

(19) 日本国特許庁(JP)

## 再公表特許(A1)

(11) 国際公開番号

W02007/026595

発行日 平成21年3月5日(2009.3.5)

(43) 国際公開日 平成19年3月8日(2007.3.8)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
<b>C07D 487/04</b> (2006.01)	C07D 487/04 148	4C050
<b>C07D 519/00</b> (2006.01)	C07D 487/04 CSP	4C072
<b>C08G 69/08</b> (2006.01)	C07D 519/00 311	4J001
	C08G 69/08	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 20 頁)

出願番号 特願2007-533201 (P2007-533201)	(71) 出願人 504261077 大学共同利用機関法人自然科学研究機構 東京都三鷹市大沢二丁目2 1 番 1 号
(21) 国際出願番号 PCT/JP2006/316585	
(22) 国際出願日 平成18年8月24日(2006.8.24)	
(31) 優先権主張番号 特願2005-248586 (P2005-248586)	(71) 出願人 504139662 国立大学法人名古屋大学 愛知県名古屋市千種区不老町 1 番
(32) 優先日 平成17年8月30日(2005.8.30)	
(33) 優先権主張国 日本国(JP)	(74) 代理人 100110249 弁理士 下田 昭
	(74) 代理人 100113022 弁理士 赤尾 謙一郎
	(72) 発明者 片岡 正典 愛知県岡崎市明大寺町字東山5-1 大学 共同利用機関法人自然科学研究機構 岡崎 共通施設内

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 ユニバーサル塩基含有ポリマー

## (57) 【要約】

【課題】 DNA又は天然核酸塩基から成るオリゴヌクレオチドと非特異的に塩基対を形成するポリマーを提供する。

【解決手段】 発明者らが4種のいずれの天然核酸塩基と非特異的に塩基対を形成することを確認した、ピリミド[4,5-d]ピリミジン-2,4,5,7-テトラオンに基づくユニバーサル塩基を用いて、これを重合してユニバーサル塩基含有ポリマーを合成した。このユニバーサル塩基含有ポリマーは天然型オリゴヌクレオチドと複合体を形成することが確認された。

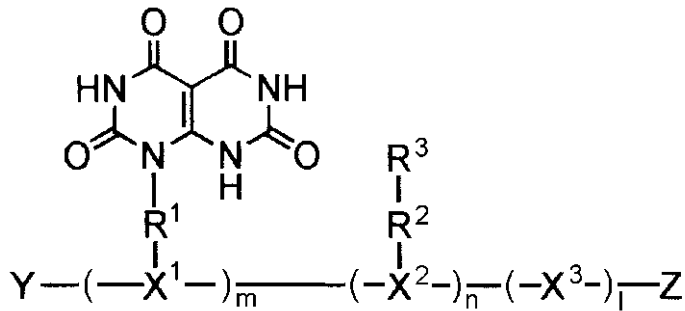
【選択図】 なし

## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

下式

## 【化 1】



10

(式中、 $R^1$  及び  $R^2$  は、それぞれ同じであっても異なってもよく、置換基を有していてもよい炭素数が 1 ~ 18 の炭化水素鎖を表し、 $R^3$  は天然核酸又は非天然核酸を表し、 $X^1$  及び  $X^2$  は、それぞれ同じであっても異なってもよく、 $-N-$  又は  $-CR^4-$  (式中、 $R^4$  は水素原子又は置換基を有していてもよい炭素数 1 ~ 4 のアルキル基を表す。) を表し、 $X^3$  は 2 価のヘテロ原子を含んでもよい炭化水素基、アミノ酸残基若しくはオリゴペプチド残基、核酸残基若しくはオリゴヌクレオチド残基、 $Y$  及び  $Z$  は、それぞれ同じであっても異なってもよく、一価の残基を表し、 $m$  は 1 以上  $n$  は 0 以上で  $m+n$  が約 2 ~ 50 の整数を表し、 $l$  は 0 以上の整数を表す。) で表されるユニバーサル塩基含有ポリマー。

20

## 【請求項 2】

DNA 又は天然核酸塩基から成るオリゴヌクレオチドを含む溶液に請求項 1 に記載のユニバーサル塩基含有ポリマーを混合することによりこれらの塩基対を形成させる方法。

## 【発明の詳細な説明】

## 【技術分野】

## 【0001】

この発明は、DNA 又は天然核酸塩基から成るオリゴヌクレオチドと塩基対を形成することのできる新規なユニバーサル塩基含有ポリマーに関する。

## 【背景技術】

## 【0002】

天然核酸塩基と非特異的に擬似塩基対を形成する人工核酸塩基、即ちユニバーサル塩基を得る試みは多く成されている。しかし、一般にユニバーサル塩基と呼ばれているものはインターカレーターの類であり、これは天然核酸塩基と疑似塩基対を形成することはない。一方、疑似塩基対を形成するユニバーサル塩基としてイノシンをベースとした誘導体が知られているが(特許文献 1、2 等)、グアニンとしてのみふるまうことが最近の研究で明らかとなっている(非特許文献 1)。

30

本発明において、発明者がユニバーサル塩基のベースとして利用したピリミド[4,5-d]ピリミジン-2,4,5,7-テトラオン及びその誘導体は、天然核酸塩基と疑似塩基対を形成するとは考えられていなかった(非特許文献 2)。

40

## 【0003】

【特許文献 1】特表 2005-511096

【特許文献 2】特表 2003-528883

【非特許文献 1】Ohtsuka, E. et al., J. Biol. Chem., 260, 2605-2608(1985)

【非特許文献 2】Niess, R., Robins, R. K. J. Heterocyclic. Chem., 7, 243-244(1970)

## 【発明の開示】

## 【発明が解決しようとする課題】

## 【0004】

従来の核酸塩基と塩基対を形成可能なユニバーサル塩基から成るオリゴヌクレオチドは、ユニバーサル核酸としての機能の実現には至っていなかった。

50

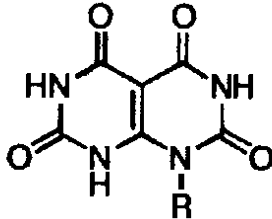
本発明は、DNA又は天然核酸塩基から成るオリゴヌクレオチドと非特異的に塩基対を形成するポリマーを提供することを目的とする。

【課題を解決するための手段】

【0005】

本発明者らは、既にピリミド[4,5-d]ピリミジン-2,4,5,7-テトラオンに基づいて、4種のいずれの天然核酸塩基と非特異的に塩基対を形成することが確認された下式

【化2】



10

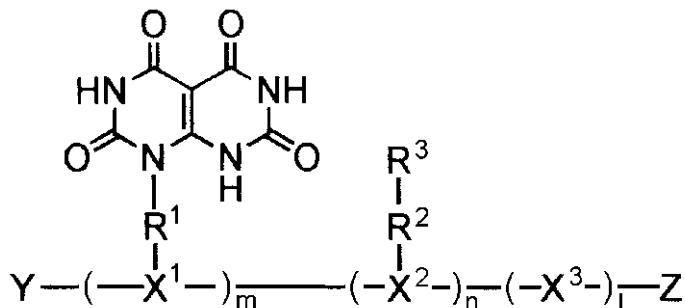
(式中、Rは、水素原子を除く、一価の基を表す。)で表されるユニバーサル塩基を用いて、これをPNA(1991年にNielsenらにより開発された人工核酸で、N-2-アミノエチルグリシンを骨格単位とし、これにメチレンカルボニル基を介して核酸塩基を結合させた構造を持つ。)に結合させ単量体とし、これを重合してポリマーを合成することに成功した。

【0006】

20

即ち、本発明は、下式

【化1】



30

(式中、R<sup>1</sup>及びR<sup>2</sup>は、それぞれ同じであっても異なってもよく、置換基を有していてもよい炭素数が1~18の炭化水素鎖を表し、R<sup>3</sup>は天然核酸又は非天然核酸を表し、X<sup>1</sup>及びX<sup>2</sup>は、それぞれ同じであっても異なってもよく、-N-又は-CR<sup>4</sup>- (式中、R<sup>4</sup>は水素原子又は置換基を有していてもよい炭素数1~4のアルキル基を表す。)を表し、X<sup>3</sup>は2価のヘテロ原子を含んでもよい炭化水素基、アミノ酸残基若しくはオリゴペプチド残基、核酸残基若しくはオリゴヌクレオチド残基、Y及びZは、それぞれ同じであっても異なってもよく、一価の残基を表し、mは1以上nは0以上でm+nが約2~50の整数を表し、lは0以上の整数を表す。)で表されるユニバーサル塩基含有ポリマーである。

40

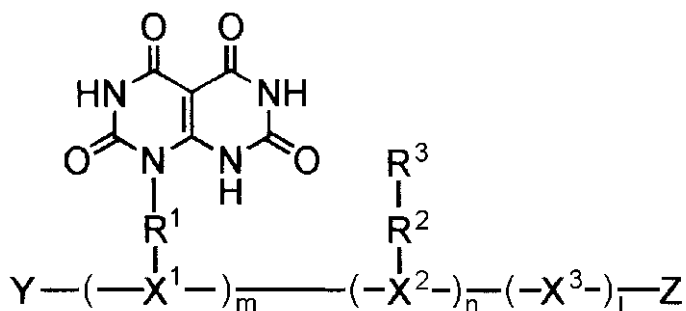
更に、本発明は、DNA又は天然核酸塩基から成るオリゴヌクレオチドを含む溶液にこのユニバーサル塩基含有ポリマーを混合することによりこれらの塩基対を形成させる方法である。

【発明を実施するための最良の形態】

【0007】

本発明のユニバーサル塩基含有ポリマーは下式で表される。但し、この一般式は単に組成を示し、構造を示すものではない。即ち、各単位はランダムに結合していてもよい。

## 【化1】



10

R<sup>1</sup> 及び R<sup>2</sup> は、ポリマーの主鎖にユニバーサル塩基、天然塩基又はその他の基を結合させるための2価の鎖であり、その機能を果たせば構造に特に制限はない。即ち、R<sup>1</sup> 及び R<sup>2</sup> は、それぞれ同じであっても異なってもよく、置換基を有していてもよい炭素数が1~18の炭化水素鎖を表す。置換基としては、水酸基、アミノ基、チオール基、アルコキシ基、カルボキシル基、カルバモイル基、エステル基、ヘテロ原子(S, O, Nなど)を含んでもよい炭化水素基、例えば、アルキル基、アルケニル基、アルキニル基、アリール基、複素環基などが挙げられ、また、鎖の途中にカルボニル、イミド、カーボナート、エステル、ウレタン、アミド、アミン、エーテル、スルフィド、ジスルフィド、スルホキシド、スルホン等を有していてもよい。

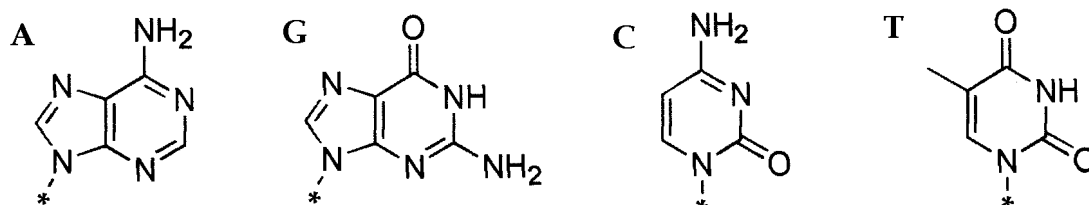
20

## 【0008】

このポリマーは塩基対を形成するためにユニバーサル塩基のみを有していてもよいが、天然核酸や本発明のユニバーサル塩基以外の非天然核酸を有していてもよい。

R<sup>3</sup> は天然核酸又は非天然核酸を表す。天然核酸としては、下式

## 【化3】



30

(式中、\*は結合手を表す。)に示すようなアデニン(A)、グアニン(G)、シトシン(C)又はチミン(T)に適当な結合手を設けたものでもよい。また、非天然核酸としてイノシンをベースとしたユニバーサル塩基(特表2005-511096、特表2003-528883等)を用いてもよい。

## 【0009】

X<sup>1</sup> 及び X<sup>2</sup> は、上記のユニバーサル塩基や、天然核酸又は非天然核酸をポリマー主鎖に結合させるものであり、それぞれ同じであっても異なってもよく、-N-又は-CR<sup>4</sup>-を表す。ここでR<sup>4</sup>は水素原子又は置換基を有していてもよい炭素数1~4のアルキル基を表す。このアルキル基は、枝分かれ構造であってもよい。この置換基としては、水酸基、チオール基、アミノ基、カルボキシル基、カルバモイル基、グアニジル基、アリール基、複素環基などが挙げられる。

40

## 【0010】

X<sup>3</sup> は、2価のヘテロ原子を含んでもよい炭化水素基、アミノ基、アミノ酸残基若しくはオリゴペプチド残基、核酸残基若しくはオリゴヌクレオチド残基など、又はこれらの組み合わせであってもよい。

また、ポリマーの主鎖に、ポリスチレン、ポリエチレン、ポリアセチレン、ポリエーテル、ポリウレタン、ポリアミド、ポリエステルなどの合成ポリマーや天然ポリマーなどを含んでいてもよい。この場合には、上記炭化水素基としてはこれらのモノマーを用いればよい。

## 【0011】

50

Y及びZは、ポリマーの末端であり、特に制限はない。即ち、Y及びZは、それぞれ同じであっても異なってもよく、一価の残基を表す。Y及びZとしては、例えば、末端がアミノ基あるいはヒドロキシル基の1-18炭素数の直鎖あるいは分岐鎖アルキル基等が挙げられる。

またY及びZは、本発明のユニバーサル塩基含有ポリマーを個体担体に結合させて用いる場合には、固体担体であってもよい。このような固体担体としては、スチレンビーズ、ポリエチレングリコールをグラフト重合させたポリスチレンビーズ (TentaGel (R))、ポリエチレングリコール、ポリウレタン、フッ素樹脂、ポリオレフィン、ガラス、シリカゲル、ブチルゴム、シリコン樹脂、セルロース、金、カーボン等が挙げられる。

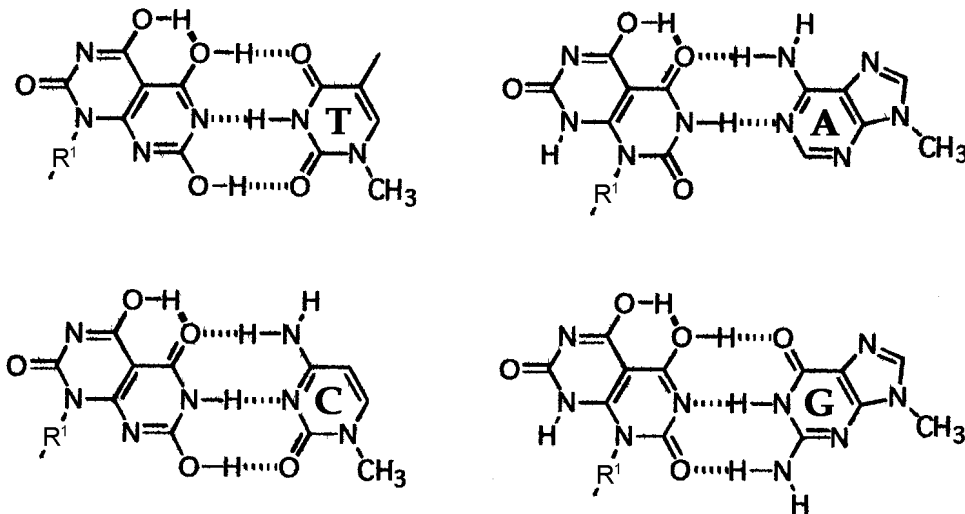
mは1以上nは0以上でm+nが約2~50、好ましくは約5~30、より好ましくは約10~25の整数を表し、lは0以上の整数を表す。

10

#### 【0012】

本発明のユニバーサル塩基含有ポリマーに含まれるユニバーサル塩基は、その結合を軸とした回転により、プリン型、ピリミジン型の両塩基になりうる。即ち、下式に示すように、相対する塩基がアミジン型の塩基であるアデニン (A) 又はシトシン (C) の場合はアミド型の配置、アミド型塩基であるグアニン (G) 又はチミン (T) の場合はアミジン型配置をとり、すべての天然核酸塩基と塩基対を形成することができる。

#### 【化4】



20

30

(式中、R<sup>1</sup>は、上記と同様を表す。)

従って、本発明のユニバーサル塩基含有ポリマーはDNA又は天然核酸塩基から成るオリゴヌクレオチドと非特異的に塩基対を形成することができる。

本発明のユニバーサル塩基含有ポリマーをDNA等と塩基対を形成させる場合に用いる溶媒は、一般的には非プロトン性有機溶媒が好ましいが、生体内で使うことを想定した場合には緩衝液、オリゴヌクレオチドの合成や利用を考えた場合は水やアルコール、ヌクレオチドの吸着を考えた場合にはDMSOやDMFが好ましい。この塩基対形成においてはユニバーサル塩基含有ポリマーやDNA等の濃度は通常1mM程度である。

40

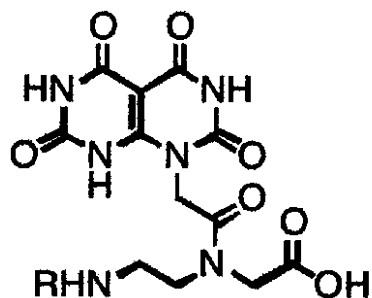
#### 【実施例】

#### 【0013】

以下、実施例にて本発明を例証するが本発明を限定することを意図するものではない。

ユニバーサル塩基含有オリゴマーを合成するため、ユニバーサル塩基 (化2) をPNAに結合させて単量体とした。即ち、下式 (化5) で表されるユニバーサル塩基含有モノマー (以下「PPT」という。) を用いた。このモノマーの合成法は後記の合成例1に記す。

【化5】

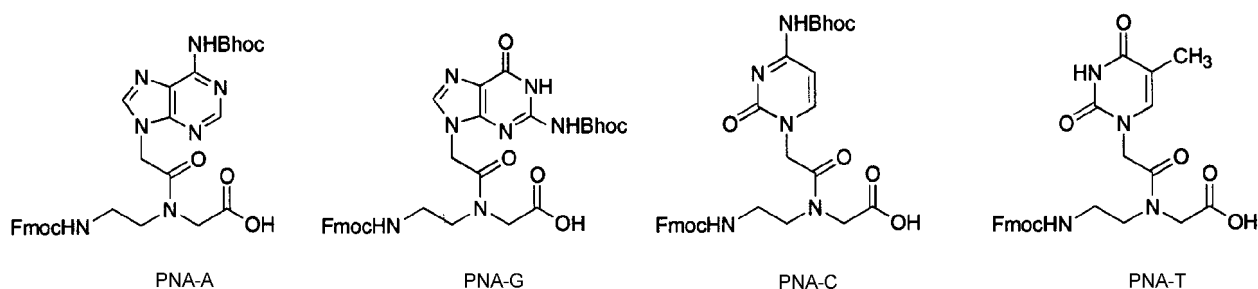


【0014】

10

次に天然塩基として下式のPNA-A~T(アプライドバイオシステムズジャパン社製、PNA-A:GEN063014, PNA-G:GEN063016, PNA-C:GEN063015, PNA-T:GEN063017)(以下「PNAモノマー」という。)を用いた。

【化6】



20

\* Fmoc: fluorenylmethyloxycarbonyl, Bhoc: benzylhydroxycarbonyl

【0015】

#### 実施例 1

ユニバーサル塩基含有オリゴマーを、マニュアル固相合成法にて合成し、固相担体は TENTA GEL S RAM(渡辺化学社製A00213、0.27 mmol/g)を用いた。合成オリゴマーの溶解性の向上と自己会合の抑制を図るためにリシンを導入した。固相担体を30% piperidine/DMF 処理後、Fmoc-Lys(Boc)-OH(渡辺化学社製、K00443)(10 equiv)、PyBOP((benzotriazol-1-yl)oxy)tripyrrolidino-phosphonium hexafluorophosphate、Novabiochem社製 01-62-0016)(10 equiv)、HOBT(1-hydroxybenzotriazole、Nacalai tesque社製 18513-24)(10 equiv)、Nメチルモルホリン(NMM,20 equiv)をあらかじめジメチルアセトアミド(DMA、和光純薬工業社製)中で反応させておいたものを用いてカップリングさせることによりリシンを導入した。反応の進行はKaiser testにより確認した。(Kaiser test: negative)

30

【0016】

続く固相合成は表1に従って行った。反応は全て室温(25 )で行った。

【表 1】

## Reaction Sequence of the Solid-Phase Synthesis

step	operation	reagent(s)	time (h)
1	washing	DMF, 30% piperidine/DMF	
2	deprotect	30% piperidine/DMF	0.5
3	washing	DMF, DMA	
4	coupling	PNA monomer (3 equiv)/ PyBOP (3 equiv)/HOBT (3 equiv)/ NMM (6 equiv)/DMA	2-3
5	washing	DMF	
6	capping	0.5 M Ac <sub>2</sub> O/pyridine-DMF (v/v = 1:1)	0.5

10

step 1~6を繰り返すことにより鎖長反応を行った。この鎖長反応において、PNAモノマー (PNA monomer)として、1-3サイクルは上記PNA-T、4サイクルは上記ユニバーサル塩基含有モノマー、5-7サイクルはPNA-Tを使用した。

20

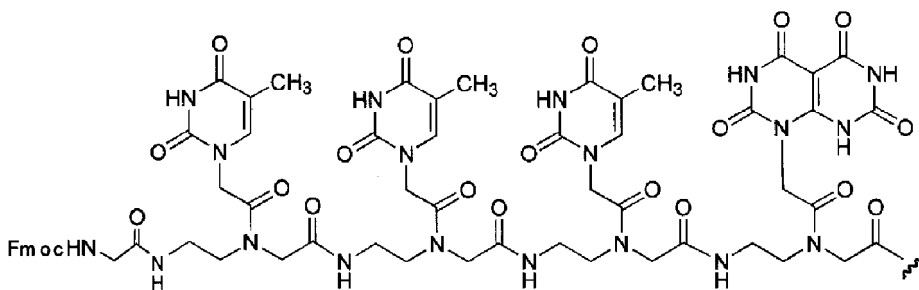
## 【 0 0 1 7 】

各反応の進行は、kaiser test により確認した。最後のモノマーを導入・Fmoc 基の脱保護後、N 末端アミノ基のアシル転位からの環状アミド生成による自己崩壊を防ぐために、Fmoc-Gly-OH (NovaBiochem社製、04-12-1001) (10 equiv)、PyBOP(10 equiv)、HOBT(10 equiv)、NMM(20 equiv)を用いてグリシンを導入した。固相担体から切り出した後の合成オリゴマーの精製を容易にするために、グリシンの Fmoc 基はそのままにしておいた。

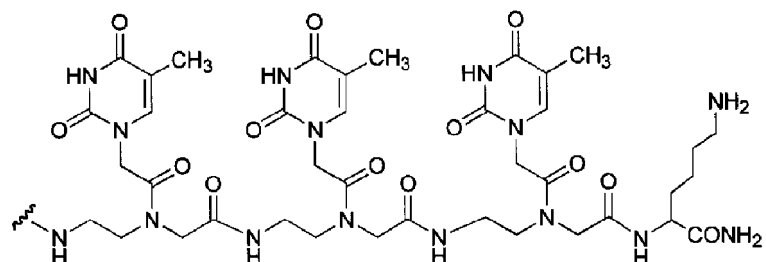
固相担体からの切り出しにはトリフルオロ酢酸を用いた(2 h)。これによりC末端のリシンのアミノ基を保護しているBoc 基も除去できた。得られたオリゴマーを、逆相分取カラム COSMOSIL 5C<sub>18</sub>-AR-300を用いることにより精製し、下式で表されるH<sub>2</sub>N-Lys-TTT(PPT)TT-Gly-NHFmoc(m/z 1179.66; Calcd for(C<sub>101</sub>H<sub>124</sub>N<sub>34</sub>O<sub>34</sub>)(M + 2H<sup>+</sup>): m/z 1179.45)を得た。

30

## 【化 7】



40



## 【 0 0 1 8 】

50

さらに得られたオリゴマーを 20% piperidine/water で処理し Fmoc基を脱保護した後に、上記同様の逆相分取カラムを用いて精製することにより、目的とする PNA オリゴマー  $\text{H}_2\text{N-Lys-TTT(PPT)TTT-Gly-NH}_2$  ( $m/z$  1068.63; Calcd for  $(\text{C}_{86}\text{H}_{114}\text{N}_{34}\text{O}_{32})(\text{M} + 2\text{H}^+)$ :  $m/z$  1068.42) を 47% の収率で得ることができた。

精製後のこのオリゴマーの高速液体クロマトグラフ (HPLC) を下記条件で測定した。

HPLC装置：日本分光社製 Gulliver 高圧グラジエントシステム

カラム：COSMOSIL 5C18-MS column

溶出液：溶出液 A 0.1% TFA/water; 溶出液 B 0.1 %

trifluoroacetic acid/acetonitrile を用い、A液をB液に対して0-100% まで35分かけて直線勾配した。

溶出速度 1 mL/分

分析温度：55

UV検出波長 UV：260 nm

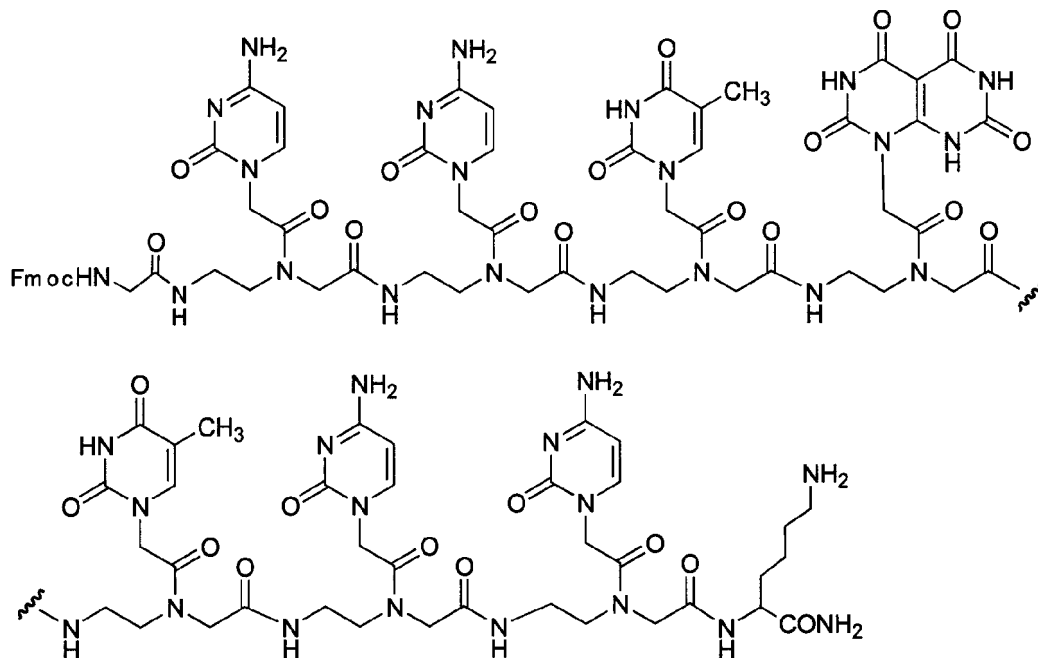
そのHPLCチャートを図1に示す。図中の大きなピークが目的のオリゴマーを示すものであり、他のピークはほとんど検出されないことから、得られたオリゴマーの純度が高いことが分かる。

【0019】

### 実施例 2

本実施例では、実施例1と同様に、下式 ( $\text{H}_2\text{N-Lys-CCT(PPT)TCC-Gly-NH}_2$ ) で表されるユニバーサル塩基含有オリゴマーを合成した。

【化8】



【0020】

モノマーとしては、上記PPT(ユニバーサル塩基含有モノマー)とPNAモノマーを用い、固相合成を表2に従って行った。

10

20

30

40



【表 2】

## Reaction Sequence of the Solid-Phase Synthesis

step	operation	reagent(s)	time
1	washing	DMF, 0.21 M piperidine, 0.14 M DBU in DMF	
2	deprotect	0.21 M piperidine, 0.14 M DBU in DMF	14 min
3	washing	DMF, 10.4 M NMP/DMF	
4	coupling	monomer (3.0 equiv), HATU (2.7 equiv), DIPEA (3.3 equiv), 2,6-lutidine (3.3 equiv) in 10.4 M NMP/DMF	1.5-2.0 h
5	washing	DMF	
6	capping	0.59 M Ac <sub>2</sub> O, 0.58 M 2,6-lutidine in DMF	10 min

10

1,2,6,7サイクルはPNA-C、3,5サイクルはPNA-T、4サイクルはユニバーサル塩基含有モノマーを使用した。

質量分析の結果はm/z 1038.5; Calcd for (C<sub>82</sub>H<sub>110</sub>N<sub>38</sub>O<sub>28</sub>) (M+2): m/z 1038.4であった。

20

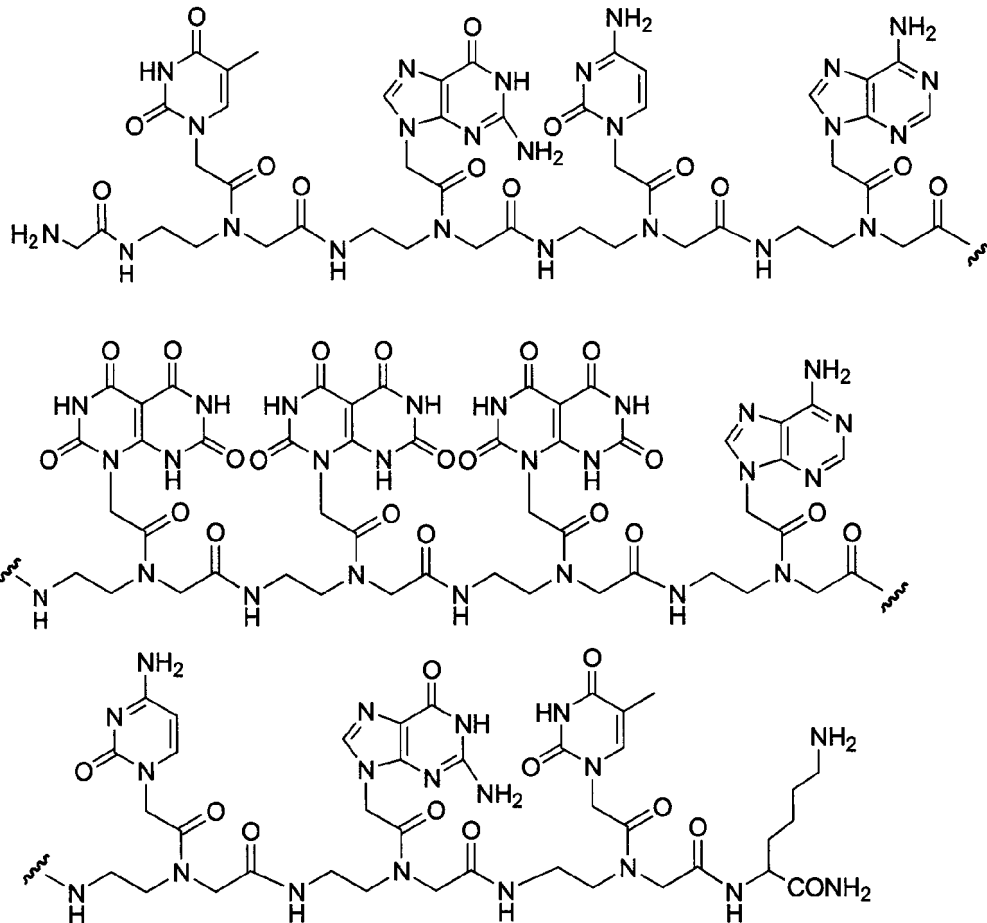
このオリゴマーのHPLCを実施例1と同様に測定した。そのHPLCチャートを図2に示す。図中の大きなピークが目的のオリゴマーを示すものであり、他のピークはほとんど検出されないことから、得られたオリゴマーの純度が高いことが分かる。

【0021】

## 実施例3

本実施例では、実施例2と同様に、下式(H<sub>2</sub>N-Lys-TGCA(PPT)(PPT)ACGT-Gly-NH<sub>2</sub>)で表されるユニバーサル塩基含有オリゴマーを合成した。

## 【化9】



10

20

## 【0022】

モノマーとしては、上記PPT(ユニバーサル塩基含有モノマー)と上記PNAモノマーを用い、固相合成を表2に従って行った。1, 11サイクルはPNA-T、2, 10サイクルはPNA-G、3, 9サイクルはPNA-C、4, 8サイクルはPNA-C、5, 6, 7サイクルはユニバーサル塩基含有モノマーを使用した。

30

質量分析の結果は $m/z$  1126.74; Calcd for  $(C_{130}H_{160}N_{68}O_{44})$  (M+3):  $m/z$  1126.76であった。

このオリゴマーのHPLCを実施例1と同様に測定した。そのHPLCチャートを図3に示す。図中の大きなピークが目的のオリゴマーを示すものであり、他のピークはほとんど検出されないことから、得られたオリゴマーの純度が高いことが分かる。

## 【0023】

## 実施例4

本実施例では、実施例2で作製したユニバーサル塩基含有オリゴマー( $H_2N$ -Lys-CCT(PP T)TCC-Gly-NH<sub>2</sub>)と天然型オリゴヌクレオチドとの複合体形成実験を行った。

40

天然型オリゴヌクレオチドとして、デオキシリボオリゴヌクレオチドd(GGAXAGG) ( $x = A, G, C$  or  $T$ ) (ODN、ジーンデザイン社より購入)を用いた。

これらを用いて、複合体形成と複合体の安定性について温度勾配UVスペクトル測定による融解曲線と変曲点の温度(融解温度、 $T_m$ )を指標として調査した。

温度勾配UVスペクトル測定はペルチェ式温度コントローラーETC-505Tを装備した日本分光社製V-550スペクトロメータを用いて、10 mMリン酸緩衝液(pH 7.0)に4.0  $\mu$ MのPNA-ODN混合物(1:1)を溶解した溶液を95 °Cで5分間インキュベーション、8時間以上かけて室温まで戻した後に5 °C/minで70 °Cまで昇温させて、その過程を1 °C毎にサンプリングし、紫外領域の吸光度変化を下記の条件で測定した。

- 測定装置 JASCO V-550 SERIAL NO. C02951260

50

- 温度コントローラー JASCO ETC-505T
- セル GL Science Type : M25-B (光路長 10mm)
- 測定波長 : 260nm

溶液温度に対して吸光度をプロットして得られるグラフを解析した。

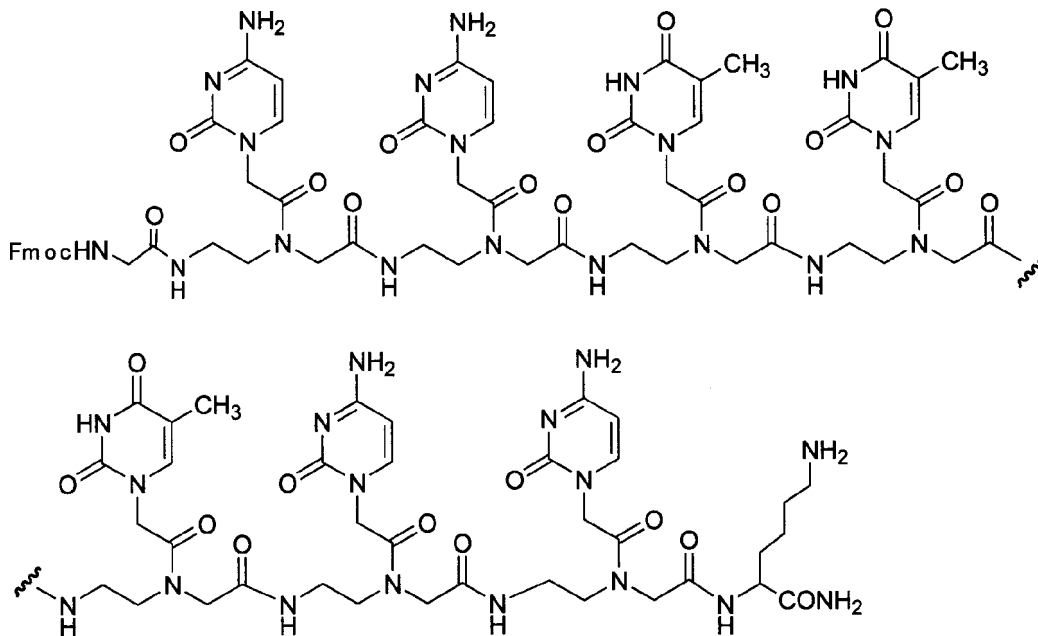
吸光度変化を図5に示す。いずれのPNA-ODN混合溶液においても融解曲線が得られ、融解温度は32.4-20.8 まで様々であるがPNA-ODN複合体の形成が示唆され、ユニバーサル塩基として機能していることが明らかとなった。この結果はユニバーサル塩基含有PNAが配列未特定部を含む遺伝子に対するプローブとして有効であることを示している。

【0024】

#### 比較例 1

本比較例では、PPT(ユニバーサル塩基含有モノマー)を用いずに、実施例2と同様に、下式 ( $H_2N-Lys-CCTTTC-Gly-NH_2$ ) で表される天然型オリゴヌクレオチドを合成した。

【化10】



モノマーとしては、上記PNAモノマーを用い、固相合成を表2に従って行った。1,2,6,7 サイクルはPNA-C、3,5サイクルはPNA-Tを用いた。

質量分析の結果は $m/z$  1003.45; Calcd for  $(C_{82}H_{110}N_{38}O_{28})(M+2)$ :  $m/z$  1003.43であった。

このオリゴマーのHPLCを実施例1と同様に測定した。そのHPLCチャートを図4に示す。図中の大きなピークが目的のオリゴマーを示すものであり、他のピークはほとんど検出されないことから、得られたオリゴマーの純度が高いことが分かる。

【0025】

#### 比較例 2

更に、比較例1で得た天然型オリゴヌクレオチドを用いて、実施例4と同様に複合体形成実験を行った。

天然塩基のみで構成されたPNAと配列中1カ所のみ塩基を入れ換えた4種のODNの温度勾配UVスペクトル解析において、図6に示す通り相補的な組み合わせ(マッチ)においては融解曲線が得られ、 $T_m$ が29.1 を示すのに対して、相補的でない組み合わせ(ミスマッチ)のいずれの場合においても融解曲線は得られないことから、ミスマッチではPNA-ODN複合体が形成していないことが示唆される。

【0026】

#### 合成例 1

この合成例では、ユニバーサル塩基含有モノマーを合成した。この反応スキームを図7と図8に示す。

10

20

30

40

50

## 【 0 0 2 7 】

1 - ヒドロキシエチル - 6 - アミノウラシル (化合物 1) の合成

フッ素樹脂コートした撹拌子を備えた 200 mL ナス型フラスコに、無水エタノール 90 mL を加え氷浴中撹拌しながら金属ナトリウム 2.8 g (120mmol) を注意深く加え、完全に溶解するまで撹拌した。その後、2 - ヒドロキシエチルウレア 6.3 g (60mmol) とシアノ酢酸エチル 6.4 mL (60mmol) を加え、7 時間還流させた。得られた反応溶液をろ過した後、エタノールで洗い、水に溶解させて 1.0 M 希塩酸で中和した後にろ過をし、得られる白色固体を水で再結晶させることにより、白色結晶として化合物 1 を得た (6.1g, 35.6mmol、収率 59.4%) ;  $^1\text{H NMR}$  (DMSO- $d_6$ , 400 MHz): 3.54 (t, 2H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2$ , 9.6 Hz), 3.83 (t, 2H,  $\text{CH}_2\text{OH}$ , 9.6 Hz), 4.57 (br, 1H,  $\text{CHCNH}_2$ ), 5.09 (br, 1H, OH), 6.61 (br, 2 H,  $\text{NH}_2$ ), 10.32 (br, 1H, NH);  $^{13}\text{C NMR}$  (DMSO- $d_6$ , 100MHz): 44.13 ( $\text{NaC}_2\text{CH}_2$ ), 59.28 ( $\text{C H}_2\text{OH}$ ), 76.52 ( $\text{CHCNH}_2$ ), 151.87, 157.04, 162.89。

10

## 【 0 0 2 8 】

1-(2-t-ブチルジフェニルシラニロキシ)エチル-6-アミノウラシル (化合物 2) の合成

フッ素樹脂コートした撹拌子を備えた 50 mL ナス型フラスコに、上記で得た化合物 1 を 1.0 g (5.8 mmol), t-ブチルジフェニルクロロシラン (東京化成製、1.7 mL, 6.4 mmol), イミダゾール (ナカライ製、875 mg, 12.8 mmol), ジメチルホルムアミド (キシダ製) 6 mL を加え、60 で 1.5 時間反応させた後、撹拌している水 1 L 中に、パストゥールピペットを用いてゆっくり滴下した。しばらく撹拌した後、ろ過し、乾燥させることにより、白色固体として化合物 2 を得た (2.2 g, 5.4 mmol, 収率 92.0%)。

20

$^1\text{H NMR}$  (DMSO- $d_6$ , 400 MHz): 0.96 (s, 9H,  $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ), 3.76 (br, 2H,  $\text{NCH}_2$ ), 4.04 (br, 2H,  $\text{CH}_2\text{OH}$ ), 4.60 (br, 1H,  $\text{CHCNH}_2$ ), 6.70 (br, 2H,  $\text{NH}_2$ ), 7.41 (m, 6H), 7.58 (m, 4H), 10.32 (br, 1H, NH);  $^{13}\text{C NMR}$  (DMSO- $d_6$ , 100 MHz): 19.11 ( $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$ ), 26.92 ( $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$ ), 42.06 ( $\text{NCH}_2\text{CH}_2$ ), 61.55 ( $\text{NCH}_2\text{CH}_2$ ), 76.15 ( $\text{CHCNH}_2$ ), 127.96, 128.33, 130.33, 130.08, 134.94, 135.48, 151.85, 158.75, 162.94

## 【 0 0 2 9 】

(6-アミノ-1-[2-(t-ブチルジフェニルシラニロキシ)-エチル]-2,4-ジオキソ-1,2,3,4-テトラヒドロピリミジン-5-カルボニル)カルバミン酸エチルエステル (化合物 3) の合成

フッ素樹脂コートした撹拌子を備えた 100 mL ナス型フラスコに、上記で得た化合物 2 を 13.7 g (33.3 mmol) とジメチルホルムアミド (40 mL) を加え、室温下で撹拌しながら滴下漏斗でイソシアナトギ酸エチル 3.9 g (東京化成製、33.9 mmol) を 30 分かけて滴下した。その後、室温で 24 時間撹拌し、減圧濃縮し、減圧乾燥させ、酢酸エチルで洗浄することにより白色固体として化合物 3 を得た (7.0 g, 13.3 mmol, 収率 40.1%)。

30

$^1\text{H NMR}$  (DMSO- $d_6$ , 400 MHz): 0.94 (s, 9H,  $\text{Si}(\text{CH}_3)_3$ ), 1.22 (t, 3H,  $\text{OCH}_2\text{CH}_3$ , 7.2 Hz), 3.81 (br, 2H,  $\text{NCH}_2$ , 4.8 Hz), 4.12 (q, 2H,  $\text{OCH}_2\text{CH}_3$ , 4.8 Hz), 4.18 (t, 2H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2$ , 4.8 Hz), 7.42 (m, 6H), 7.53 (m, 4H), 8.36 (br, 1H), 10.85 (br, 1H), 11.35 (br, 1H), 12.39 (br, 1H);  $^{13}\text{C NMR}$  (DMSO- $d_6$ , 100 MHz): 14.68 ( $\text{OCH}_2\text{CH}_3$ ), 19.05 ( $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$ ), 26.89 ( $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$ ), 43.12 ( $\text{NCH}_2$ ), 60.61 ( $\text{OCH}_2\text{CH}_3$ ), 61.12 ( $\text{NCH}_2\text{CH}_2$ ), 81.06 ( $\text{COCCO}$ ), 128.30, 130.39, 132.94, 135.42, 148.77, 150.77, 159.94, 164.45, 166.23

40

## 【 0 0 3 0 】

1-[2-(t-ブチルジフェニルシラニロキシ)-エチル]-1H,8H-ピリミド[4,5-d]ピリミジン-2,4,5,7-テトラオン (化合物 4) の合成

フッ素樹脂コートした撹拌子を備えた 50 mL ナス型フラスコに、無水エタノール (ナカライ製) 20 mL を加え氷浴中撹拌しながら金属ナトリウム 60 mg (ナカライ製、2.6 mmol) を注意深く加え、完全に溶解するまで撹拌した。その後、上記で得た化合物 3 を 600 mg (1.1 mmol) を加え、17 時間還流させた。得られた反応溶液をろ過することにより得られる固体を 1.0 M 希塩酸で洗い、減圧乾燥させることにより、白色固体として化合物 4 (P P T) を得た (500 mg, 1.0 mmol, 収率 91.6%)。

$^1\text{H NMR}$  (DMSO- $d_6$ , 400 MHz): 0.94 (s, 9H,  $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$ ), 3.83 (t, 2H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2$ ), 4.

50

23 (t, 2H, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 7.38 (m, 6H), 7.57 (m, 4H), 9.79 (br, 1H), 10.53 (br, 1H);  
<sup>13</sup>C NMR (DMSO-d<sub>6</sub>, 100 MHz): 19.16 (SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 27.03 (SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 42.27 (NCH<sub>2</sub>),  
 61.12 (NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 86.04 (COCCO), 128.26, 130.14, 133.56, 135.43, 151.56, 157.8  
 6, 161.62, 162.60, 164.78; MS (ESI+) 479.21 (M +H+ calcd 479.17)

【 0 0 3 1 】

1-ヒドロキシエチル-1H,8H-ピリミド [4,5-d] ピリミジン -2,4,5,7-テトラオン (化合物 5) の合成

フッ素樹脂コートした撹拌子を備えた 10 mL ふた付きプラスチック容器に、上記で得た化合物 4 (1.7 g, 3.6 mmol) とトリエチルアミン三フッ化水素酸 5 mL (30.7 mmol) を加え、室温下で 24 時間撹拌させた。得られた反応溶液を、2M KOH 水溶液の中に、酸性にならないように注意深く加え、最終的に 2M HCl 水溶液で中和した後にろ過、ジエチルエーテルで洗浄することにより、白色固体として化合物 5 (700 mg, 2.9 mmol, 収率 82.1%) を得た; <sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>, 400 MHz): 3.49 (br, 2H, NCH<sub>2</sub>), 4.02 (br, 2H, CH<sub>2</sub>OH), 4.88 (br, 1H, OH), 9.44 (br, 1H), 10.20 (br, 1H); <sup>13</sup>C NMR (DMSO-d<sub>6</sub>, 100 MHz): ? 40.04 (NCH<sub>2</sub>), 58.84 (CH<sub>2</sub>OH), 86.05 (COCCO), 151.47, 157.87, 161.30, 162.69, 164.45; MS (ESI+) 241.06 (M +H+ calcd 241.05)。

10

【 0 0 3 2 】

2,4,5,7-テトラオキソ-3,4,5,6,7,8-ヘキサヒドロ-2H-ピリミド [4,5-d] ピリミジ -1-ニル酢酸 (化合物 6) の合成

フッ素樹脂コートした撹拌子を備えた 300 mL ナス型フラスコに、上記で得た化合物 5 (1.0 g, 4.2 mmol)、2,2,6,6-テトラメチル-1-ピペリジニオキシ、フリーラジカル (TEMPO) 698 mg (4.2 mmol) と臭化ナトリウム 922 mg (8.4 mmol) を入れた後に 0.4 M 水酸化ナトリウム水溶液を加え pH を 11 に調整し、完全に TEMPO が溶解するまで室温で撹拌した後、反応溶液に次亜塩素酸ナトリウム 11% 水溶液 5.4 mL (8.4 mmol) を加え室温で 1.5 時間撹拌した。pH を 11 に維持するために時折 0.4 M 水酸化ナトリウム水溶液を加えた。反応終了後、エタノールを加えることにより得られる固体を水に溶かして氷浴にうつし、pH が 1 になるまで 2 M 塩酸を加えて 1 時間そのまま放置した。析出した固体をろ過することにより、白色固体として化合物 6 (530.3 mg, 2.1 mmol, 収率 50.0%) を得た; <sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>, 400 MHz): 4.71 (s, 2H, CH<sub>2</sub>CO), 11.05 (br, 1H, NH), 11.24 (br, 1H, NH), 11.45 (br, 1H, NH), 13.25 (br, 1H, COOH); <sup>13</sup>C NMR (DMSO-d<sub>6</sub>, 100 MHz): 44.59 (NCH<sub>2</sub>), 87.45 (COCCO), 149.61, 150.33, 155.40, 158.51, 159.70, 169.14 (COOH); MS (ESI+) 255.04 (M +H+ calcd 255.03)。

20

30

【 0 0 3 3 】

tert-ブチル N-[2-(N-9-フルオレニルメトキシカルボニル)アミノエチル]-N-[(2,4,5,7-テトラオキソ-3,4,5,6,7,8-ヘキサヒドロ-2H-ピリミド [4,5-d] ピリミジ -1-ニル酢酸 (化合物 9) の合成

フッ素樹脂コートした撹拌子を備えた 50 mL ナス型フラスコに、上記で得た化合物 6 (723 mg, 2.8 mmol)、tert-ブチル N-[2-(N-9-フルオレニルメトキシカルボニル)アミノエチル] グリシネート (化合物 7) 1.1 g (2.8 mmol) と 1-(3-ジメチルアミノプロピル)-3-エチルカルボジイミド塩酸塩 (化合物 8) 1.1 g (5.6 mmol) を加え、DMF (ナカライ製) 中室温で 24 時間撹拌した。得られた反応溶液を減圧濃縮した後、水を加えることにより得られる白色固体をシリカゲルクロマトグラフィーで精製することにより、白色固体としてブチルエステル体 (化合物 9) (1.3 g, 2.1 mmol, 収率 73.5%) を得た; <sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>, 500 MHz): 1.37-1.45 (m, 9H, C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 3.09-3.42 (m, 4H, NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N), 3.89-3.92 (br, 1H, Fmoc-H9), 4.14-4.33 (m, 4H, NCH<sub>2</sub>COO and Fmoc-CH<sub>2</sub>O), 4.73-4.94 (m, 2H, NCH<sub>2</sub>CON), 7.30-7.41 (m, 5H, NHCOO and Fmoc-H3, H4, H5, H6), 7.66-7.68 (m, 2H, Fmoc-H2, H7), 7.86-7.88 (m, 2H, Fmoc-1H, 8H), 10.11-10.95 (br, 2H, NH); MS (ESI+) 633.29 (M +H+ calcd 633.23)。

40

【 0 0 3 4 】

N-[2-(N-9-フルオレニルメトキシカルボニル)アミノエチル]-N-[(2,4,5,7-テトラオキソ-

50

### 3,4,5,6,7,8-ヘキサヒドロ-2H-ピリミド [4,5-d] ピリミジ -1- ニル酢酸 (化合物 10) の合成

フッ素樹脂コートした撹拌子を備えた 100 mL ナス型フラスコに、上記で得た化合物 9 (1.9 g, 3.0 mmol) とジクロロメタン 10 mL を入れ撹拌しながらトリフルオロ酢酸 20 mL (250 mmol) を加え室温で 24 時間撹拌した。得られた反応溶液を減圧濃縮した粗生成物をメタノール-ジエチルエーテルで再沈澱させることにより、白色固体として化合物 10 (1.5 g, 2.6 mmol, 収率 86.7%) を得た;  $^1\text{H NMR}$  (DMSO- $d_6$ , 400 MHz): 3.10-3.64(m, 4H,  $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ), 3.99(br, 1H, Fmoc-H9), 4.23-4.37(m, 4H,  $\text{NCH}_2\text{COO}$  and Fmoc- $\text{CH}_2\text{O}$ ), 4.79-4.97(m, 2H,  $\text{NCH}_2\text{CON}$ ), 7.28-7.46(m, 5H,  $\text{NHCoo}$  and Fmoc-H3, H4, H5, H6), 7.65-7.69(m, 2H, Fmoc-H2, H7), 7.87-7.91(m, 2H, Fmoc-1H, 8H), 10.68(br, 1H, NH), 11.16(br, 1H, NH), 12.66(br, 1H, COOH); MS(ESI+) 577.19(M +H+ calcd 577.17)。

10

【産業上の利用可能性】

【0035】

本発明のユニバーサル塩基含有ポリマーは、配列未特定遺伝子や不特定遺伝子のプローブ、一塩基多型 (SNPs) の検出、アンチジーン法による不特定遺伝子の発現抑制、核酸成分の高選択的抽出・除去、核酸成分の精製 (アフィニティークラム) などに応用できる。

【図面の簡単な説明】

【0036】

【図 1】実施例 1 で合成した PNA オリゴマーの HPLC チャートを示す。縦軸は吸光度 ( $\text{Abs}_{260}$ , 260nm における吸光度)、横軸は時間 (分) を表す。

20

【図 2】実施例 2 で合成した PNA オリゴマーの HPLC チャートを示す。

【図 3】実施例 3 で合成した PNA オリゴマーの HPLC チャートを示す。

【図 4】比較例 1 で合成した PNA オリゴマーの HPLC チャートを示す。

【図 5】実施例 2 の PNA オリゴマーを用いた複合体形成実験結果を示す図である。PNA オリゴマーと天然型オリゴヌクレオチドの混合溶液における吸光度を混合比に対してプロットした。

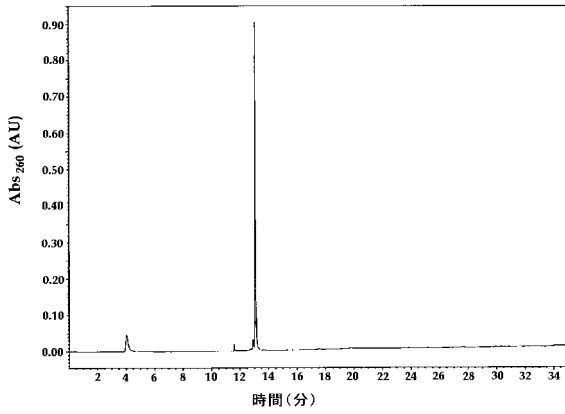
【図 6】比較例 1 の天然型オリゴヌクレオチドを用いた複合体形成実験結果を示す図である。図 1 の吸光度を混合比に対してプロットした図である。

【図 7】ユニバーサル塩基含有モノマー合成の反応スキームを示す図である。

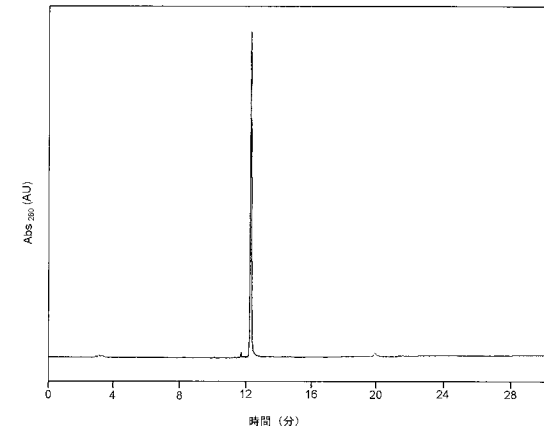
30

【図 8】ユニバーサル塩基含有モノマー合成の反応スキームを示す図である。

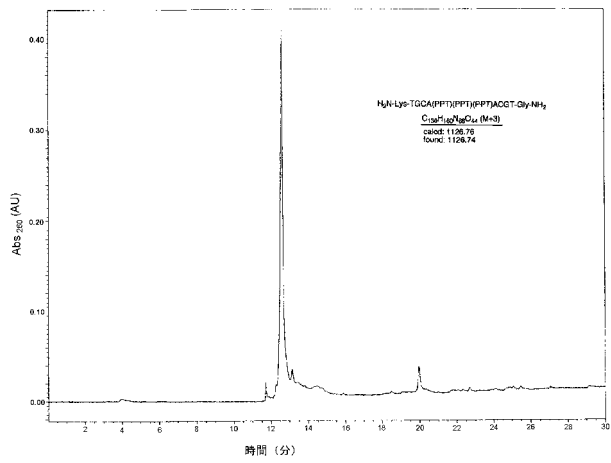
【 図 1 】



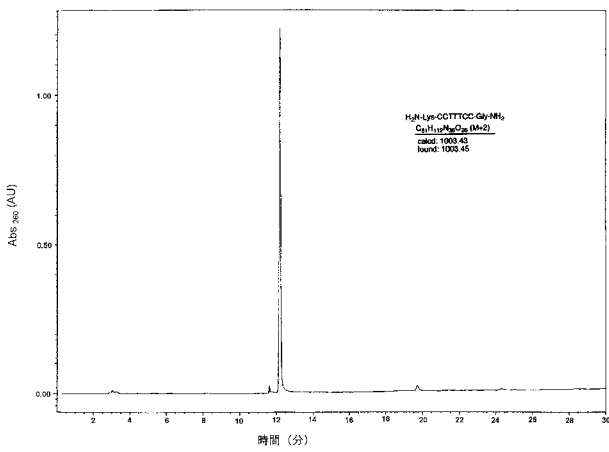
【 図 2 】



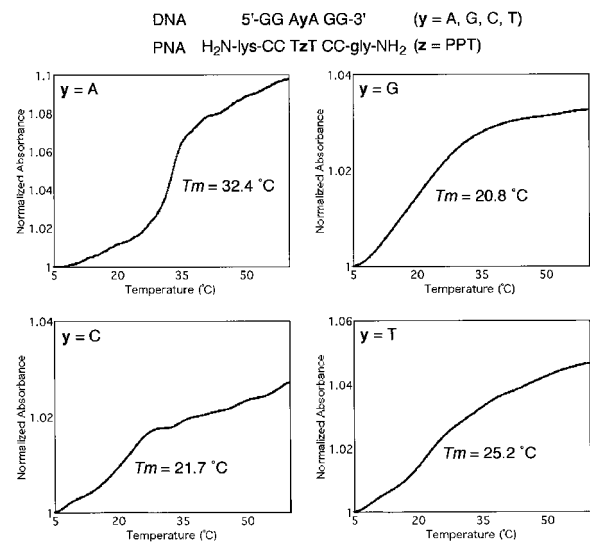
【 図 3 】



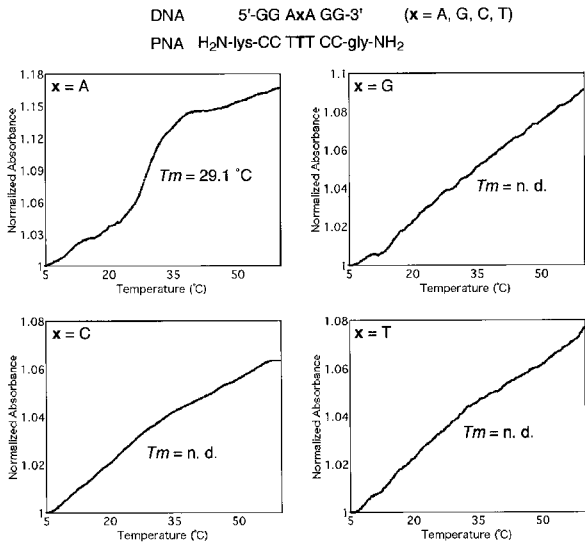
【 図 4 】



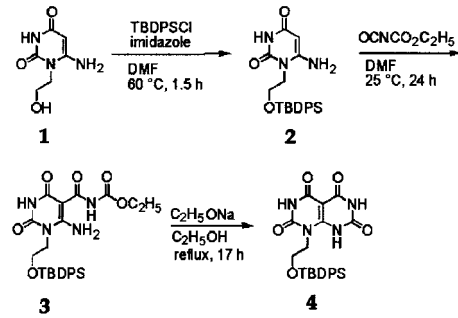
【 図 5 】



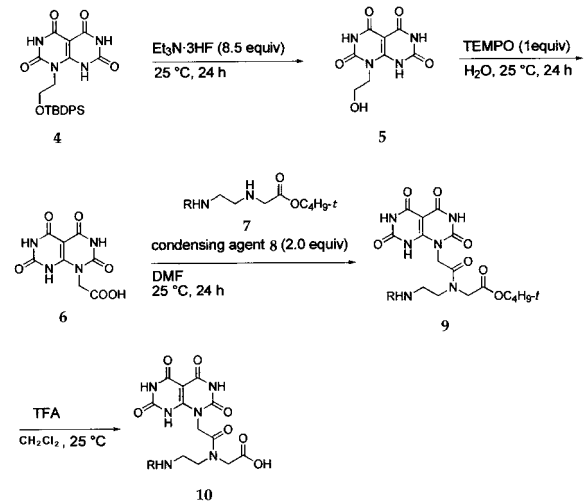
## 【 図 6 】



## 【 図 7 】



## 【 図 8 】



【 手続補正書 】

【 提出日 】 平成18年10月11日 (2006.10.11)

【 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 】 請求の範囲

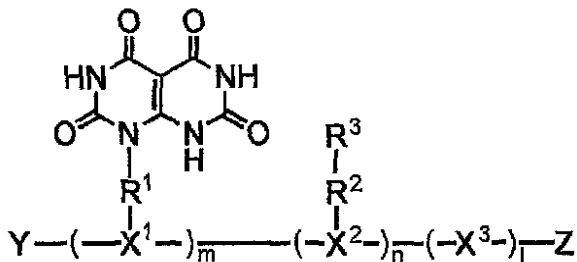
【 補正方法 】 変更

【 補正の内容 】

【 書類名 】 請求の範囲

【 請求項 1 】 下式 ( 化 1 )

【 化 1 】



( 式中、R<sup>1</sup> 及び R<sup>2</sup> は、それぞれ同じであっても異なってもよく、置換基を有していてもよい炭素数が 1 ~ 18 の炭化水素鎖を表し、R<sup>3</sup> は天然核酸又は非天然核酸を表し、X<sup>1</sup> 及び X<sup>2</sup> は、それぞれ同じであっても異なってもよく、-N- 又は -CR<sup>4</sup>- ( 式中、R<sup>4</sup> は水素原子又は置換基を有していてもよい炭素数 1 ~ 4 のアルキル基を表す。 ) を表し、X<sup>3</sup> は 2 価のヘテロ原子を含んでもよい炭化水素基、アミノ酸残基若しくはオリゴペプチド残基、核酸残基若しくはオリゴヌクレオチド残基、又はこれらの組み合わせを表し



、Y及びZは、それぞれ同じであっても異なってもよく、一価の残基を表し、mは1以上nは0以上でm+nが約2～50の整数を表し、lは0以上の整数を表す。)で表されるユニバーサル塩基含有ポリマー。

【請求項2】DNA又は天然核酸塩基から成るオリゴヌクレオチドを含む溶液に請求項1に記載のユニバーサル塩基含有ポリマーを混合することによりこれらの塩基対を形成させる方法。

## 【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/JP2006/316585
<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> C07D487/04(2006.01)i, C08G69/10(2006.01)i, C12N15/00(2006.01)i  According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b> Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) C07D487/04, C08G69/10, C12N15/00  Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Jitsuyo Shinan Koho 1922-1996 Jitsuyo Shinan Toroku Koho 1996-2006 Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-2006 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-2006  Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) CAPLUS (STN), REGISTRY (STN)		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	ISHIKAWA, T., Product Class 22: Other Diazinodiazines, Science of Synthesis, 2004, Vol.16, pages 1337-1397	1,2
A	Niess, R. et al., A New Synthesis of the Pyrimido[4,5-d]pyrimidine Ring. Preparation of Pyrimido[4,5-d]pyrimidine-2,4,5,7-tetrone (1a), Journal of Heterocyclic Chemistry, 1970, Vol.7, pages 243-244	1,2
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 13 September, 2006 (13.09.06)		Date of mailing of the international search report 03 October, 2006 (03.10.06)
Name and mailing address of the ISA/ Japanese Patent Office		Authorized officer
Facsimile No.		Telephone No.

国際調査報告		国際出願番号 PCT/JP2006/316585									
A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC)) Int.Cl. C07D487/04(2006.01)i, C08G69/10(2006.01)i, C12N15/00(2006.01)i											
B. 調査を行った分野 調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC)) Int.Cl. C07D487/04, C08G69/10, C12N15/00											
最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの <table border="0"> <tr> <td>日本国実用新案公報</td> <td>1922-1996年</td> </tr> <tr> <td>日本国公開実用新案公報</td> <td>1971-2006年</td> </tr> <tr> <td>日本国実用新案登録公報</td> <td>1996-2006年</td> </tr> <tr> <td>日本国登録実用新案公報</td> <td>1994-2006年</td> </tr> </table>				日本国実用新案公報	1922-1996年	日本国公開実用新案公報	1971-2006年	日本国実用新案登録公報	1996-2006年	日本国登録実用新案公報	1994-2006年
日本国実用新案公報	1922-1996年										
日本国公開実用新案公報	1971-2006年										
日本国実用新案登録公報	1996-2006年										
日本国登録実用新案公報	1994-2006年										
国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語) CAplus (STN), REGISTRY (STN)											
C. 関連すると認められる文献											
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号									
A	ISHIKAWA, T., Product Class 22: Other Diazinodiazines, Science of Synthesis, 2004, Vol.16, pages 1337-1397	1, 2									
A	Niess, R. et al., A New Synthesis of the Pyrimido[4,5-d]pyrimidine Ring. Preparation of Pyrimido[4,5-d]pyrimidine-2,4,5,7-tetrone(1a), Journal of Heterocyclic Chemistry, 1970, Vol.7, pages 243-244	1, 2									
☐ C欄の続きにも文献が列挙されている。		☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。									
* 引用文献のカテゴリー 「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの 「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの 「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す) 「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献 「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願		の日後に公表された文献 「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの 「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの 「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの 「&」同一パテントファミリー文献									
国際調査を完了した日 13.09.2006		国際調査報告の発送日 03.10.2006									
国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁 (ISA/JP) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号		特許庁審査官 (権限のある職員) 山田 拓	4C 3544								
		電話番号 03-3581-1101 内線	3452								

## フロントページの続き

(81)指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), EP(AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW

(72)発明者 早川 芳宏

愛知県名古屋市千種区不老町1番 国立大学法人名古屋大学内

(72)発明者 平野 泰亮

愛知県名古屋市千種区不老町1番 国立大学法人名古屋大学内

Fターム(参考) 4C050 AA01 BB08 CC08 EE04 FF02 FF10 GG03 HH04

4C072 MM01

4J001 DA01 DB02 DB05 DC06 DC11 DD13 EA13 EA23 EE42A EE47A

EE64C FA01 FB01 FC01 JA20

(注)この公表は、国際事務局(WIPO)により国際公開された公報を基に作成したものである。なおこの公表に係る日本語特許出願(日本語実用新案登録出願)の国際公開の効果は、特許法第184条の10第1項(実用新案法第48条の13第2項)により生ずるものであり、本掲載とは関係ありません。