

【公報種別】特許法第17条の2の規定による補正の掲載

【部門区分】第1部門第1区分

【発行日】平成18年8月17日(2006.8.17)

【公表番号】特表2002-520008(P2002-520008A)

【公表日】平成14年7月9日(2002.7.9)

【出願番号】特願2000-559128(P2000-559128)

【国際特許分類】

C 12 N	15/09	(2006.01)
C 12 Q	1/68	(2006.01)
G 06 F	17/30	(2006.01)

【F I】

C 12 N	15/00	A
C 12 Q	1/68	A
G 06 F	17/30	1 7 0 F

【手続補正書】

【提出日】平成18年6月16日(2006.6.16)

【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】 加水分解によってペプチド核酸を形成することができる、活性化され、保護された環状ピペラジノン中間体であって、前記ピペラジノン中間体が、前記環状ピペラジノン環内の一方の窒素に共有結合されたヌクレオチド塩基によって活性化され、前記環内のもう一方の窒素に共有結合された第一の保護基によって保護されることを特徴とする活性化され保護された環状ピペラジノン中間体。

【請求項2】 前記ヌクレオチド塩基が、(a)従来型ヌクレオチド塩基、すなわちミン、シトシン、グアニンおよびアデニン、並びに、(b)4個の天然ヌクレオチド塩基のいずれかと結合できる汎用塩基よりなる群から選択され、前記ヌクレオチド塩基は、前記ピペラジノンの1個の窒素とアミド結合を形成するアセチル残基によって前記ピペラジノンに結合されることを特徴とする請求項1に記載の中間体。

【請求項3】 長さが少なくとも6塩基の全ての天然ヌクレオチド配列と適合し、且つ、ハイブリッド形成するペプチド核酸ライプラリーであって、そのような長さの天然ヌクレオチド化学種の総数よりも少なくとも4分の1少ない総数のオリゴマーを含み、ライプラリー内の各オリゴマーが、オリゴマーの配列内の内部に配置された少なくとも1個の汎用ヌクレオチド塩基を含有することを特徴とするペプチド核酸ライプラリー。

【請求項4】 少なくとも約256個のオリゴマーを含む請求項3に記載のライプラリーであって、ライプラリー内の各オリゴマー化学種が少なくとも4個の従来型ヌクレオチド塩基および少なくとも4個の汎用ヌクレオチド塩基を有し、このオリゴマーは、8、9、10、11または12塩基の所望の長さを有するあらゆる天然ヌクレオチド配列と適合し、且つ、ハイブリッド形成し、前記ライプラリーが、そのような所望の長さの天然ヌクレオチド化学種の総数よりも少なくとも16分の1少ない総数のオリゴマーを含み、ライプラリー内の各オリゴマーが、前記オリゴマーの前記配列内の内部に配置された少なくとも2個の汎用ヌクレオチド塩基を含有することを特徴とするライプラリー。

【請求項5】 前記の少なくとも8個の従来型および汎用塩基が、オリゴマー配列中に交互に位置し、汎用塩基が、イノシン、ニトロピロールおよび5-ニトロインドールからなる群から選択されることを特徴とする請求項4に記載のライプラリー。

【請求項 6】 少なくとも長さが 4 個の核塩基のペプチド核酸（PNA）のライブラリーを調製するための方法であって、その方法が、

- a) 樹脂に結合された PNA 二量体のライブラリーを提供するステップと、
- b) 樹脂に結合されていない PNA 二量体であって、このような二量体の各化学種中の 1 個の塩基が、別の塩基へのカップリングのために活性化されているものを提供するステップと、
- c) 活性化された PNA 二量体を樹脂に結合された二量体へカップリングさせ、長さが少なくとも 4 個の核塩基のライブラリーを形成するステップとを含むことを特徴とする方法。

【請求項 7】 請求項 6 に記載の方法であって、樹脂に結合されたペプチド核酸（PNA）二量体のライブラリーを提供するステップが、

- a) エチレンジアミンの溶液を準備し、プロモ酢酸、プロモメチルアセテートまたはプロモアセチルプロミドの溶液をエチレンジアミンの溶液へ加え、前記溶液を加熱して図 1 (ref. 14) に示されるような環状ビペラジノン中間体を形成し、図 1 の ref. 16 のような活性化されたヌクレオチド塩基エステルを加えてジアミドを生じさせ、そして前記ジアミドを保護することによって、活性化され、保護された PNA サブユニットを提供するステップと、

b) 活性化され、保護された第一の PNA サブユニットを樹脂にカップリングするステップと、

c) カップリングされた第一の PNA サブユニットを脱保護するステップと、

d) 活性化され、保護された第二の PNA を、樹脂に結合された第一の PNA へカップリングし、これにより樹脂に結合された PNA 二量体を生じさせるステップと、

e) 第二の PNA を脱保護するステップと、

f) ステップ (b) ~ (e) を繰り返し、樹脂に結合された PNA 二量体の汎用ライブラリーを形成するステップとを含むことを特徴とする方法。

【請求項 8】 標的ヌクレオチド配列の部位特異的認識が可能なペプチド核酸（PNA）を設計する方法であって、

a) 各 PNA オリゴマー中の少なくとも 4 つの塩基の位置が、従来型のヌクレオチド塩基で占められ、各 PNA オリゴマー中の少なくとも 1 つの塩基の位置が、汎用ヌクレオチド塩基で占められるペプチド核酸ライブラリーを提供するステップと、

b) 標的ヌクレオチド配列を、該ライブラリーからの PNA オリゴマーのセットに曝露し、ハイブリダイゼーションを起こさせるステップと、

c) 標的ヌクレオチド配列へ結合するセットから PNA オリゴマーの塩基配列を同定するステップと、

d) 標的ヌクレオチド配列へ結合する PNA オリゴマーの活性を分析するステップと、

e) ステップ (d) からの活性データとステップ (c) からの塩基配列を比較するステップと、

f) ステップ (e) で行われた比較に基づいて、標的ヌクレオチド配列の部位特異的認識が可能な少なくとも 1 個の PNA オリゴマーの最適配列長および塩基配列を決定するステップとを含むことを特徴とする方法。