Z² は、O、⁺ N H₂、⁺ N H R、または⁺ N R₂ であり、ここで、各 R は、独立して、水素、C₁ ~ C₁₂ アルキル、フェニル、ベンジル、アリール、複素環、または連結部分であり；

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粹なアトロブ異性体であり；そして該キサンテン化合物の実質的に純粹なアトロブ異性体が、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ブ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。

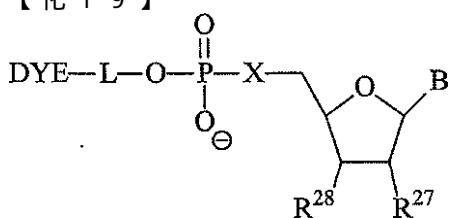
【請求項57】

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-デアザグアノシ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：

【化19】



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ブ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-デアザグアノシ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。

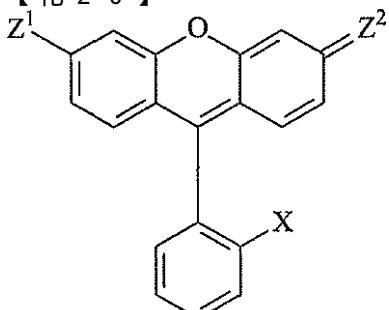
【請求項 6 1】

L が、 - (C H ₂ C H ₂ O) _n - を含み、ここで、n は、1 ~ 1 0 0 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粹なアトロブ異性体であり、

Z ¹ は、O H、N H ₂、N H R、またはN R ₂ であり、ここで、各 R は、独立して、水素、C ₁ ~ 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、⁺ N H ₂、⁺ N H R、または⁺ N R ₂ であり、ここで、各 R は、独立して、水素、C ₁ ~ 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

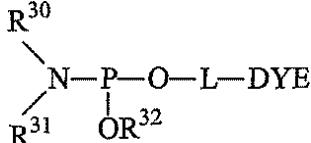
該ポリペプチドは、エネルギー移動色素に共有結合しており、該エネルギー移動色素は、以下：第1の波長において光を吸収し得、そして該吸収に応答して励起エネルギーを放出し得る、ドナー色素；該ドナー色素によって放出された該励起エネルギーを吸収し得、そして該吸収に応答して、第2の波長において蛍光を発し得る、アクセプター色素；ならびに該ドナー色素および該アクセプター色素を連結するための、リンカーを含み；ここで、該ドナー色素およびアクセプター色素のうちの少なくとも1つが、該キサンテン化合物の実質的に純粹なアトロブ異性体であり；そして該キサンテン化合物の実質的に純粹なアトロブ異性体が、必要に応じて、アリール置換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

標識されたポリペプチド。

【請求項 6 3】

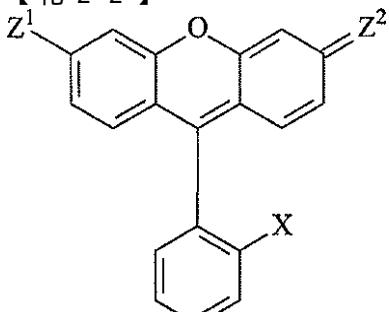
以下の式：

【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ブ異性体であり、
 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 ～ 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 ～ 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ブ異性体であり；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 ～ C_{12} アルキル、 C_1 ～ 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、窒素原子と一緒にになって、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 6 4】

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 6 5】

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 6 6】

R^{30} および R^{31} が、一緒ににな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。

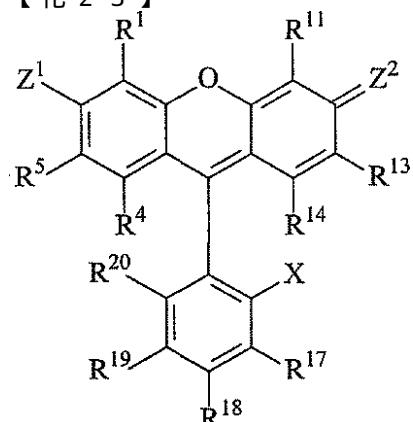
【請求項 6 7】

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

【請求項 6 8】

L が、以下の構造：

【化23】

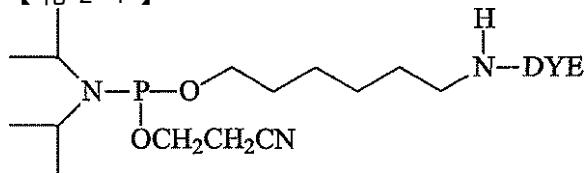


を有するDYE の R^{18} または R^{19} に結合している、請求項63に記載のホスホロアミダイト化合物。

【請求項 6 9】

以下の構造：

【化24】

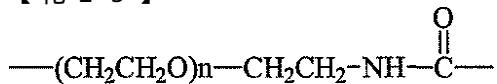


を有する、請求項68に記載のホスホロアミダイト化合物。

【請求項70】

Lが、以下：

【化25】



であり、そしてnが、1～10の範囲である、請求項63に記載のホスホロアミダイト化合物。

【請求項71】

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31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72】

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71に記載の方法。

【請求項73】

前記連結部分がホスホロアミダイトである、請求項71に記載の方法。

【請求項74】

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71に記載の方法。

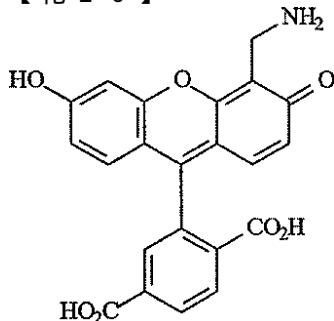
【請求項75】

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ムートまたは(-)メンチルクロロホルムートである、請求項71に記載の方法。

【請求項76】

前記標識された基質が、以下の構造：

【化26】



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71に記載の方法。

【請求項77】

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71に記載の方法。

【請求項78】

前記表面がガラスである、請求項71に記載の方法。

【請求項79】

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 6 3 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 8 0】

C - 1 1 アミノメチル、C - 1 9 カルボキシルフルオレセイン化合物のアトロブ異性体を分離する方法であって、以下の工程：

(a) C - 1 1 アミノメチル、C - 1 9 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 8 1】

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 8 0 に記載の方法。

【請求項 8 2】

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 8 0 に記載の方法。

【請求項 8 3】

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 3 1 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 8 4】

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 8 3 に記載の方法。

【請求項 8 5】

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 3 1 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 8 6】

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 3 1 に記載のエネルギー移動化合物で標識されている、方法。

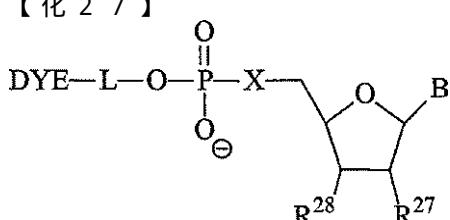
【請求項 8 7】

前記ヌクレオチドが、酵素的に伸長可能である、請求項 8 6 に記載の方法。

【請求項 8 8】

前記プライマーが、以下の式：

【化 2 7】



を含む標識されたポリヌクレオチドであり、ここで、

DYEは、キサンテン化合物の実質的に純粹なアトロブ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。

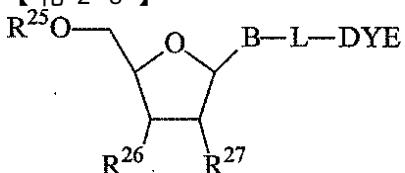
【請求項89】

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-デアザグアノシ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、

DYEは、キサンテン化合物の実質的に純粹なアトロブ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；

R²⁵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

R²⁶およびR²⁷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】

R²⁶およびR²⁷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、あるいは一緒にあって、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ノシンを含み、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】

增幅の方法であって、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】

增幅の方法であって、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】

增幅の方法であって、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。