

【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】令和4年2月24日(2022.2.24)

【国際公開番号】WO2019/145713

【公表番号】特表2021-510716(P2021-510716A)

【公表日】令和3年4月30日(2021.4.30)

【出願番号】特願2020-539253(P2020-539253)

【国際特許分類】

C 0 7 H 2 1 / 0 4 (2 0 0 6 . 0 1)

C 1 2 N 1 5 / 0 9 (2 0 0 6 . 0 1)

C 1 2 N 1 5 / 1 1 (2 0 0 6 . 0 1)

C 0 7 H 1 / 0 0 (2 0 0 6 . 0 1)

C 0 7 F 7 / 1 8 (2 0 0 6 . 0 1)

C 0 7 H 1 9 / 0 7 3 (2 0 0 6 . 0 1)

10

【F I】

C 0 7 H 2 1 / 0 4 A

C 1 2 N 1 5 / 0 9 2 0 0

C 1 2 N 1 5 / 1 1 Z

C 0 7 H 1 / 0 0

C 0 7 F 7 / 1 8 U

C 0 7 H 1 9 / 0 7 3

20

【手続補正書】

【提出日】令和4年1月20日(2022.1.20)

【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】

30

【特許請求の範囲】

【請求項1】

固体基板の表面上の複数の部位における1又は同じ若しくは異なる2以上のオリゴヌクレオチドの並列合成のための方法であって、

(i) 各部位に、複数のヌクレオシド又はヌクレオチドを用意するステップであって、各ヌクレオシド又はヌクレオチドが、5'-OH保護基を含み、前記ヌクレオシド又はヌクレオチドが、固体基板の表面上に固定されるステップと；

(ii) 前記固体基板の前記表面上の選択された部位における前記ヌクレオシド又はヌクレオチドの5'-OHにおいて熱的に制御された脱保護を行って、前記選択された部位のそれぞれにおいて、脱保護された5'-OH基を有するヌクレオシド又はヌクレオチドを形成するステップと；

40

(iii) 前記選択された部位のそれぞれにおいて、前記脱保護された5'-OH基上に、ヌクレオシド3'-ホスホロアミダイト又はジ-ヌクレオチド3'-ホスホロアミダイト又はトリ-ヌクレオチド3'-ホスホロアミダイトをカップリングするステップであって、前記ヌクレオシド3'-ホスホロアミダイト又はジ-ヌクレオチド3'-ホスホロアミダイト又はトリ-ヌクレオチド3'-ホスホロアミダイトが、5'-OH保護基を含むステップと；得られた亜リン酸トリエステル基を酸化して、リン酸トリエステル基とするステップと；

(iv) 前記基板の前記表面上の選択された部位における前記ヌクレオシド又はヌクレオチドの前記5'-OHにおいて熱的に制御された脱保護を行うステップであって、前記選

50

択された部位が、前ステップの前記選択された部位と同じであっても異なってもよいステップと、

(v) 前記選択された部位のそれぞれにおいて、前記脱保護された5'-OH基上に、ヌクレオシド3'-ホスホロアミダイト又はジ-ヌクレオチド3'-ホスホロアミダイト又はトリ-ヌクレオチド3'-ホスホロアミダイトをカップリングするステップであって、前記ヌクレオシド3'-ホスホロアミダイト又はジ-ヌクレオチド3'-ホスホロアミダイト又はトリ-ヌクレオチド3'-ホスホロアミダイトが、5'-OH保護基を含むステップと、得られた亜リン酸トリエステル基を酸化して、リン酸トリエステル基とするステップと；

(vi) ステップ(iv)及び(v)を1又は2回以上繰り返して、固体基板の表面上の各部位において所望のオリゴヌクレオチドを得るステップとを含む、前記方法。 10

【請求項2】

(i) 各部位に、複数のヌクレオシドを用意するステップであって、各ヌクレオシドが、5'-OH保護基を含み、前記ヌクレオシドが、固体基板の表面上に固定されるステップと；

(ii) 前記固体基板の前記表面上の選択された部位における前記ヌクレオシドの5'-OHにおいて熱的に制御された脱保護を行って、前記選択された部位のそれぞれにおいて、脱保護された5'-OH基を有するヌクレオシドを形成するステップと；

(iii) 前記選択された部位のそれぞれにおいて、前記脱保護された5'-OH基上に、ヌクレオシド3'-ホスホロアミダイト又はジ-ヌクレオチド3'-ホスホロアミダイト又はトリ-ヌクレオチド3'-ホスホロアミダイトをカップリングするステップであって、前記ヌクレオシド3'-ホスホロアミダイト又はジ-ヌクレオチド3'-ホスホロアミダイト又はトリ-ヌクレオチド3'-ホスホロアミダイトが、5'-OH保護基を含むステップと；得られた亜リン酸トリエステル基を酸化して、リン酸トリエステル基とするステップと； 20

(iv) 前記基板の前記表面上の選択された部位における前記ヌクレオシドの前記5'-OHにおいて熱的に制御された脱保護を行うステップであって、前記選択された部位が、前ステップの前記選択された部位と同じであっても異なってもよいステップと、

(v) 前記選択された部位のそれぞれにおいて、前記脱保護された5'-OH基上に、ヌクレオシド3'-ホスホロアミダイト又はジ-ヌクレオチド3'-ホスホロアミダイト又はトリ-ヌクレオチド3'-ホスホロアミダイトをカップリングするステップであって、前記ヌクレオシド3'-ホスホロアミダイト又はジ-ヌクレオチド3'-ホスホロアミダイト又はトリ-ヌクレオチド3'-ホスホロアミダイトが、5'-OH保護基を含むステップと、得られた亜リン酸トリエステル基を酸化して、リン酸トリエステル基とするステップと； 30

(vi) ステップ(iv)及び(v)を1又は2回以上繰り返して、固体基板の表面上の各部位において所望のオリゴヌクレオチドを得るステップとを含む、請求項1に記載の固体基板の表面上の複数の部位における1又は同じ若しくは異なる2以上のオリゴヌクレオチドの並列合成のための方法。 40

【請求項3】

(i) 各部位に、5'-OH保護基を含む複数のヌクレオシドを用意するステップであって、前記ヌクレオシドが、固体基板の表面上に固定されるステップと；

(ii) 前記固体基板の前記表面上の選択された部位における前記ヌクレオシドの5'-OHにおいて熱的に制御された脱保護を行って、前記選択された部位のそれぞれにおいて、脱保護された5'-OH基を有するヌクレオシドを形成するステップと；

(iii) 前記選択された部位のそれぞれにおいて、5'-OH保護基を含むヌクレオシド3'-ホスホロアミダイトを、前記脱保護された5'-OH基上にカップリングするステップと；得られた亜リン酸トリエステル基を酸化して、リン酸トリエステル基とするステップと；

(iv) 前記基板の前記表面上の選択された部位における前記ヌクレオシドの前記5' - OHにおいて熱的に制御された脱保護を行うステップであって、前記選択された部位が、前ステップの前記選択された部位と同じであっても異なってもよいステップと；

(v) 前記選択された部位のそれぞれにおいて、5' - OH保護基を含むヌクレオシド3' - ホスホロアミダイトを、前記脱保護された5' - OH基上にカップリングするステップと、得られた亜リン酸トリエステル基を酸化して、リン酸トリエステル基とするステップと；

(vi) ステップ(iv)及び(v)を1又は2回以上繰り返して、固体基板の表面上の各部位において所望のオリゴヌクレオチドを得るステップと

を含む、請求項1又は2に記載の固体基板の表面上の複数の部位における1又は同じ若しくは異なる2以上のオリゴヌクレオチドの並列合成のための方法。 10

【請求項4】

ステップ(i)の5' - OH保護ヌクレオシド又はヌクレオチドが、熱的に開裂可能な5' - OH保護基を含む、請求項1～3のいずれかに記載の方法。

【請求項5】

熱的に開裂可能な5' - OH保護基が、アクチベーター部分と、加熱時に前記保護基を開裂させる開裂可能なリンカー部分とを含み、それにより、前記5' - OH基の脱保護をもたらす、請求項1～4のいずれかに記載の方法。

【請求項6】

熱的に開裂可能な5' - OH保護基が、1又は2つのアクチベーター部分及び開裂可能なリンカー部分を有するセーフティキャッチ保護基を含み、各アクチベーター部分が、保護基で保護されており、各アクチベーター部分上の前記保護基が、前記アクチベーター部分を露出させるための所定の条件下で脱保護の影響を受けやすく、それにより、前記アクチベーター部分及び開裂可能なリンカー部分を、加熱時に開裂の影響を受けやすいものにする、請求項5に記載の方法。 20

【請求項7】

ステップ(i)におけるヌクレオシド又はヌクレオチドが、熱的に開裂可能なリンカー基を介して3'位において固体基板の表面に結合している、請求項1～6のいずれかに記載の方法。

【請求項8】

熱的に開裂可能なリンカー基が、1又は2つのアクチベーター部分と、加熱時に前記リンカー基を開裂させ、それにより、固体基板の表面からの離脱を引き起こす、開裂可能なリンカー部分とを含む、請求項7に記載の方法。 30

【請求項9】

熱的に開裂可能なリンカー基が、1又は2つのアクチベーター部分及び開裂可能なリンカー部分を有するセーフティキャッチリンカーを含み、前記アクチベーター部分が、保護基で保護されており、各アクチベーター部分上の前記保護基が、前記アクチベーター部分を露出させるための所定の条件下で脱保護の影響を受けやすく、それにより、前記アクチベーター部分及び開裂可能なリンカー部分を、加熱時に開裂の影響を受けやすいものにする、請求項8に記載の方法。 40

【請求項10】

ステップ(ii)及び(iv)における熱的に制御された脱保護が、選択された部位における局部加熱によって実現される、請求項1～9のいずれかに記載の方法。

【請求項11】

選択された部位以外の部位において、5' - OH保護基の脱保護が実質的にない、請求項10に記載の方法。

【請求項12】

カップリングステップ(iii)及び(v)が、5' - OH保護基を含むヌクレオシド3' - ホスホロアミダイト又はジ - ヌクレオチド3' - ホスホロアミダイト又はトリ - ヌクレオチド3' - ホスホロアミダイトを含有する溶液を、基板の表面と接触させることを含み、 50

前記ヌクレオシド 3' - ホスホロアミダイト又はジ - ヌクレオチド 3' - ホスホロアミダイト又はトリ - ヌクレオチド 3' - ホスホロアミダイトが、選択された部位において脱保護された 5' - OH 基と反応する、請求項 1 ~ 11 のいずれかに記載の方法。

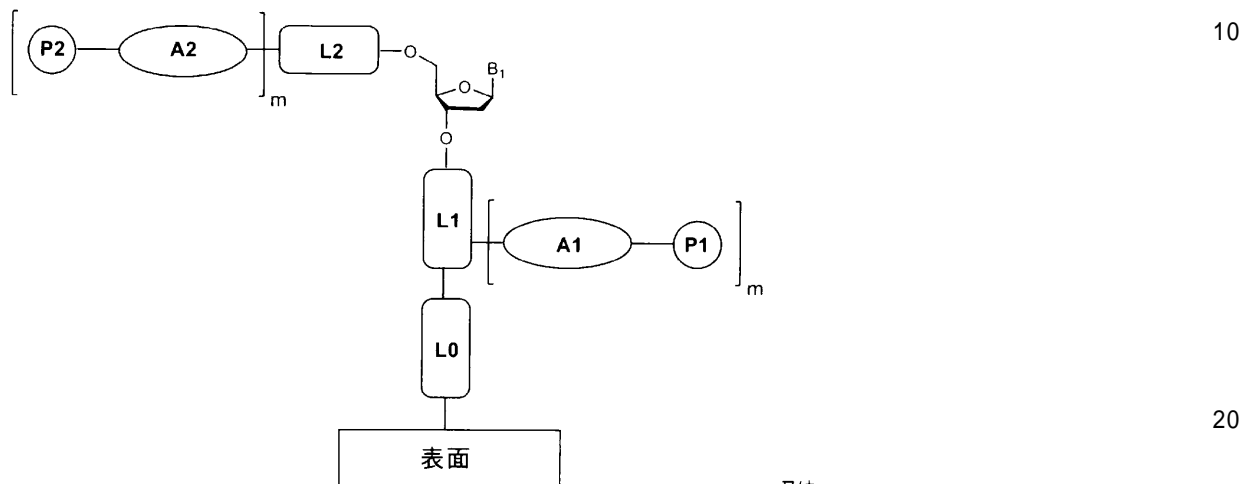
【請求項 13】

選択された部位以外の部位において、反応が実質的でない、請求項 12 に記載の方法。

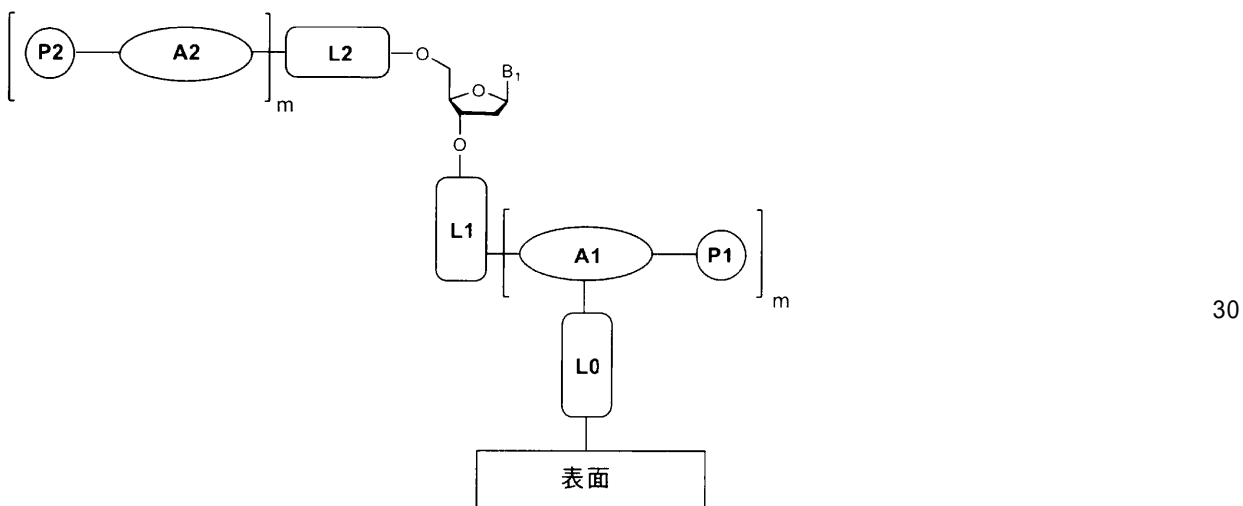
【請求項 14】

ステップ (i) が、各部位において、

【化 1】



、又は



[式中、

- L1 - A1 - P1 は、一緒になって、ヌクレオシドの 3' - OH 基における表面との結合のためのセーフティキャッチリンカーを表し、

- P1 は、保護基を表し、

- L1 は、熱的に開裂可能なリンカー部分を表し、

- A1 は、P1 の除去時に、固体表面からの前記開裂可能なリンカーの開裂を引き起こすことができる、アクチベーター部分を表し；

- P2 - A2 - L2 は、一緒になって、セーフティキャッチ 5' - OH 保護基を表し、

- P2 は、保護基を表し、

- L2 は、開裂可能なリンカー部分を表し、

- A2 は、P2 の除去時に、前記 5' - OH 保護基の除去を引き起こすことができる、アクチベーター部分を表し；

- m は、各出現において、同じであるか又は異なり、1 又は 2 を表し；

- L0 は、第 1 のヌクレオシドの、前記開裂可能なリンカー基を介する前記表面との結

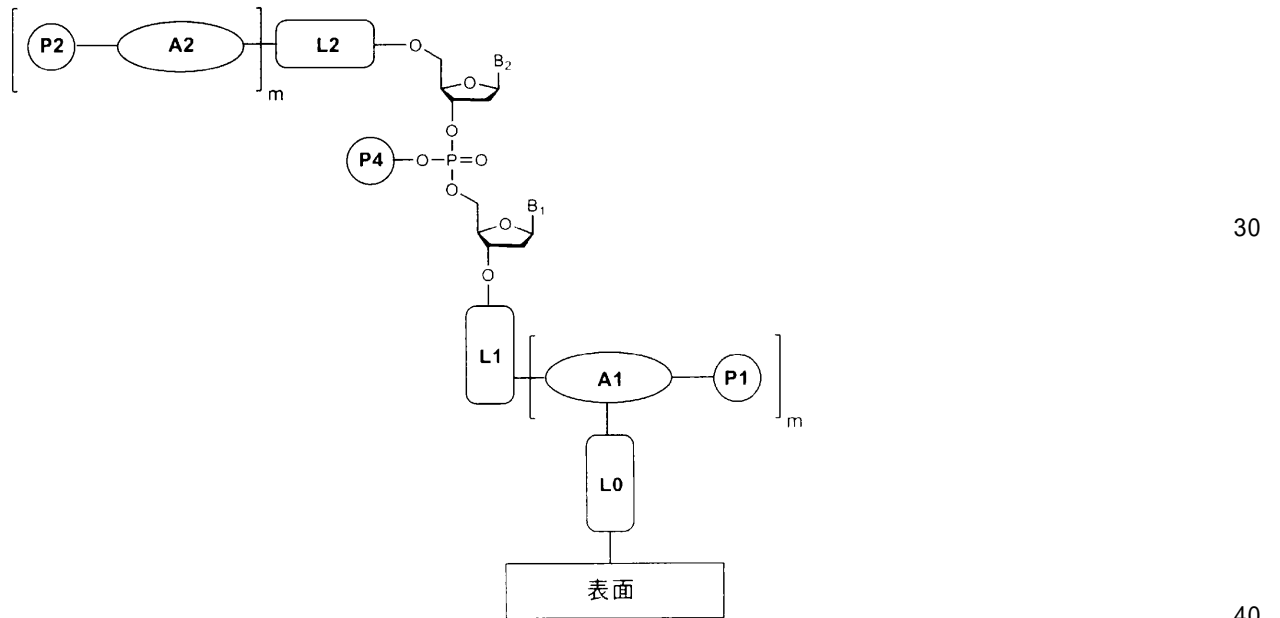
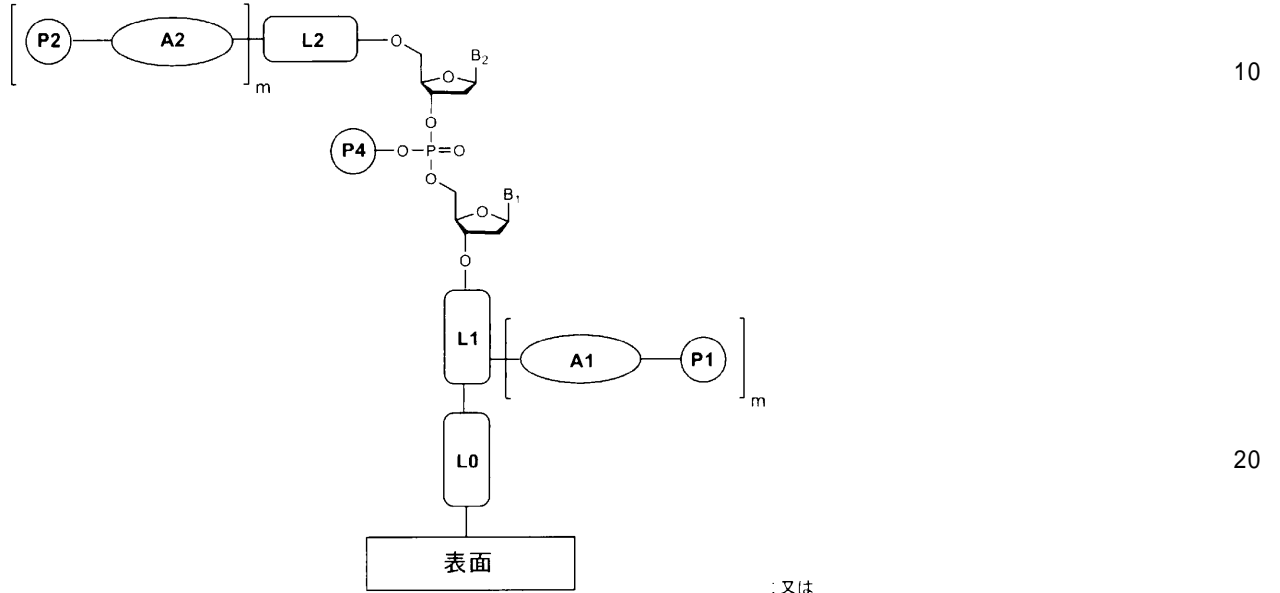
合のための部分を表し；

- B₁は、保護されていてもよい標準的な又は保護されていてもよい非標準的な核酸塩基を表し、

A₁、A₂、L₁及びL₂は、同じであっても異なってもよく、P₁及びP₂は、異なり、異なる条件又は試薬下で除去可能である]

或いは、

【化2】



[式中、

- L₁ - A₁ - P₁は、一緒になって、ヌクレオチドの3'-OH基における表面との結合のためのセーフティキャッチリンカーを表し、

- P₁は、保護基を表し、

- L₁は、熱的に開裂可能なリンカー部分を表し、

- A₁は、P₁の除去時に、固体表面からの前記開裂可能なリンカーの開裂を引き起こすことができる、アクチベーター部分を表し；

- P₂ - A₂ - L₂は、一緒になって、セーフティキャッチ5'-OH保護基を表し、

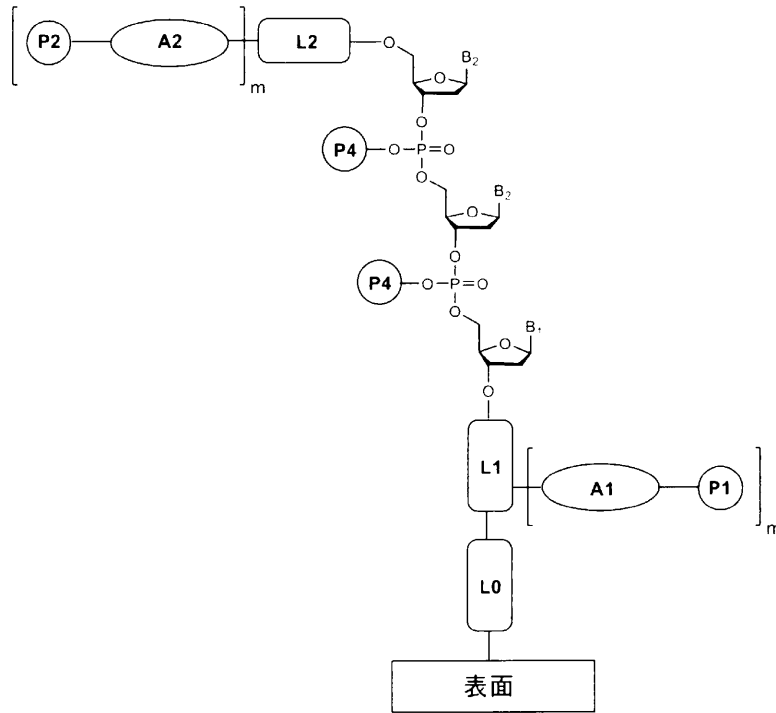
- P₂は、保護基を表し、

- L 2 は、開裂可能なリンカー部分を表し、
 - A 2 は、P 2 の除去時に、前記 5' - OH 保護基の除去を引き起こすことができる、アクチベーター部分を表し；
 - P 4 は、ホスフェート保護基を表し、
 - m は、各出現において、同じであるか又は異なり、1 又は 2 を表し；
 - L 0 は、第 1 のヌクレオシドの、前記開裂可能なリンカー基を介する前記表面との結合のための部分を表し；
 - B 1 及び B 2 は、同じであっても異なってもよく、それぞれ独立して、保護されていてもよい標準的な又は保護されていてもよい非標準的な核酸塩基を表し、
- A 1、A 2、L 1 及び L 2 は、同じであっても異なってもよく、P 1 及び P 2 は、異なり、異なる条件又は試薬下で除去可能である]

10

或いは、

【化 3】



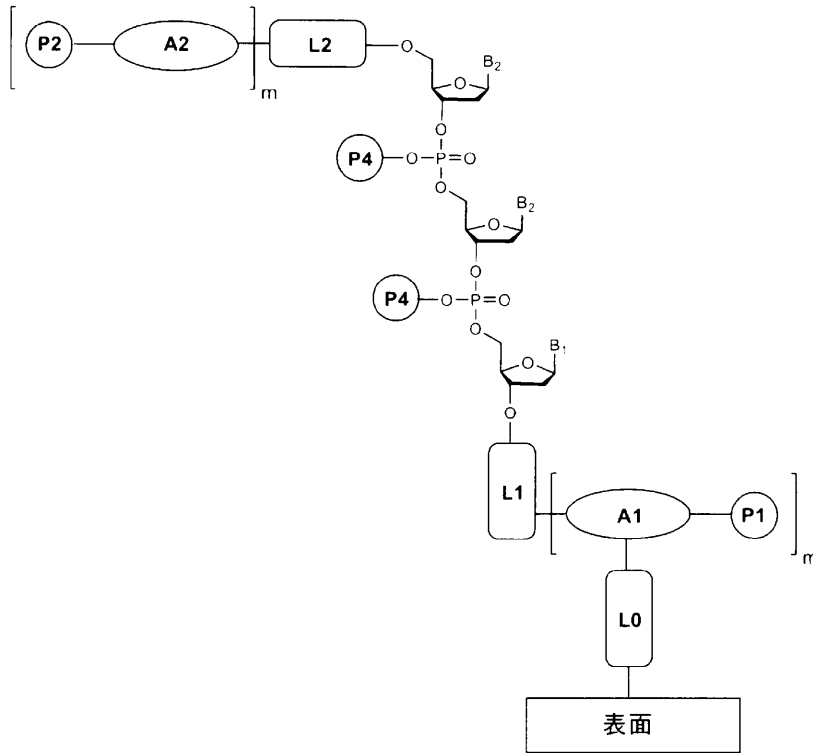
20

30

;又は

40

50



10

20

[式中、

- L1 - A1 - P1 は、一緒になって、ヌクレオチドの 3' - OH 基における表面との結合のためのセーフティキャッチリンカーを表し、

- P1 は、保護基を表し、

- L1 は、熱的に開裂可能なリンカー部分を表し、

- A1 は、P1 の除去時に、固体表面からの前記開裂可能なリンカーの開裂を引き起こすことができる、アクチベーター部分を表し；

- P2 - A2 - L2 は、一緒になって、セーフティキャッチ 5' - OH 保護基を表し、

- P2 は、保護基を表し、

- L2 は、開裂可能なリンカー部分を表し、

- A2 は、P2 の除去時に、前記 5' - OH 保護基の除去を引き起こすことができる、アクチベーター部分を表し；

- 各 P4 は、同じであっても異なってもよく、それぞれ独立して、ホスフェート保護基を表し、

- m は、各出現において、同じであるか又は異なり、1 又は 2 を表し；

- L0 は、第 1 のヌクレオシドの、前記開裂可能なリンカー基を介する前記表面との結合のための部分を表し；

- B1、B2 及び B3 は、同じであっても異なってもよく、それぞれ独立して、保護されていてもよい標準的な又は保護されていてもよい非標準的な核酸塩基を表し、

A1、A2、L1 及び L2 は、同じであっても異なってもよく、P1 及び P2 は、異なり、異なる条件又は試薬下で除去可能である]

によって表される、固体表面に固定された複数のヌクレオシド又はヌクレオチドを用意するステップを含む、請求項 1 ~ 13 のいずれかに記載の方法。

【請求項 15】

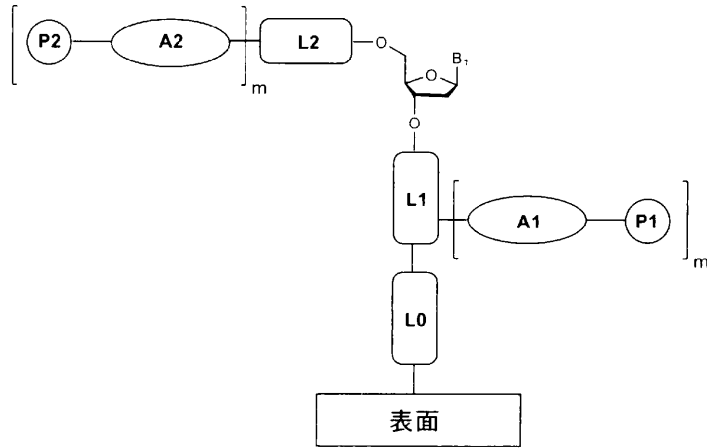
ステップ (i) が、各部位において、

30

40

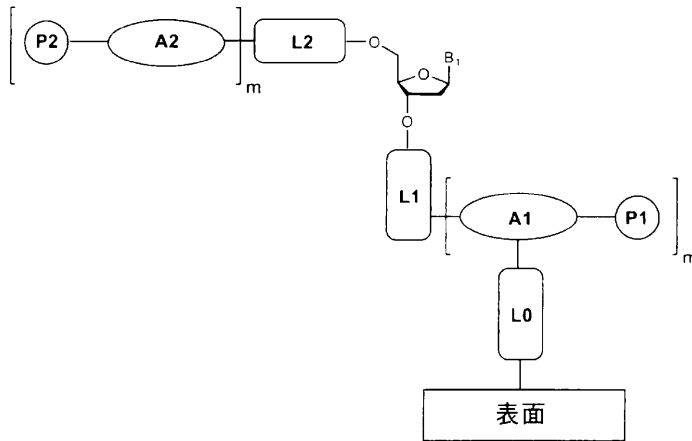
50

【化 4】



10

: 又は



20

[式中、

- L 1 - A 1 - P 1 は、一緒になって、ヌクレオシドの 3' - OH 基における表面との結合のためのセーフティキャッチリンカーを表し、

30

- P 1 は、保護基を表し、

- L 1 は、熱的に開裂可能なリンカー部分を表し、

- A 1 は、P 1 の除去時に、固体表面からの前記開裂可能なリンカーの開裂を引き起こすことができる、アクチベーター部分を表し；

- P 2 - A 2 - L 2 は、一緒になって、セーフティキャッチ 5' - OH 保護基を表し、

- P 2 は、保護基を表し、

- L 2 は、開裂可能なリンカー部分を表し、

- A 2 は、P 2 の除去時に、前記 5' - OH 保護基の除去を引き起こすことができる、アクチベーター部分を表し；

- m は、各出現において、同じであるか又は異なり、1 又は 2 を表し；

40

- L 0 は、第 1 のヌクレオシドの、前記開裂可能なリンカー基を介する前記表面との結合のための部分を表し；

- B 1 は、保護されていてもよい標準的な又は保護されていてもよい非標準的な核酸塩基を表し、

A 1、A 2、L 1 及び L 2 は、同じであっても異なってもよく、P 1 及び P 2 は、異なり、異なる条件又は試薬下で除去可能である]

によって表される、固体表面に固定された複数のヌクレオシドを用意するステップを含む、請求項 1 ~ 14 のいずれかに記載の方法。

【請求項 16】

ステップ (ii) が、開裂可能なリンカー基 P 2 - A 2 - L 2 を保護しているセーフティキ

50

ヤッチ 5' - OH の熱的に制御された除去を含む、請求項 14 又は 15 に記載の方法。

【請求項 17】

ステップ (iii) 及びステップ (v) における 5' - OH 保護基を含むヌクレオシド 3' - ホスホロアミダイト又はジ - ヌクレオチド 3' - ホスホロアミダイト又はトリ - ヌクレオチド 3' - ホスホロアミダイトが、熱的に開裂可能な 5' - OH 保護基を含むヌクレオシド 3' - ホスホロアミダイト又はジ - ヌクレオチド 3' - ホスホロアミダイト又はトリ - ヌクレオチド 3' - ホスホロアミダイトである、請求項 1 ~ 16 のいずれかに記載の方法。

【請求項 18】

熱的に開裂可能な 5' - OH 保護基が、1 又は 2 つのアクチベーター部分と、加熱時に前記保護基を開裂させ、それにより、前記 5' - OH 基の脱保護をもたらす、開裂可能なリンカー部分とを含む、請求項 17 に記載の方法。

10

【請求項 19】

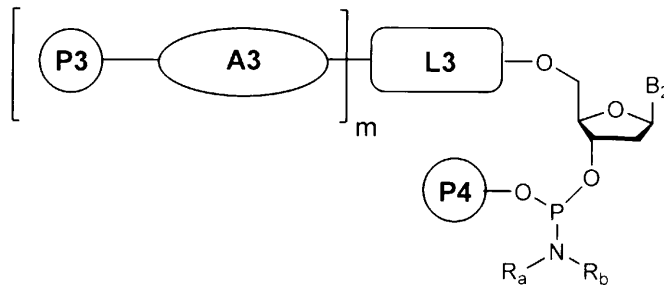
熱的に開裂可能な 5' - OH 保護基が、1 又は 2 つのアクチベーター部分及び開裂可能なリンカー部分を有するセーフティキャッチリンカーを含み、各アクチベーター部分が、保護基で保護されており、各アクチベーター部分上の前記保護基が、前記アクチベーター部分を露出させるための所定の条件下で脱保護の影響を受けやすく、それにより、前記アクチベーター部分及び開裂可能なリンカー部分を、加熱時に開裂の影響を受けやすいものにする、請求項 18 に記載の方法。

【請求項 20】

ステップ (iii) 及びステップ (v) における 5' - OH 保護基を含むヌクレオシド又はヌクレオチドが、

20

【化 6】



30

[式中、

- P3 - A3 - L3 は、一緒になって、セーフティキャッチ 5' - OH 保護基を表し、
- P3 は、保護基を表し、
- L3 は、開裂可能なリンカー部分を表し、
- A3 は、P3 の除去時に、前記 5' - OH 保護基の除去を引き起こすことができる、アクチベーター部分を表し；

- m = 1 又は 2 であり；

- P4 は、ホスホロアミダイト保護基を表し；

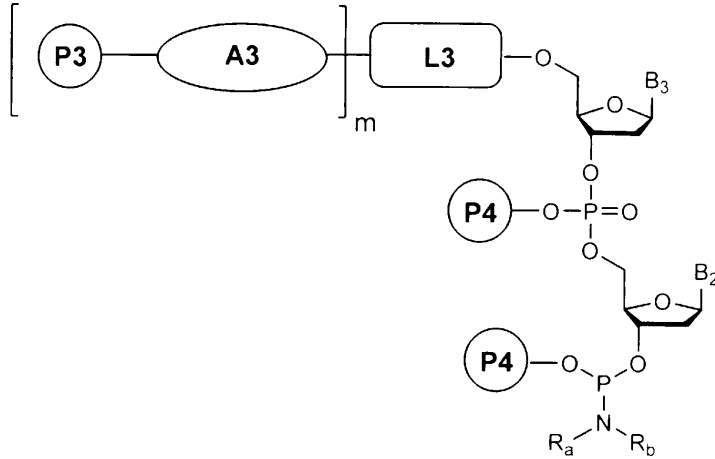
40

- B2 は、保護されていてもよい標準的な又は保護されていてもよい非標準的な核酸塩基を表し；

- Ra 及び Rb は、同じであっても異なってもよく、それぞれアルキルを表す]

によって表される熱的に開裂可能な 5' - OH 保護基を含むヌクレオシド 3' - ホスホロアミダイト；或いは

【化 7】



10

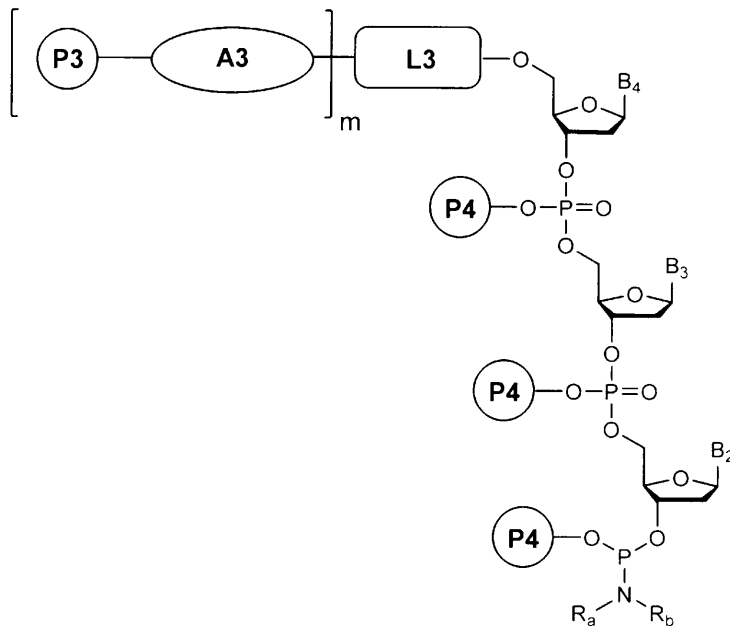
[式中、

- P 3 - A 3 - L 3 は、一緒になって、セーフティキャッチ 5' - OH 保護基を表し、
 - P 3 は、保護基を表し、
 - L 3 は、開裂可能なリンカー部分を表し、
 - A 3 は、P 3 の除去時に、前記 5' - OH 保護基の除去を引き起こすことができる、
アクチベーター部分を表し；
 - m = 1 又は 2 であり；
 - 各 P 4 は、同じであっても異なってもよく、ホスホロアミダイト又はホスフェート保護基を表し；
 - B 2 及び B 3 は、同じであっても異なってもよく、それぞれ独立して、保護されていてもよい標準的な又は保護されていてもよい非標準的な核酸塩基を表し；
 - R a 及び R b は、同じであっても異なってもよく、それぞれアルキルを表す]
- によって表される熱的に開裂可能な 5' - OH 保護基を含むジ - ヌクレオチド 3' - ホスホロアミダイト；或いは

20

30

【化 8】



40

[式中、

50

- P 3 - A 3 - L 3 は、一緒になって、セーフティキャッチ 5' - OH 保護基を表し、
- P 3 は、保護基を表し、
- L 3 は、開裂可能なリンカー部分を表し、
- A 3 は、P 3 の除去時に、前記 5' - OH 保護基の除去を引き起こすことができる、
アクチベーター部分を表し；
- m = 1 又は 2 であり；
- 各 P 4 は、同じであっても異なってもよく、それぞれホスホロアミダイト又はホス
フェート保護基を表し；
- B 2、B 3 及び B 4 は、同じであっても異なってもよく、それぞれ独立して、保
護されていてもよい標準的な又は保護されていてもよい非標準的な核酸塩基を表し；
- R_a 及び R_b は、同じであっても異なってもよく、それぞれアルキルを表す]
によって表される熱的に開裂可能な 5' - OH 保護基を含むトリ - ヌクレオチド 3' - ホス
ホロアミダイト

10

である、請求項 1 ~ 19 のいずれかに記載の方法。

【請求項 21】

ステップ (iii) における、5' - OH 保護基を含むヌクレオシド 3' - ホスホロアミダイト、又は 5' - OH 保護基を含むジ - ヌクレオチド 3' - ホスホロアミダイト、又は 5' - OH 保護基を含むトリ - ヌクレオチド 3' - ホスホロアミダイトの、固定されたヌクレオシド又はヌクレオチドの脱保護された 5' - OH 基へのカップリングとそれに続く酸化が、

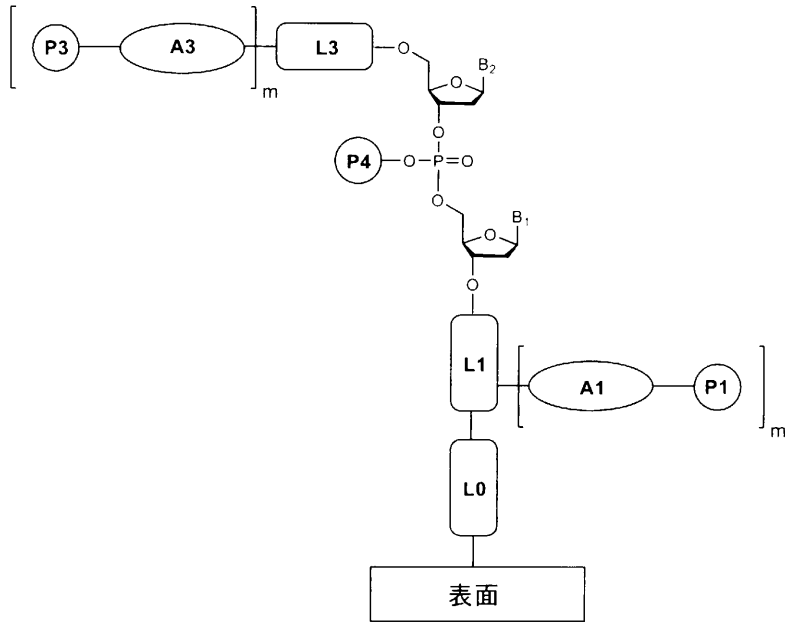
20

30

40

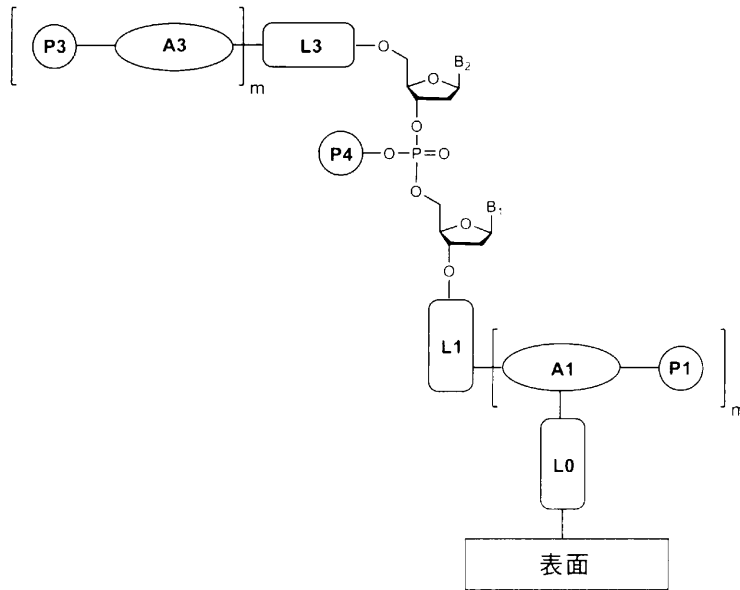
50

【化9】



10

又は

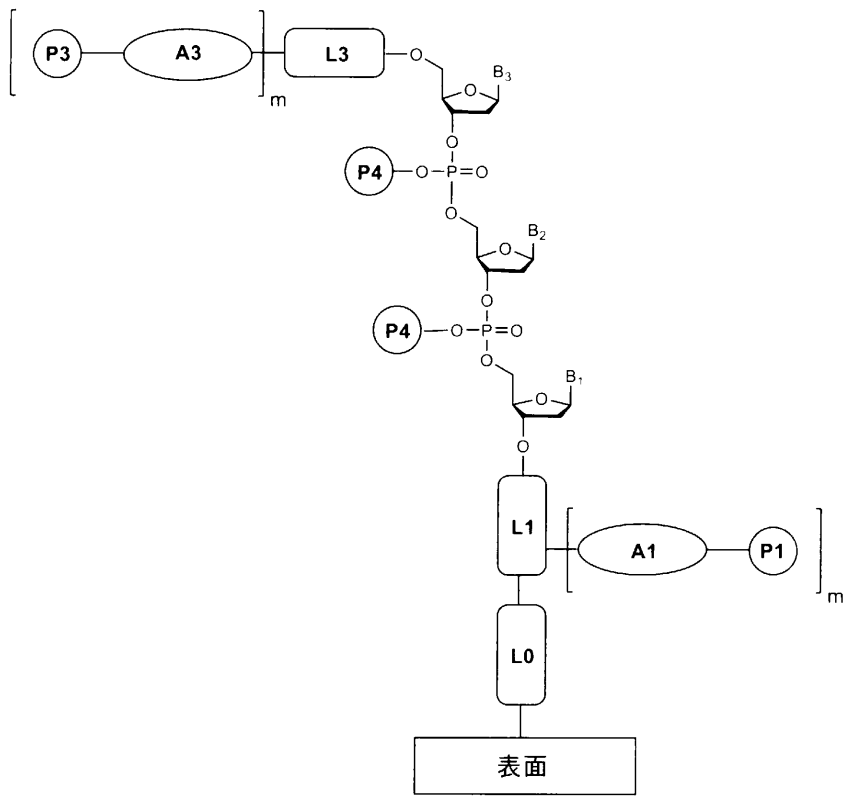


20

又は

40

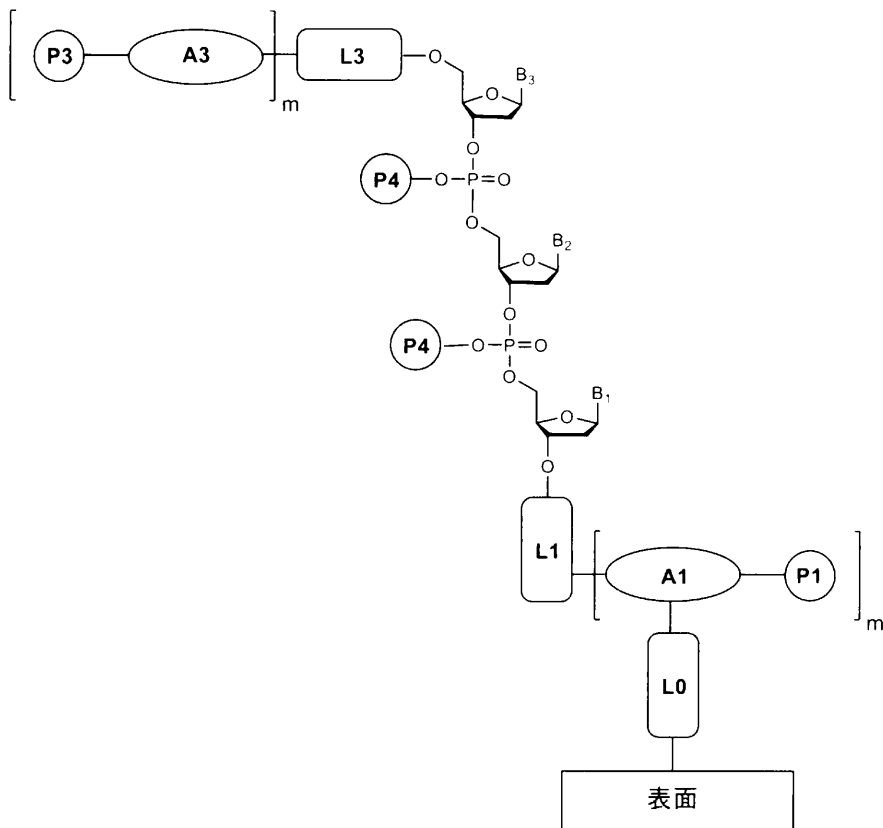
50



10

20

;又は



30

40

50

[式中、

- L 1 - A 1 - P 1 は、一緒になって、ヌクレオシドの 3' - OH 基における表面との結合のためのセーフティキャッチリンカーを表し、
 - P 1 は、保護基を表し、
 - L 1 は、熱的に開裂可能なリンカー部分を表し、
 - A 1 は、P 1 の除去時に、固体表面からの前記開裂可能なリンカーの開裂を引き起こすことができる、アクチベーター部分を表し；
 - P 3 - A 3 - L 3 は、一緒になって、セーフティキャッチ 5' - OH 保護基を表し、
 - P 3 は、保護基を表し、
 - L 3 は、開裂可能なリンカー部分を表し、
 - A 3 は、P 3 の除去時に、前記 5' - OH 保護基の除去を引き起こすことができる、アクチベーター部分を表し；
 - m は、各出現において、同じであるか又は異なり、1 又は 2 を表し；
 - L 0 は、第 1 のヌクレオシドの、前記開裂可能なリンカー基を介する前記表面との結合のための部分を表し；
 - 各 B 1 又は B 2 又は B 3 は、独立して、保護されていてもよい標準的な又は保護されていてもよい非標準的な核酸塩基を表し、
 - A 1、A 3、L 1 及び L 3 は、同じであっても異なってもよく、P 1 及び P 3 は、異なり、異なる条件又は試薬下で除去可能であり；
 - 各 P 4 は、同じであっても異なってもよく、それぞれホスフェート保護基を表す]
- によって表される構造を形成する、請求項 1 ~ 20 のいずれかに記載の方法。

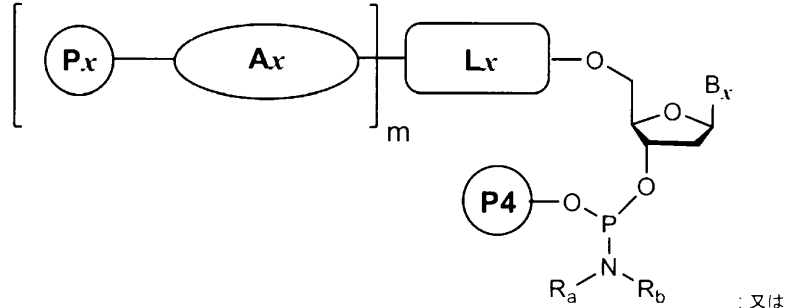
10

20

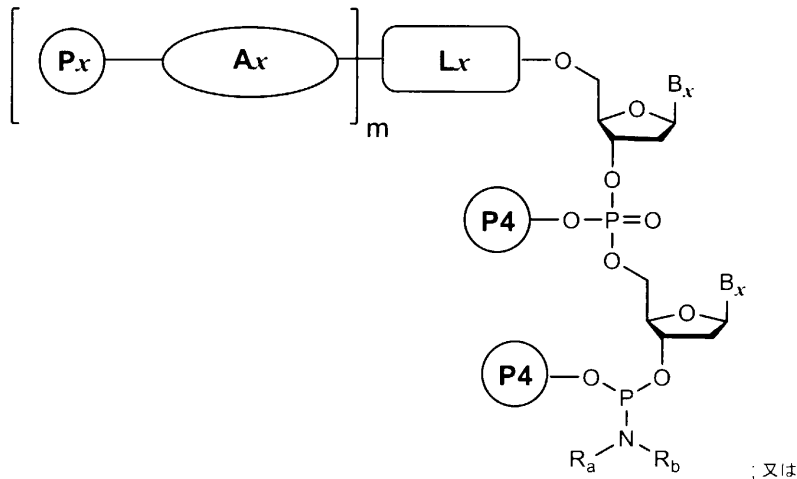
【請求項 22】

ステップ (ii) 及び (iii) を繰り返して、

【化 10】

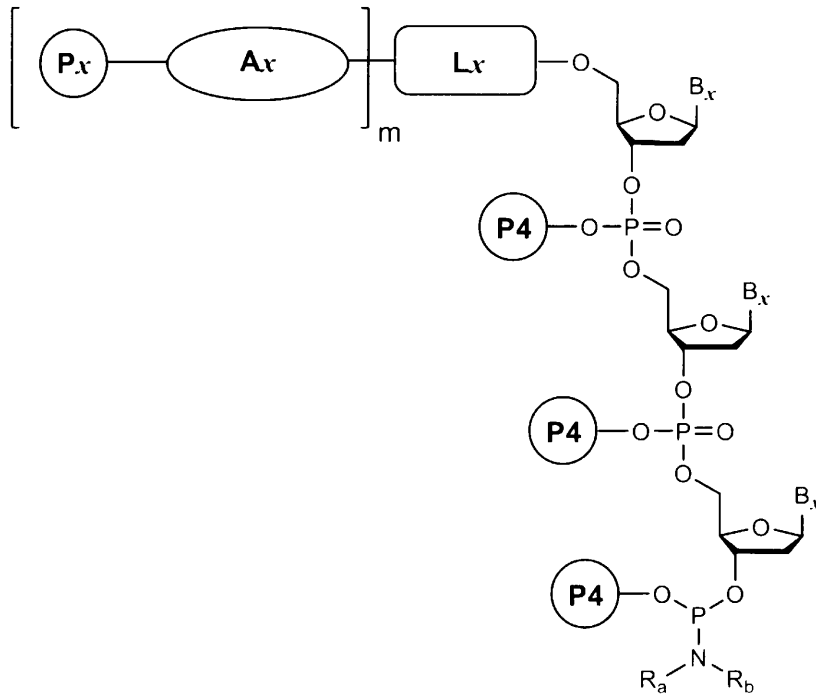


30



40

50



10

20

[式中、

- Px - Ax - Lx は、一緒になって、入ってくるヌクレオシド又はヌクレオチドの 5' - OH 基を保護する開裂可能な 5' - OH 保護基を表し、
- Lx は、開裂可能なリンカー部分を表し、
- Px は、保護基を表し、
- Ax は、Px の除去時に、前記 5' - OH 保護基の除去を引き起こすことができる、アクチベーター部分を表し；

30

- m = 1 又は 2 であり；

- 各 P4 は、同じであっても異なってもよく、それぞれホスホロアミダイト又はホスフェート保護基を表し；

- 各 Bx は、同じであっても異なってもよく、それぞれ独立して、保護されていてもよい標準的な又は保護されていてもよい非標準的な核酸塩基を表し；

- Ra 及び Rb は、同じであっても異なってもよく、それぞれアルキルを表す]
- によって表されるヌクレオシド又はヌクレオチドの 5' - OH における順次の熱的に制御された脱保護及び入ってくるヌクレオシド又はヌクレオチドのカップリングにより、各部位におけるオリゴヌクレオチドを逐次成長させる、請求項 1 ~ 21 のいずれかに記載の方法。

40

【請求項 23】

ステップ (i) の 5' - OH 保護ヌクレオシドが、熱的に開裂可能な 5' - OH 保護基を含み、熱的に開裂可能なリンカー基を介して 3' 位において固体基板の表面に結合しており、第 1 のヌクレオシドを前記表面に結合している前記熱的に開裂可能なリンカーが、オリゴヌクレオチド合成ステップ中の除去に対して安定である、請求項 1 ~ 22 のいずれかに記載の方法。

【請求項 24】

核酸塩基上の保護基が、存在する場合、オリゴヌクレオチド合成中の除去に対して安定である、請求項 14 ~ 23 のいずれかに記載の方法。

【請求項 25】

ヌクレオシド 3' - ホスホロアミダイト又はジ - ヌクレオチド 3' - ホスホロアミダイト又 50

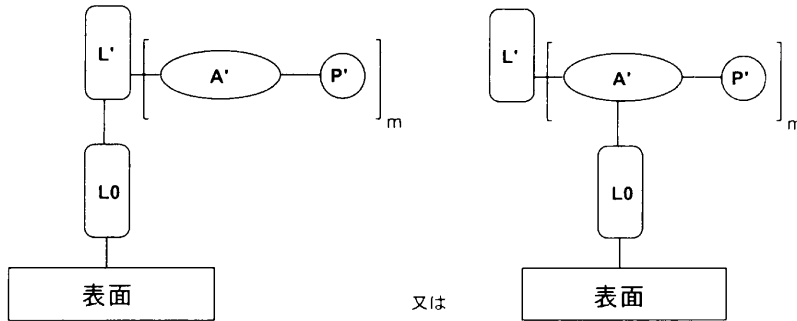
はトリ - ヌクレオチド 3' - ホスホロアミダイト上の保護基 P' が、オリゴヌクレオチド合成中の除去に対して安定である、請求項 14、16、17、18、19 のいずれか、又は請求項 20 ~ 24 のいずれかに記載の方法。

【請求項 26】

ステップ (i) が、

(a) 各部位が熱的に不安定なリンカー基で官能基化されている複数の部位を含む固体表面を用意するステップであって、そのそれぞれが、

【化 11】



10

20

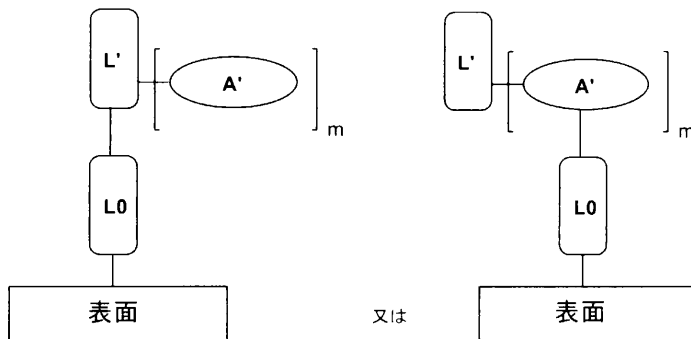
[式中、

- L' - A' - P' は、一緒になって、前記表面と L0 を介して結合しているセーフティキヤッチリンカーを表し、
 - P' は、保護基を表し、
 - L' は、開裂可能なリンカー部分を表し、
 - A' は、P' の除去時に、前記固体表面からの前記開裂可能なリンカー基の開裂を引き起こすことができる、アクチベーター部分を表し；
 - m = 1 又は 2 であり；
 - L0 は、前記開裂可能なリンカー基の、前記表面との結合のための部分を表す]
- によって表されるステップと；

30

(b) 保護基 P' を除去して、それにより、

【化 12】



40

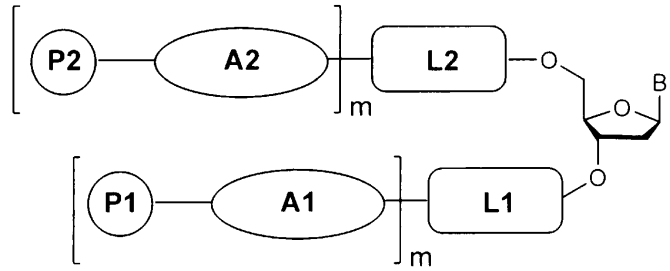
によって表される複数の部位を含む固体表面をもたらすステップと、

(c) 選択された部位におけるアクチベーター部分 A' を介する開裂可能なリンカー L' の熱的に制御された脱保護、及び、前記脱保護部位を、

- 式：

50

【化 1 3】



10

[式中、

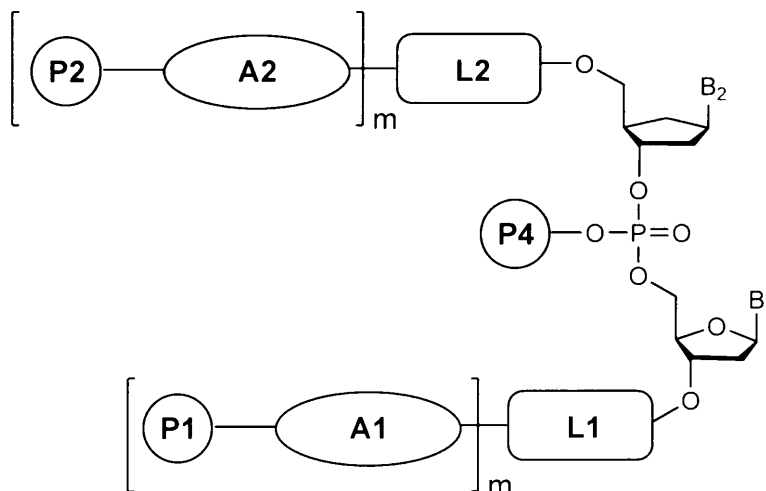
- L 1 - A 1 - P 1 は、一緒になって、第 1 のヌクレオシドの 3' - OH 基における表面との結合のためのセーフティキャッチリンカーを表し、
- P 1 は、保護基を表し、
- L 1 は、開裂可能なリンカー部分を表し、
- A 1 は、P 1 の除去時に、前記固体表面からの前記開裂可能なリンカーの開裂を引き起こすことができる、アクチベーター部分を表し；
- P 2 - A 2 - L 2 は、一緒になって、セーフティキャッチ 5' - OH 保護基を表し、
- P 2 は、保護基を表し、
- L 2 は、開裂可能なリンカー部分を表し、
- A 2 は、P 2 の除去時に、前記 5' - OH 保護基の除去を引き起こすことができる、アクチベーター部分を表し；
- m は、各出現において、同じであるか又は異なり、1 又は 2 を表し；
- B₁ は、保護されていてもよい標準的な又は保護されていてもよい非標準的な核酸塩基を表す]

20

によって表されるヌクレオシド；或いは

- 式：

【化 1 4】



30

40

[式中、

- L 1 - A 1 - P 1 は、一緒になって、第 1 のヌクレオシドの 3' - OH 基における表面との結合のためのセーフティキャッチリンカーを表し、
- P 1 は、保護基を表し、
- L 1 は、開裂可能なリンカー部分を表し、
- A 1 は、P 1 の除去時に、前記固体表面からの前記開裂可能なリンカーの開裂を引き

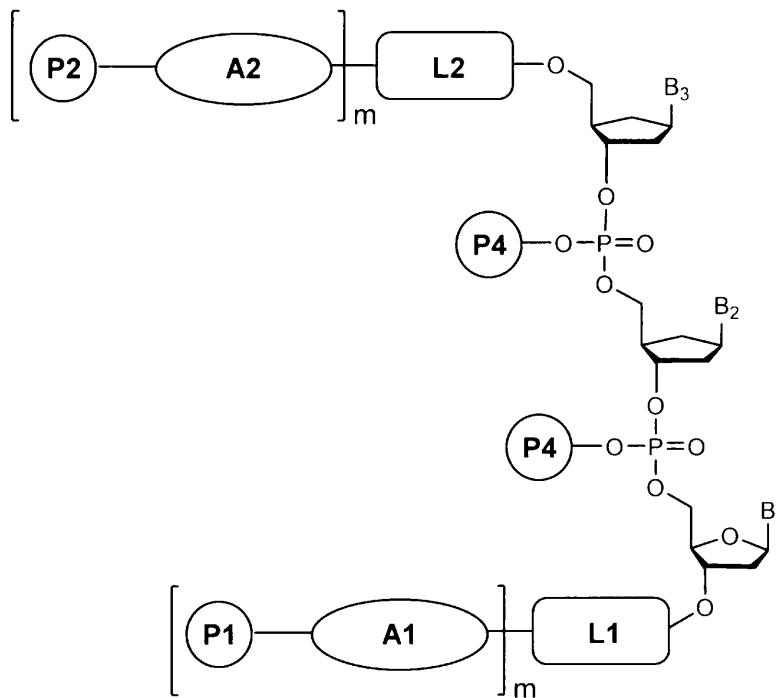
50

起こすことができる、アクチベーター部分を表し；

- P 2 - A 2 - L 2 は、一緒になって、セーフティキャッチ 5' - OH 保護基を表し、
 - P 2 は、保護基を表し、
 - L 2 は、開裂可能なリンカー部分を表し、
 - A 2 は、P 2 の除去時に、前記 5' - OH 保護基の除去を引き起こすことができる、アクチベーター部分を表し；
 - P 4 は、ホスフェート保護基を表し；
 - m は、各出現において、同じであるか又は異なり、1 又は 2 を表し；
 - B₁ 及び B₂ は、同じであっても異なってもよく、それぞれ独立して、保護されていてもよい標準的な又は保護されていてもよい非標準的な核酸塩基を表す]
- によって表されるジ - ヌクレオチド；或いは
- 式：

10

【化 1 5】



20

30

[式中、

- L 1 - A 1 - P 1 は、一緒になって、第 1 のヌクレオシドの 3' - OH 基における表面との結合のためのセーフティキャッチリンカーを表し、
- P 1 は、保護基を表し、
- L 1 は、開裂可能なリンカー部分を表し、
- A 1 は、P 1 の除去時に、前記固体表面からの前記開裂可能なリンカーの開裂を引き起こすことができる、アクチベーター部分を表し；
- P 2 - A 2 - L 2 は、一緒になって、セーフティキャッチ 5' - OH 保護基を表し、
- P 2 は、保護基を表し、
- L 2 は、開裂可能なリンカー部分を表し、
- A 2 は、P 2 の除去時に、前記 5' - OH 保護基の除去を引き起こすことができる、アクチベーター部分を表し；
- 各 P 4 は、同じであっても異なってもよく、それぞれ独立して、ホスフェート保護基を表し；
- m は、各出現において、同じであるか又は異なり、1 又は 2 を表し；
- B₁、B₂ 及び B₃ は、同じであっても異なってもよく、それぞれ独立して、保

40

50

護されていてもよい標準的な又は保護されていてもよい非標準的な核酸塩基を表す]

によって表されるトリ - ヌクレオチドとカップリングするステップと、

(d) 前ステップにおいて脱保護されなかった、選択された部位におけるアクチベーター部分 A ' を介する前記開裂可能なリンカー L ' の熱的に制御された脱保護、及び、前記脱保護部位を、別のヌクレオシドとカップリングするステップと、

(e) 他の残りのヌクレオシドを用いてステップ (d) を繰り返す ;

それにより、固体表面上に複数の部位を形成するステップであって、前記固体表面が、核酸塩基を含有する複数の 5 ' - O H 保護ヌクレオシド又はヌクレオチドを含み、前記核酸塩基が、保護されていてもよい標準的な又は保護されていてもよい非標準的な核酸塩基であり、前記ヌクレオシドが、開裂可能なリンカー基 L 1 - A 1 - P 1 を介して前記固体表面と前記 3 ' - O H においてそれぞれ結合しているステップとを含む、請求項 1 ~ 2 5 のいずれかに記載の方法。

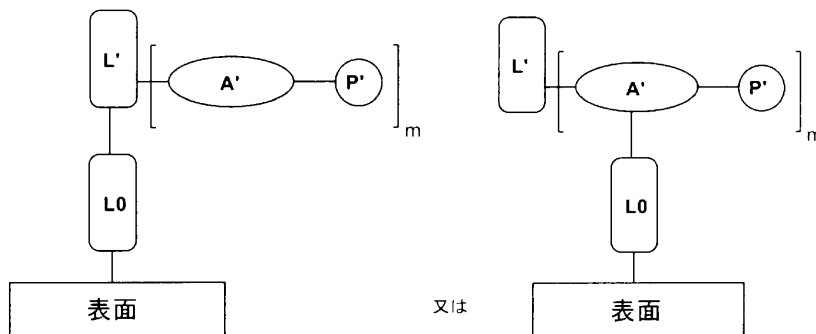
10

【請求項 2 7】

ステップ (i) が、

(a) 各部位が熱的に不安定なリンカー基で官能基化されている複数の部位を含む固体表面を用意するステップであって、そのそれぞれが、

【化 1 6】



20

[式中、

30

- L ' - A ' - P ' は、一緒になって、前記表面と L 0 を介して結合しているセーフティキヤッチリンカーを表し、

- P ' は、保護基を表し、

- L ' は、開裂可能なリンカー部分を表し、

- A ' は、P ' の除去時に、前記固体表面からの前記開裂可能なリンカー基の開裂を引き起こすことができる、アクチベーター部分を表し ;

- m = 1 又は 2 であり ;

- L 0 は、前記開裂可能なリンカー基の、前記表面との結合のための部分を表す]

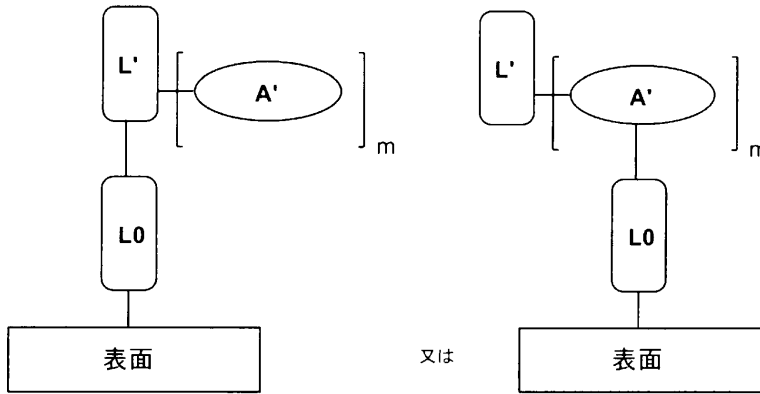
によって表されるステップと ;

(b) 保護基 P ' を除去して、それにより、

40

50

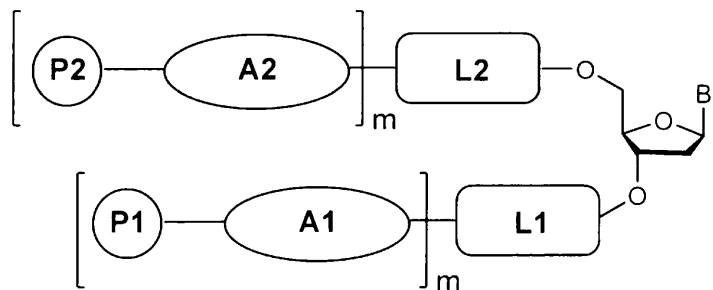
【化 1 7】



10

によって表される複数の部位を含む固体表面をもたらすステップと、
 (c) 選択された部位におけるアクチベーター部分 A' を介する開裂可能なリンカー L' の熱的に制御された脱保護、及び、前記脱保護部位を、式：

【化 1 8】



20

[式中、

30

- L1 - A1 - P1 は、一緒になって、第 1 のヌクレオシドの 3' - OH 基における表面との結合のためのセーフティキャッチリンカーを表し、
- P1 は、保護基を表し、
- L1 は、開裂可能なリンカー部分を表し、
- A1 は、P1 の除去時に、前記固体表面からの前記開裂可能なリンカーの開裂を引き起こすことができる、アクチベーター部分を表し；
- P2 - A2 - L2 は、一緒になって、セーフティキャッチ 5' - OH 保護基を表し、
- P2 は、保護基を表し、
- L2 は、開裂可能なリンカー部分を表し、
- A2 は、P2 の除去時に、前記 5' - OH 保護基の除去を引き起こすことができる、
- m は、各出現において、同じであるか又は異なり、1 又は 2 を表し；
- B1 は、保護されていてもよい標準的な又は保護されていてもよい非標準的な核酸塩基を表す]

40

によって表されるヌクレオシドとカップリングするステップと、

(d) 前ステップにおいて脱保護されなかった、選択された部位におけるアクチベーター部分 A' を介する前記開裂可能なリンカー L' の熱的に制御された脱保護、及び、前記脱保護部位を、別のヌクレオシドとカップリングするステップと、

(e) 他の残りのヌクレオシドを用いてステップ (d) を繰り返す；

それにより、固体表面上に複数の部位を形成するステップであって、前記固体表面が、核

50

酸塩基を含有する複数の 5' - OH 保護ヌクレオシドを含み、前記核酸塩基が、保護されていてもよい標準的な又は保護されていてもよい非標準的な核酸塩基であり、前記ヌクレオシドが、開裂可能なリンカー基 L1 - A1 - P1 を介して前記固体表面と前記 3' - OH においてそれぞれ結合しているステップとを含む、請求項 1 ~ 26 のいずれかに記載の方法。

【請求項 28】

オリゴヌクレオチドの脱保護の熱制御が、チップ上の個々に熱的に対処可能な部位によって提供される、請求項 1 ~ 27 のいずれかに記載の方法。

【請求項 29】

固体基板が、チップを備え、方法が、

10

(i) 各部位に、5' - OH において熱的に開裂可能な保護基を含む複数のヌクレオシドを用意するステップであって、前記ヌクレオシドが、熱的に開裂可能なリンカー基を介して 3' 位において固体基板の表面に結合しているステップと；

(ii) 前記チップの表面上の選択された部位における前記ヌクレオシドの前記 5' - OH において熱的に制御された脱保護を行って、前記選択された部位のそれぞれにおいて、脱保護された 5' - OH 基を有するヌクレオシドを形成するステップと；

(iii) 前記選択された部位のそれぞれにおいて、前記脱保護された 5' - OH 基に、ヌクレオシド 3' - ホスホロアミダイト、ジ - ヌクレオチド 3' - ホスホロアミダイト又はトリ - ヌクレオチド 3' - ホスホロアミダイトをカップリングするステップであって、前記ヌクレオシド 3' - ホスホロアミダイト、ジ - ヌクレオチド 3' - ホスホロアミダイト又はトリ - ヌクレオチド 3' - ホスホロアミダイトが、熱的に開裂可能な 5' - OH 保護基を含むステップと；得られた亜リン酸トリエステル基を酸化して、リン酸トリエステル基とするステップと；

20

(iv) 前記基板の前記表面上の選択された部位における前記ヌクレオシドの前記 5' - OH において熱的に制御された脱保護を行うステップであって、前記選択された部位が、前ステップの前記選択された部位と同じであっても異なってもよいステップと、

(v) 前記選択された部位のそれぞれにおいて、前記脱保護された 5' - OH 基上に、ヌクレオシド 3' - ホスホロアミダイト、ジ - ヌクレオチド 3' - ホスホロアミダイト又はトリ - ヌクレオチド 3' - ホスホロアミダイトをカップリングするステップであって、前記ヌクレオシド 3' - ホスホロアミダイト、ジ - ヌクレオチド 3' - ホスホロアミダイト又はトリ - ヌクレオチド 3' - ホスホロアミダイトが、熱的に開裂可能な 5' - OH 保護基を含むステップと；得られた亜リン酸トリエステル基を酸化して、リン酸トリエステル基とするステップと；

30

(vi) ステップ (iv) 及び (v) を 1 又は 2 回以上繰り返して、前記チップの前記表面上の各部位において所望のオリゴヌクレオチドを得るステップであって、前記チップが、個々に熱的に対処可能な部位を含むステップと

を含む、請求項 1 又は 2 に記載の固体基板の表面上の複数の部位における 1 又は同じ若しくは異なる 2 以上のオリゴヌクレオチドの並列合成のための方法。

【請求項 30】

固体基板が、チップを備え、方法が、

40

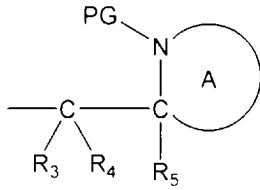
(i) 各部位に、5' - OH において熱的に開裂可能な保護基を含む複数のヌクレオシドを用意するステップであって、前記ヌクレオシドが、熱的に開裂可能なリンカー基を介して 3' 位において固体基板の表面に結合しているステップと；

(ii) 前記チップの表面上の選択された部位における前記ヌクレオシドの前記 5' - OH において熱的に制御された脱保護を行って、前記選択された部位のそれぞれにおいて、脱保護された 5' - OH 基を有するヌクレオシドを形成するステップと；

(iii) 前記選択された部位のそれぞれにおいて、ヌクレオシド 3' - ホスホロアミダイト、ジ - ヌクレオチド 3' - ホスホロアミダイト又はトリ - ヌクレオチド 3' - ホスホロアミダイトであって、熱的に開裂可能な 5' - OH 保護基を含む前記ヌクレオシド 3' - ホスホロアミダイト、ジ - ヌクレオチド 3' - ホスホロアミダイト又はトリ - ヌクレオチド 3' -

50

【化 2 0】



10

を表し；

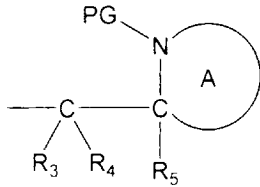
- R 1、R 2、R 3、R 4、R 5 及び R 7 のそれぞれは、同じであるか又は異なり、それぞれ独立して、水素又はヒドロカルビルを表し；
- P G は、窒素のための開裂可能な保護基を表し；
- n は、0、1、2 又は 3 を表し；
- 環 A は、窒素含有ヘテロ環式基を表し；

各出現において、R 1、R 2、R 3、R 4、R 5、P G 及び A は、同じであっても異なってもよく、

これは、R 1、R 2、R 3、R 4、R 5、R 7、X、Y 又は A の 1 つにおいて前記基板と結合しており、又は、Y が

20

【化 2 1】



30

である場合、R 7 において前記基板と結合しているか、

或いは、前記開裂可能なリンカーは、Y がヒドロカルビルである場合、Y において前記基板と結合している]

によって表される、請求項 7 ~ 3 1 のいずれかに記載の方法。

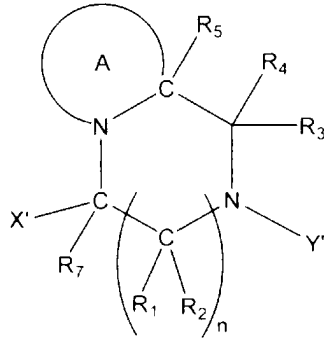
【請求項 3 3】

保護基 P G の少なくとも 1 つが、第 1 の反応条件下で開裂可能であって、それにより脱保護されたリンカーを生成し、前記脱保護されたリンカーが、第 2 の異なる反応条件下で分子内環化及び開裂を受けることができ、二酸化炭素を放出して、式 (II)：

40

50

【化 2 2】



(II)

10

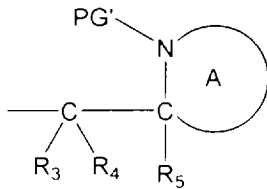
の化合物を生成し、それにより、表面からオリゴヌクレオチドを放出し；

式中、PG'は、水素、又は窒素のための開裂可能な保護基であり、但し、少なくとも1つのPG'は、水素であり；

- Y'は、ヒドロカルビル、又は

【化 2 3】

20



30

を表し；

式中、X、R₁～R₅、R₇、A、M及びnは、請求項32で定義されている通りである、請求項32に記載の方法。

【請求項34】

Yが、ヒドロカルビルを表し、又は、Yが、C₁-20ヒドロカルビル若しくはC₁-10若しくは特にC₁-6ヒドロカルビルを表し、又は、前記C₁-20若しくはC₁-10若しくはC₁-6ヒドロカルビルが、アルキル、アリール、アルカリール及びアリールアルキル、アルケニル若しくはアルキニルであり、又は、Yが、C₁-10アルキル又はC₆-10アリールである、請求項32又は33に記載の方法。

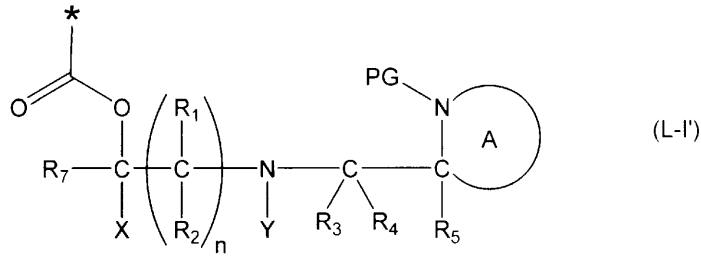
40

【請求項35】

5'-OH保護基が、式(L-1')：

50

【化 2 4】

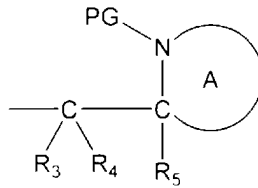


10

[式中、

- * は、ヌクレオシドの 5' - OH との結合点を表し；
- X は、水素又はヒドロカルビルを表し；
- Y は、ヒドロカルビル又は

【化 2 5】



20

を表し；

- R₁、R₂、R₃、R₄、R₅ 及び R₇ のそれぞれは、同じであるか又は異なり、それぞれ独立して、水素又はヒドロカルビルを表し；
- PG は、式 L - 1 における PG 基とは異なる窒素のための開裂可能な保護基を表し；
- n は、0、1、2 又は 3 を表し；
- 環 A は、窒素含有ヘテロ環式基を表し；

各出現において、R₁、R₂、R₃、R₄、R₅、PG 及び A は、同じであっても異なってもよい]

30

によって表される、請求項 1 ~ 34 のいずれかに記載の方法。

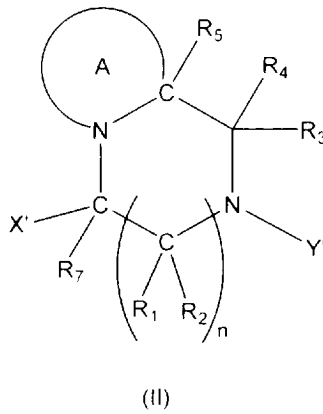
【請求項 36】

保護基 PG の少なくとも 1 つが、第 1 の反応条件下で開裂可能であり、それにより脱保護されたリンカーを生成し、前記脱保護されたリンカーが、第 2 の異なる反応条件下で分子内環化及び開裂を受けることができ、二酸化炭素を放出して、式 (II)：

40

50

【化 2 6】



10

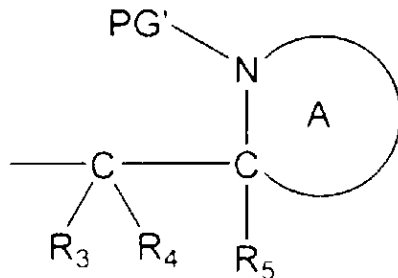
の化合物を生成し、それにより、ヌクレオシドの 5' - OH 基を脱保護し；

式中、

- PG' は、水素、又は窒素のための開裂可能な保護基であり、但し、少なくとも 1 つの PG' は、水素であり；
- Y' は、ヒドロカルビル、又は

20

【化 2 7】



30

を表し；

式中、X、R₁ ~ R₅、R₇、A、M 及び n は、請求項 35 で定義されている通りである、請求項 35 に記載の方法。

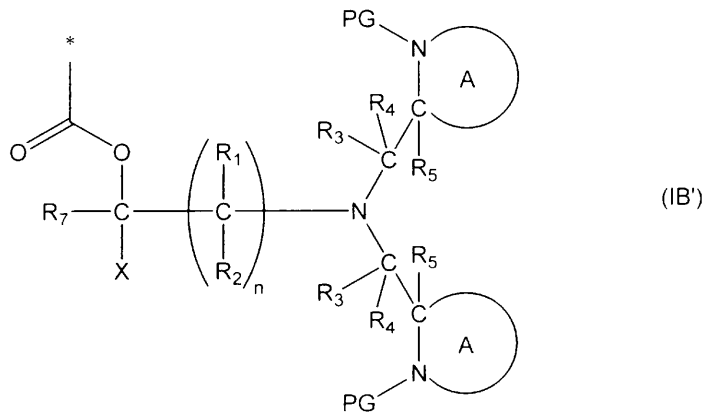
【請求項 37】

5' - OH 保護基が、式 (I B')：

40

50

【化 2 8】



10

[式中、*、X、R₁ ~ R₅、R₇、PG、A、M 及び n は、請求項 35 で定義されている通りである]

を有する、請求項 35 又は 36 に記載の方法。

【請求項 38】

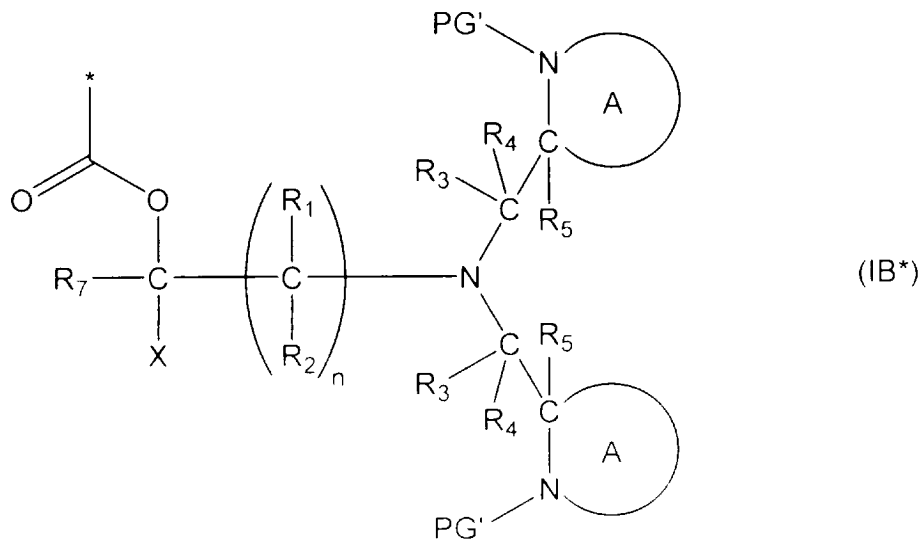
20

R₁ ~ R₅、PG 及び A が、式 (IB) における各出現において同じである、請求項 37 に記載の方法。

【請求項 39】

保護基 PG の少なくとも 1 つが、第 1 の反応条件下で開裂可能であり、それにより式 (IB*) :

【化 2 9】



30

40

[式中、

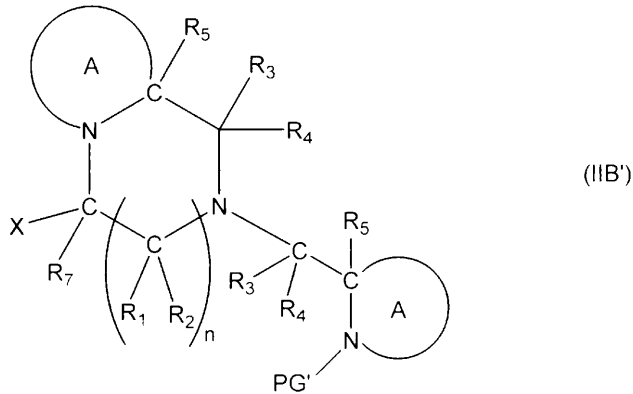
- PG' は、水素、又は窒素のための開裂可能な保護基であり、但し、少なくとも 1 つの PG' は、水素であり；

*、X、R₁ ~ R₅、R₇、A、M 及び n は、請求項 35 で定義されている通りである] の化合物を生成し；

式 (IB*) の化合物が、第 2 の異なる反応条件下で分子内環化及び開裂を受けることができ、二酸化炭素を放出して、式 (IIB') :

50

【化 3 0】



10

の化合物を生成し、それにより、5' - OHにおける前記保護基を除去する、請求項 37 又は 38 に記載の方法。

【請求項 40】

環 A が、4 ~ 12 員の単環式、二環式又は三環式窒素含有ヘテロ環式基を表し、これが、窒素に加えて、N、O 又は S から選択される 1 又は 2 以上の他のヘテロ原子を含有してよい、請求項 32 ~ 39 のいずれかに記載の方法。

20

【請求項 41】

環 A が、4 ~ 8 員の単環式ヘテロ環式基を表す、請求項 32 ~ 40 のいずれかに記載の方法。

【請求項 42】

環 A が、5、6 又は 7 員の単環式ヘテロ環式基を表す、請求項 32 ~ 41 のいずれかに記載の方法。

【請求項 43】

環 A が、ピペリジル、モルホリニル、ピロリジニル、チオモルホリニル及びイミダゾリルから選択されるヘテロ環を表す、請求項 32 ~ 42 のいずれかに記載の方法。

【請求項 44】

環 A が、ピペリジル、ピロリジニル又はイミダゾリルを表す、請求項 32 ~ 43 のいずれかに記載の方法。

30

【請求項 45】

環 A が、ピペリジル又はピロリジニルを表す、請求項 32 ~ 44 のいずれかに記載の方法。

【請求項 46】

- C (R 3) (R 4) の各出現において、R 3 又は R 4 の一方がヒドロカルビルであり、他方が H であるか、或いは R 3 及び R 4 が、各出現において、H を表す、請求項 32 ~ 45 のいずれかに記載の方法。

【請求項 47】

n が、0、1 又は 2 である、請求項 32 ~ 46 のいずれかに記載の方法。

40

【請求項 48】

n が、1 である、請求項 32 ~ 47 のいずれかに記載の方法。

【請求項 49】

X が、H 又はヒドロカルビルであって、前記ヒドロカルビルが、アルキル、アリール及びアリールアルキルからなる群から選択され、又は、前記アルキル、アリール若しくはアリールアルキルが、C 1 - 20、C 1 - 10 若しくは C 1 - 8 であり、又は、X が、H、C 1 - 10 アルキル、C 6 - 10 アリール若しくは C 7 - 12 アリールアルキルであり；又は、X が、H、C 1 - 6 アルキル、C 6 - 10 アリール若しくは C 7 - 12 アリールアルキルであり；特に、X が、H である、請求項 32 ~ 48 のいずれかに記載の方法。

50

【請求項 50】

X が、H 若しくはアリールであり、又は、X が、H 若しくはフェニルである、請求項 49 に記載の方法。

【請求項 51】

R₁ 及び R₂ が、H、アルキル、アリール若しくはアリールアルキルから独立して選択され、又は、前記アルキル、アリール若しくはアリールアルキルが、C₁-20、C₁-10 若しくは C₁-6 であり、又は、R が、H、C₁-10 アルキル、C₆-10 アリール若しくは C₇-12 アリールアルキルであり、又は、R₁ 及び R₂ が、H である、請求項 32 ~ 50 のいずれかに記載の方法。

【請求項 52】

R₃ 及び R₄ が、H、アルキル、アリール若しくはアリールアルキルから独立して選択され、又は、前記アルキル、アリール若しくはアリールアルキルが、C₁-20、C₁-10 若しくは C₁-6 であり、又は、R が、H、C₁-10 アルキル、C₆-10 アリール若しくは C₇-12 アリールアルキルであり、又は、R₁ 及び R₂ が、H である、請求項 32 ~ 51 のいずれかに記載の方法。

【請求項 53】

R₅ が、H である、請求項 32 ~ 52 のいずれかに記載の方法。

【請求項 54】

少なくとも 1 つの保護基 P G の開裂が、pH、温度、放射線によって、若しくは化学的活性剤によって、又はそれらの組合せによって活性化され得る、請求項 32 ~ 53 のいずれかに記載の方法。

【請求項 55】

少なくとも 1 つの保護基 P G の開裂が、pH、温度、化学的活性化剤によって、又はそれらの組合せによって活性化され得る、請求項 32 ~ 54 のいずれかに記載の方法。

【請求項 56】

少なくとも 1 つの保護基 P G が、熱的に開裂可能であり、活性剤の存在下であってもよい、請求項 32 ~ 55 のいずれかに記載の方法。

【請求項 57】

少なくとも 1 つの保護基 P G が、活性剤の非存在下で熱的に開裂可能ではない、請求項 32 ~ 56 のいずれかに記載の方法。

【請求項 58】

活性剤が、酸又は塩基である、請求項 32 ~ 57 のいずれかに記載の方法。

【請求項 59】

P G が、tert-ブチルオキシカルボニル (Boc)、トリチル (Tert)、ベンジルオキシカルボニル、
、
-ジメチル-3,5-ジメトキシベンジルオキシカルボニル (Ddz)、2-(4-ピフェニル)イソプロポキシカルボニル (Bpoc)、2-ニトロフェニルスルフェニル (Nps)、トシル (Ts) から選択される、請求項 32 ~ 58 のいずれかに記載の方法。

【請求項 60】

P G が、(1,1-ジオキソベンゾ [b] チオフェン-2-イル)メチルオキシカルボニル (Bsmoc)、9-フルオレニルメトキシカルボニル (Fmoc)、(1,1-ジオキソナフト [1,2-b] チオフェン-2-イル)メチルオキシカルボニル (Nsmoc)、2-(4-ニトロフェニルスルホニル)エトキシカルボニル (Nsc)、2,7-ジ-tert-ブチル-Fmoc、2-フルオロ-Fmoc、2-モノイソオクチル-Fmoc (mio-Fmoc) 及び 2,7-ジイソオクチル-Fmoc (dio-Fmoc)、2-[フェニル(メチル)スルホニオ]エチルオキシカルボニルテトラフルオロボレート (Pms)、エタンスルホニルエトキシカルボニル (Esc)、2-(4-スルホフェニルスルホニル)エトキシカルボニル (Sps)、アセチル (Ac)、ベンゾイル (Bz)、CF₃C(=O)-トリフルオロアセトアミドから選択される、請求項 32 ~ 59 のいずれかに記載の方法。

10

20

30

40

50

【請求項 6 1】

P G が、B o c、F m o c 及び B s m o c からなる群から選択される、請求項 3 2 ~ 6 0 のいずれかに記載の方法。

【請求項 6 2】

P G が、A l l o c である、請求項 3 2 ~ 6 1 のいずれかに記載の方法。

【請求項 6 3】

少なくとも 1 つの Y 基が、ヒドロカルビルであり、又は、少なくとも 1 つの Y が、アルキル、アルケニル、アリール、アラルキル、アルカリールであり、前記アルキル、アルケニル、アリール、アラルキル若しくはアルカリール基が、末端アルキン基で置換されている、請求項 3 2 ~ 6 2 のいずれかに記載の方法。

10

【請求項 6 4】

少なくとも 1 つの Y 基が、末端アルキニル基で置換されている、アルキル、アルケニル、アリール、アラルキル、アルカリールであり、末端アルキン基が、C₂ - C₆ アルキニル基である、請求項 3 2 ~ 6 3 のいずれかに記載の方法。

【請求項 6 5】

少なくとも 1 つの Y 基が、アルキニル基で置換されているアラルキルであって、又は、1 つの Y 基が、C H₂ - (C₆ H₄) C H C H である、請求項 3 2 ~ 6 4 のいずれかに記載の方法。

【請求項 6 6】

表面が、導電性材料を含む、又は、表面が、金若しくはシリコンを含む、請求項 1 ~ 6 5 のいずれかに記載の方法。

20

【請求項 6 7】

ヌクレオシドの、表面との結合が、官能基化カルベン又は官能基化アルキンとの会合を介する、ものである、請求項 1 ~ 6 6 のいずれかに記載の方法。

【請求項 6 8】

キャッピングステップを伴わない、請求項 1 ~ 6 7 のいずれかに記載の方法。

【請求項 6 9】

オリゴヌクレオチド合成の終わりにオリゴヌクレオチドを脱保護して、各部位において複数の固定されたオリゴヌクレオチドを形成するステップであって、前記オリゴヌクレオチドが、熱的に開裂可能なリンカー基を介して 3' 位において固体基板の表面に結合しているステップをさらに含む、請求項 1 ~ 6 8 のいずれかに記載の方法。

30

【請求項 7 0】

熱的に開裂可能なリンカー基の開裂をさらに含み、それにより、オリゴヌクレオチドを表面から放出する、請求項 6 9 に記載の方法。

【請求項 7 1】

熱的に開裂可能なリンカー基の開裂が、固体基板の表面上の選択された部位において行われ、それにより、オリゴヌクレオチドの選択的放出を提供する、請求項 7 0 に記載の方法。

【請求項 7 2】

オリゴヌクレオチドを放出及びハイブリダイズして核酸を形成するステップと、前記核酸を表面から放出するステップとをさらに含む、請求項 1 ~ 7 1 のいずれかに記載の方法。

40

【請求項 7 3】

固体基板の表面上の複数の部位において、1 又は 2 以上のヌクレオチド、オリゴヌクレオチド又は核酸を含むマイクロアレイであって、前記ヌクレオチド、オリゴヌクレオチド又は二本鎖核酸が、熱的に開裂可能なリンカーによって前記表面に結合している、マイクロアレイ。

【請求項 7 4】

ヌクレオチド、オリゴヌクレオチド又は二本鎖核酸が、請求項 3 2 ~ 3 4 及び 4 0 ~ 6 5 のいずれかに記載の熱的に開裂可能なリンカーによって表面に結合している、請求項 7 3 に記載のマイクロアレイ。

50

【請求項 7 5】

オリゴヌクレオチド、核酸、若しくは、DNA又はXNAを調製するための、請求項 1 ~ 7 2 のいずれかに記載の方法又は請求項 7 3 又は 7 4 のいずれかに記載のマイクロアレイの使用。

10

20

30

40

50