

【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27年3月26日(2015.3.26)

【公表番号】特表2012-518430(P2012-518430A)

【公表日】平成24年8月16日(2012.8.16)

【年通号数】公開・登録公報2012-032

【出願番号】特願2011-551544(P2011-551544)

【国際特許分類】

C 12 N 15/09 (2006.01)

C 12 Q 1/68 (2006.01)

【F I】

C 12 N 15/00 A

C 12 Q 1/68 A

【誤訳訂正書】

【提出日】平成27年2月5日(2015.2.5)

【誤訳訂正1】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0020

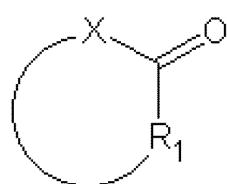
【訂正方法】変更

【訂正の内容】

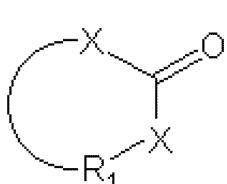
【0020】

本発明の一態様によれば、本発明において使用される適切な極性非プロトン溶媒は環状化合物である。環状化合物は環状基本構造を有する。例にはここに開示された環状化合物を含む。他の実施態様では、極性非プロトン溶媒は以下の式1-4から選択されうる：

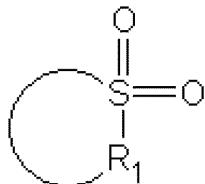
式1



式2



式3



式4

又は $R_1-C\equiv N$

ここで、XはOであり、R1はアルキルジイルである。

【誤訳訂正2】

【訂正対象書類名】特許請求の範囲

【訂正対象項目名】全文

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

核酸配列をハイブリダイズさせるインサツの方法において、

- 二本鎖ヌクレオチド配列を変性させるのに有効な量の少なくとも一種の極性非プロトン溶媒を含有する第一の水性組成物中で第一の核酸配列を含む第一の二本鎖核酸配列を変性させ、

- 二本鎖ヌクレオチド配列を変性させるのに有効な量の少なくとも変性剤を含有する第二の水性組成物中で第二の核酸配列を含む第二の二本鎖核酸配列を変性させ、

- 第一及び第二の核酸配列をハイブリダイズさせるために 8 時間未満、第一及び第二の水性組成物を組み合わせることを含み、

ここで極性非プロトン溶媒は、環状基本構造を有し、ラクトン、スルホン、ニトリル、サルファイト、及び／又はカーボネートであるインサイツの方法。

【請求項 2】

第二の水性組成物中の変性剤が極性非プロトン溶媒である請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

前記第一及び／又は前記第二の核酸を変性させる時間が 1 分、2 分、3 分、4 分、5 分、10 分、15 分、又は 30 分である請求項 1 及び請求項 2 の何れか一項に記載の方法。

【請求項 4】

ハイブリダイジングの工程が、組成物を加熱及び冷却する工程を含む、請求項 1 から 3 の何れか一項に記載の方法。

【請求項 5】

ハイブリダイジングの工程が、1 時間未満、30 分未満、15 分未満、又は 5 分未満を要する請求項 1 から 4 の何れか一項に記載の方法。

【請求項 6】

第一及び第二の水性組成物中の極性非プロトン溶媒の濃度が 1 % から 95 % (v / v)、5 % から 10 % (v / v)、10 % から 20 % (v / v)、又は 20 % から 30 % (v / v) である請求項 1 から 5 の何れか一項に記載の方法。

【請求項 7】

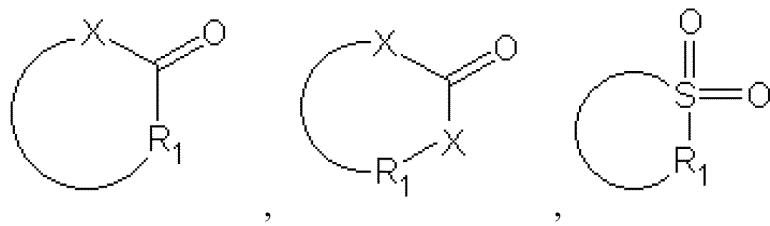
第一及び第二の水性組成物中の極性非プロトン溶媒が無毒性である請求項 1 から 6 の何れか一項に記載の方法。

【請求項 8】

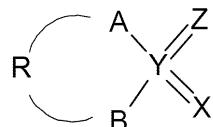
第一及び第二の水性組成物中の極性非プロトン溶媒が、17.7 から 22.0 MPa^{1/2} の範囲の分散溶解度パラメータ、13 から 23 MPa^{1/2} の範囲の極性溶解度パラメータ、及び 3 から 13 MPa^{1/2} の範囲の水素結合溶解度パラメータを有する請求項 1 から 7 の何れか一項に記載の方法。

【請求項 9】

第一及び第二の水性組成物中の極性非プロトン溶媒が



(ここで、X が O であり、R1 がアルキルジイルである)、及び

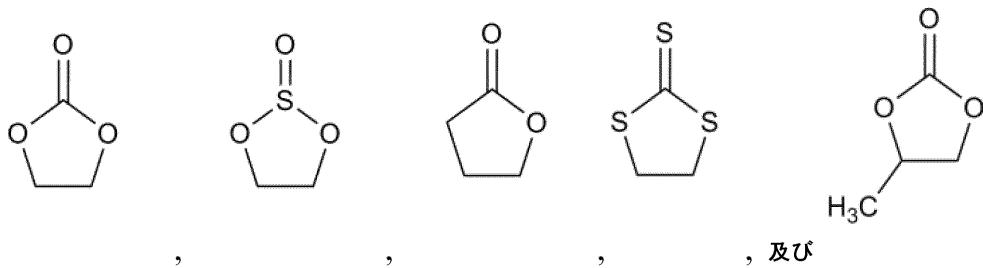


(ここで、X は任意であり、存在する場合は、O 又は S から選択され、Z は任意であり、存在する場合は、O 又は S から選択され、A 及び B は独立して O 又は N 又は S 又はアルキルジイルの一部又は第 1 級アミンであり、R はアルキルジイルであり、Y は O 又は S 又は C である)

からなる群から選択される請求項 1 から 8 の何れか一項に記載の方法。

【請求項 1 0】

第一及び第二の水性組成物中の極性非プロトン溶媒が、



からなる群から選択される請求項 1 から 9 の何れか一項に記載の方法。

【請求項 1 1】

第一及び第二の水性組成物が、緩衝剤、塩、促進剤、キレート剤、洗浄剤、及びブロッキング剤からなる群から選択される少なくとも一種の更なる成分を更に含む請求項 1 から 1 0 の何れか一項に記載の方法。

【請求項 1 2】

促進剤がデキストラン硫酸であり、塩が N a C l 及び / 又はホスフェートバッファーである請求項 1 1 に記載の方法。

【請求項 1 3】

デキストラン硫酸が 5 % から 4 0 % の濃度で存在し、N a C l が 0 m M から 1 2 0 0 m M の濃度で存在し、及び / 又はホスフェートバッファーが 0 m M から 5 0 m M の濃度で存在する請求項 1 2 に記載の方法。

【請求項 1 4】

デキストラン硫酸が 1 0 % から 3 0 % の濃度で存在し、N a C l が 3 0 0 m M から 6 0 0 m M の濃度で存在し、及び / 又はホスフェートバッファーが 5 m M から 2 0 m M の濃度で存在する請求項 1 3 に記載の方法。

【請求項 1 5】

促進剤が、ホルムアミド、D M S O 、グリセロール、プロピレン glycole 、 1 , 2 - プロパンジオール、ジエチレングリコール、エチレングリコール、グリコール、及び 1 , 3 プロパンジオールからなる群から選択され、緩衝剤がクエン酸バッファーである請求項 1 1 に記載の方法。

【請求項 1 6】

ホルムアミドが 0 . 1 - 5 % の濃度で存在し、D M S O が 0 . 0 1 % から 1 0 % の濃度で存在し、グリセロール、プロピレン glycole 、 1 , 2 - プロパンジオール、ジエチレングリコール、エチレングリコール、グリコール、及び 1 , 3 プロパンジオールが 0 . 1 % から 1 0 % の濃度で存在し、クエン酸バッファーが 1 m M から 5 0 m M の濃度で存在する請求項 1 5 に記載の方法。

【請求項 1 7】

第一及び第二の水性組成物が 4 0 % の少なくとも一種の極性非プロトン溶媒、 1 0 % のデキストラン硫酸、 3 0 0 m M の N a C l 、及び / 又は 5 m M のホスフェートバッファーを含有する請求項 1 1 に記載の方法。

【請求項 1 8】

第一及び第二の水性組成物が 1 5 % の少なくとも一種の極性非プロトン溶媒、 2 0 % のデキストラン硫酸、 6 0 0 m M の N a C l 、及び 1 0 m M のクエン酸バッファー pH 6 . 2 を含有する請求項 1 1 に記載の方法。

【請求項 1 9】

インサイツハイブリダイゼーション用途における標的の別々の変性を実施するための、環状基本構造を有し、ラクトン、スルホン、ニトリル、サルファイト、及び / 又はカーボ

ネットである少なくとも一種の極性非プロトン溶媒を1%から95%（v/v）含有する組成物の使用。

【請求項20】

極性非プロトン溶媒の濃度が請求項6に記載される、請求項19に記載の組成物の使用。

【誤訳訂正3】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0193

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0193】

更なる実施態様

実施態様1. 核酸配列をハイブリダイズさせる方法において、

- 第一の核酸配列を、二本鎖ヌクレオチド配列を変性させるのに有効な量の少なくとも一種の極性非プロトン溶媒を含有する第一の水性組成物と組み合わせ、

- 第二の核酸配列を、二本鎖ヌクレオチド配列を変性させるのに有効な量の少なくとも変性剤を含有する第二の水性組成物と組み合わせ、

- 第一及び第二の核酸配列を第一及び第二の核酸配列をハイブリダイズさせるのに少なくとも十分な時間の間組み合わせる

ことを含み、ここで極性非プロトン溶媒はジメチルスルホキシド（DMSO）では無い方法。

実施態様2. 核酸配列をハイブリダイズさせる方法において、

- 第一の核酸配列を、二本鎖ヌクレオチド配列を変性させるのに有効な量の少なくとも一種の極性非プロトン溶媒を含有する第一の水性組成物と組み合わせ、

- 上記第一の核酸配列を、第二の核酸配列と二本鎖ヌクレオチド配列を変性させるのに効果的な量の少なくとも一種の変性剤を含有する第二の水性組成物と、第一及び第二の核酸配列をハイブリダイズさせるのに少なくとも十分な時間の間、組み合わせる

ことを含み、ここで極性非プロトン溶媒はジメチルスルホキシド（DMSO）では無い方法。

実施態様3. 核酸配列をハイブリダイズさせる方法において、

- 第一の核酸配列を、二本鎖ヌクレオチド配列を変性させるのに有効な量で少なくとも一種の極性非プロトン溶媒を含有する第一の水性組成物と組み合わせ、

- 上記第一の核酸配列を、第一及び第二核酸配列をハイブリダイズさせるのに少なくとも十分な時間の間、第二の核酸配列と組み合わせる

ことを含み、ここで極性非プロトン溶媒はジメチルスルホキシド（DMSO）では無い方法。

実施態様4. 第二の水性組成物中の変性剤が極性非プロトン溶媒である実施態様1又は2に記載の方法。

実施態様5. 第一の核酸配列が生物学的試料中にある実施態様1から4のいずれか一つに記載の方法。

実施態様6. 生物学的試料は細胞学又は組織学の試料である実施態様5に記載の方法。

実施態様7. 第一の核酸配列が一本鎖配列であり及び第二の核酸配列が二本鎖配列である実施態様1-6のいずれかに記載の方法。

実施態様8. 第一の核酸配列が二本鎖配列であり及び第二の核酸配列が一本鎖配列である実施態様1-6のいずれかに記載の方法。

実施態様9. 第一及び第二の核酸配列が二本鎖配列である実施態様1-6のいずれかに記載の方法。

実施態様10. 第一及び第二の核酸配列が一本鎖配列である実施態様1-6のいずれかに記載の方法。

実施態様11. 第一及び第二の核酸配列を変性させるのに十分な量のエネルギーが提供

される実施態様 1 - 1 0 のいずれかに記載の方法。

実施態様 1 2 . 第一の核酸配列を変性させるのに十分な量のエネルギーが提供される実施態様 1 - 1 1 のいずれかに記載の方法。

実施態様 1 3 . 第二の核酸配列を変性させるのに十分な量のエネルギーが提供される実施態様 1 - 1 2 のいずれかに記載の方法。

実施態様 1 4 . エネルギーが組成物を加熱することで提供される実施態様 1 1 - 1 3 に記載の方法。

実施態様 1 5 . 加熱工程が、マイクロ波、温浴、熱板、熱線、ペルチエ素子、誘導加熱又は加熱ランプの使用によって実施される実施態様 1 4 に記載の方法。

実施態様 1 6 . 第一の核酸を変性させる温度が 7 0 から 8 5 である実施態様 1 2 - 1 5 のいずれか一項に記載の方法。

実施態様 1 7 . 第二の核酸を変性させる温度が 7 0 から 8 5 である実施態様 1 2 - 1 6 のいずれか一項に記載の方法。

実施態様 1 8 . 第一の核酸を変性させる温度が 6 0 から 7 5 である実施態様 1 2 - 1 5 のいずれか一項に記載の方法。

実施態様 1 9 . 第二の核酸を変性させる温度が 6 0 から 7 5 である実施態様 1 2 - 1 5 又は 1 8 のいずれか一項に記載の方法。

実施態様 2 0 . 第一の核酸を変性させる温度が 6 2 、 6 7 、 7 2 又は 8 2 である実施態様 1 2 - 1 5 のいずれか一項に記載の方法。

実施態様 2 1 . 第二の核酸を変性させる温度が 6 2 、 6 7 、 7 2 又は 8 2 である実施態様 1 2 - 1 5 又は 2 0 のいずれか一項に記載の方法。

実施態様 2 2 . 第一の核酸を変性させるのに十分な時間が提供される実施態様 1 - 2 1 のいずれか一項に記載の方法。

実施態様 2 3 . 第二の核酸を変性させるのに十分な時間が提供される実施態様 1 - 2 2 のいずれか一項に記載の方法。

実施態様 2 4 . 時間は 1 分、 2 分、 3 分、 4 分、 5 分、 1 0 分、 1 5 分、 又は 3 0 分である実施態様 2 2 又は 2 3 に記載の方法。

実施態様 2 5 . ハイブリダイジング工程が組成物を加熱し冷却する工程を含む実施態様 1 - 2 4 のいずれか一項に記載の方法。

実施態様 2 6 . ハイブリダイゼーション工程が 8 時間未満を要する実施態様 1 - 2 5 のいずれか一項に記載の方法。

実施態様 2 7 . ハイブリダイゼーション工程が 1 時間未満を要する実施態様 2 6 に記載の方法。

実施態様 2 8 . ハイブリダイゼーション工程が 3 0 分未満を要する実施態様 2 7 に記載の方法。

実施態様 2 9 . ハイブリダイゼーション工程が 1 5 分未満を要する実施態様 2 8 に記載の方法。

実施態様 3 0 . ハイブリダイゼーション工程が 5 分未満を要する実施態様 2 9 に記載の方法。

実施態様 3 1 . ブロッキング工程を更に含む実施態様 1 - 3 0 のいずれか一項に記載の方法。

実施態様 3 2 . 水性組成物中の極性非プロトン溶媒の濃度が約 1 % から 9 5 % (v v) である実施態様 1 - 3 1 の何れか一に記載の方法。

実施態様 3 3 . 極性非プロトン溶媒の濃度が 5 % から 1 0 % (v v) である実施態様 3 2 に記載の方法。

実施態様 3 4 . 極性非プロトン溶媒の濃度が 1 0 % から 2 0 % (v v) である実施態様 3 2 に記載の方法。

実施態様 3 5 . 極性非プロトン溶媒の濃度が 2 0 % から 3 0 % (v v) である実施態様 3 2 に記載の方法。

実施態様 3 6 . 水性組成物中の極性非プロトン溶媒が無毒性である実施態様 1 - 3 5 の

何れか一に記載の方法。

実施態様 37 . 但し、水性組成物中の極性非プロトン溶媒はホルムアミドを含有しない

実施態様 1 - 36 の何れか一に記載の方法。

実施態様 38 . 但し、水性組成物中の極性非プロトン溶媒は 10 %未満のホルムアミドを含有する実施態様 1 - 36 の何れか一に記載の方法。

実施態様 39 . 但し、水性組成物は 2 %未満のホルムアミドを含有する実施態様 38 に記載の方法。

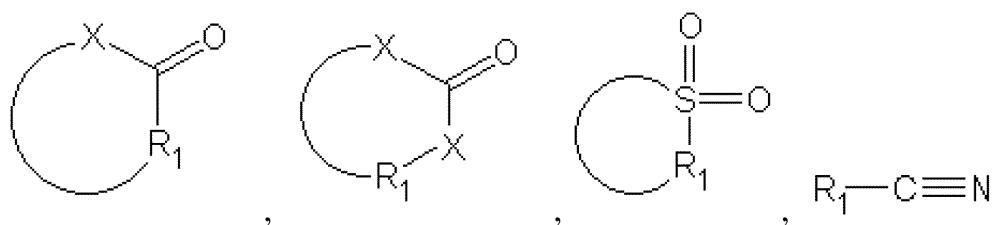
実施態様 40 . 但し、水性組成物は 1 %未満のホルムアミドを含有する実施態様 39 に記載の方法。

実施態様 41 . 水性組成物中の極性非プロトン溶媒は、ラクトン、スルホン、ニトリル、サルファイト、及び / 又はカーボネートの官能性を有する実施態様 1 - 40 の何れか一に記載の方法。

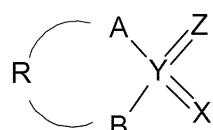
実施態様 42 . 水性組成物中の極性非プロトン溶媒が、17 . 7 から 22 . 0 MPa^{1/2} の範囲の分散溶解度パラメータ、13 から 23 MPa^{1/2} の範囲の極性溶解度パラメータ、及び 3 から 13 MPa^{1/2} の範囲の水素結合溶解度パラメータを有する実施態様 1 - 41 の何れか一に記載の方法。

実施態様 43 . 水性組成物中の極性非プロトン溶媒が環状塩基構造を有する実施態様 1 - 42 の何れか一に記載の方法。

実施態様 44 . 水性組成物中の極性非プロトン溶媒が



(ここで、X が O であり、R1 がアルキルジイルである)、及び



(ここで、X は任意であり、存在する場合は、O 又は S から選択され、Z は任意であり、存在する場合は、O 又は S から選択され、A 及び B は独立して O 又は N 又は S 又はアルキルジイルの一部又は第 1 級アミンであり、

R はアルキルジイルであり、

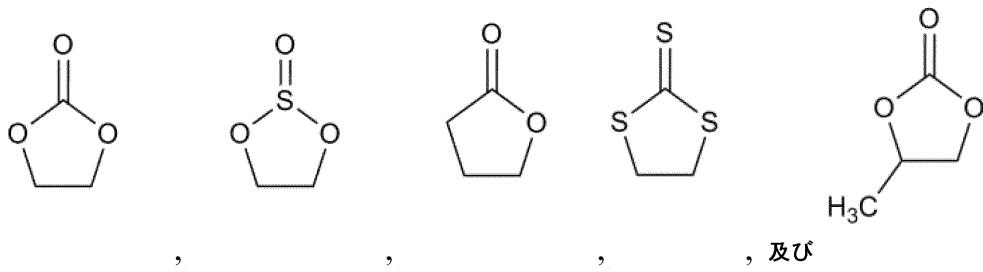
Y は O 又は S 又は C である)

からなる群から選択される実施態様 1 - 43 の何れか一に記載の方法。

実施態様 45 . 水性組成物中の極性非プロトン溶媒が、アセトアニリド、アセトニトリル、N - アセチルピロリドン、4 - アミノピリジン、ベンズアミド、ベンズイミダゾール、1 , 2 , 3 - ベンゾトリニアゾール、ブタジエンジオキシド、2 , 3 - プチレンカーボネート、 - - ブチロラクトン、カブロラクトン(イブシロン)、クロロ無水マレイン酸、2 - クロロシクロヘキサン、クロロエチレンカーボネート、クロロニトロメタン、無水シトラコン酸、クロトンラクトン、5 - シアノ - 2 - チオウラシル、シクロプロピルニトリル、硫酸ジメチル、ジメチルスルホン、1 , 3 - ジメチル - 5 - テトラゾール、1 , 5 - ジメチルテトラゾール、1 , 2 - ジニトロベンゼン、2 , 4 - ジニトロトルエン、ジフェ

イニルスルホン、1，2-ジニトロベンゼン、2，4-ジニトロトルエン、ジフェイニルスルホン、イプシロン-カブロラクタム、エタンスルホニルクロリド、エチルエチルホスフィネート、N-エチルテトラゾール、エチレンカーボネート、エチレントリチオカーボネート、エチレングリコールサルファート、グリコールサルファイト、フルフラール、2-フロニトリル、2-イミダゾール、イサチン、イソキサゾール、マロノニトリル、4-メトキシベンゾニトリル、1-メトキシ-2-ニトロベンゼン、メチルプロモテトロネート、1-メチルイミダゾール、N-メチルイミダゾール、3-メチルイソキサゾール、N-メチルモルホリン-N-オキシド、メチルフェニルスルホン、N-メチルピロリジノン、メチルスルホラン、メチル-4-トルエンスルホネート、3-ニトロアニリン、ニトロベンズイミダゾール、2-ニトロフラン、1-ニトロソ-2-ピロリジノン、2-ニトロチオフェン、2-オキサゾリジノン、9,10-フェナントレンキノン、N-フェニルシドノン、無水フタル酸、ピコリノニトリル(2-シアノピリジン)、1,3-プロパンスルトン、-プロピオラクトン、プロピレンカーボネート、4H-ピラン-4-チオン、4H-ピラン-4-オン(-ピロン)、ピリダジン、2-ピロリドン、サッカリノン、スクシノニトリル、スルファニルアミド、スルホラン、2,2,6,6-テトラクロロシクロヘキサン、テトラヒドロチアピランオキシド、テトラメチレンスルホン(スルホラン)、チアゾール、2-チオウラシル、3,3,3-トリクロロプロペン、1,1,2-トリクロロプロペン、1,2,3-トリクロロプロベン、トリメチレンスルフィド-ジオキシド、及びトリメチレンサルファイトからなる群から選択される実施態様1-44の何れか一に記載の方法。

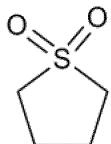
実施態様46. 水性組成物中の極性非プロトン溶媒が、



, , , , 及び

からなる群から選択される実施態様1-44の何れか一に記載の方法。

実施態様47. 水性組成物中の極性非プロトン溶媒が、



である実施態様1-44の何れか一に記載の方法。

実施態様48. 水性組成物が、緩衝剤、塩、促進剤、キレート剤、洗浄剤、及びプロックキング剤からなる群から選択される少なくとも一種の更なる成分を更に含む実施態様1-47に記載の方法。

実施態様49. 促進剤がデキストラン硫酸であり、塩がNaCl及び/又はホスフェートバッファーである実施態様48に記載の方法。

実施態様50. デキストラン硫酸が5%から40%の濃度で存在し、NaClが0mMから1200mMの濃度で存在し、及び/又はホスフェートバッファーが0mMから50mMの濃度で存在する実施態様49に記載の方法。

実施態様51. デキストラン硫酸が10%から30%の濃度で存在し、NaClが300mMから600mMの濃度で存在し、及び/又はホスフェートバッファーが5mMから20mMの濃度で存在する実施態様50に記載の方法。

実施態様 5 2 . 促進剤が、ホルムアミド、D M S O 、グリセロール、プロピレングリコール、1 , 2 - プロパンジオール、ジエチレングリコール、エチレングリコール、グリコール、及び 1 , 3 プロパンジオールからなる群から選択され、緩衝剤がクエン酸バッファーである実施態様 4 8 に記載の方法。

実施態様 5 3 . ホルムアミドが 0 . 1 - 5 % の濃度で存在し、D M S O が 0 . 0 1 % ~ 1 0 % の濃度で存在し、グリセロール、プロピレングリコール、1 , 2 - プロパンジオール、ジエチレングリコール、エチレングリコール、グリコール、及び 1 , 3 プロパンジオールが 0 . 1 % から 1 0 % の濃度で存在し、クエン酸バッファーが 1 m M から 5 0 m M の濃度で存在する実施態様 5 2 に記載の方法。

実施態様 5 4 . プロッキング剤が、全ヒト D N A 、ニシン精液 D N A 、サケ精液 D N A 、及びウシ胸腺 D N A からなる群から選択される実施態様 4 8 に記載の方法。

実施態様 5 5 . 全ヒト D N A 、ニシン精液 D N A 、サケ精液 D N A 、及びウシ胸腺 D N A が 0 . 0 1 から 1 0 μ g / μ L の濃度で存在する実施態様 5 4 に記載の方法。

実施態様 5 6 . 水性組成物が 4 0 % の少なくとも一種の極性非プロトン溶媒、 1 0 % のデキストラン硫酸、 3 0 0 m M の N a C l 、及び / 又は 5 m M のホスフェートバッファーを含有する実施態様 4 8 に記載の方法。

実施態様 5 7 . 水性組成物が 1 5 % の少なくとも一種の極性非プロトン溶媒、 2 0 % のデキストラン硫酸、 6 0 0 m M の N a C l 、及び / 又は 1 0 m M のホスフェートバッファー含有する実施態様 4 8 に記載の方法。

実施態様 5 8 . 水性組成物が 1 5 % の少なくとも一種の極性非プロトン溶媒、 2 0 % のデキストラン硫酸、 6 0 0 m M の N a C l 、及び 1 0 m M のクエン酸バッファー p H 6 . 2 を含有する実施態様 4 8 に記載の方法。

実施態様 5 9 . 水性組成物が室温で一相を含む実施態様 1 - 5 8 の何れか一に記載の方法。

実施態様 6 0 . 水性組成物が室温で複数相を含む実施態様 1 - 5 8 の何れか一に記載の方法。

実施態様 6 1 . 水性組成物が室温で二相を含む実施態様 6 0 に記載の方法。

実施態様 6 2 . 水性組成物の相が混合される実施態様 6 0 又は 6 1 に記載の方法。

実施態様 6 3 . ハイブリダイゼーション用途における標的の別々の変性を実施するための水性組成物において、 2 本鎖ヌクレオチド配列を変性させるのに有効な量の少なくとも一種の極性非プロトン溶媒を含有し、該極性非プロトン溶媒がジメチルスルホキサイド (D M S O) ではない組成物。

実施態様 6 4 . 極性非プロトン溶媒の濃度が実施態様 3 2 から 3 5 の何れか一に記載の通りに定義される実施態様 6 3 の水性組成物。

実施態様 6 5 . 極性非プロトン溶媒が実施態様 3 6 、又は 4 1 から 4 7 の何れか一に記載の通りに定義される実施態様 6 3 又は 6 4 の水性組成物。

実施態様 6 6 . 水性組成物が実施態様 3 7 から 4 0 又は 4 8 から 6 2 の何れか一に記載の通りに定義される実施態様 6 1 から 6 5 の何れか一の水性組成物。

実施態様 6 7 . ハイブリダイゼーション用途における標的の別々の変性を実施するための、少なくとも一種の極性非プロトン溶媒を 1 % から 9 5 % (v / v) 含有する組成物の使用。

実施態様 6 8 . 極性非プロトン溶媒の濃度が実施態様 3 2 から 3 5 の何れか一に記載の通りに定義される実施態様 6 7 に記載の組成物の使用。

実施態様 6 9 . 極性非プロトン溶媒が実施態様 3 6 又は 4 1 から 4 7 の何れか一に記載の通りに定義される実施態様 6 7 又は 6 8 に記載の組成物の使用。

実施態様 7 0 . 水性組成物が実施態様 3 7 から 4 0 又は 4 8 から 6 2 の何れか一に記載の通りに定義される実施態様 6 7 から 6 9 の何れか一に記載の組成物の使用。

実施態様 7 1 . ハイブリダイゼーションアッセイを実施するためのキットにおいて、

- 実施態様 6 3 - 6 6 の何れか一に記載の第一の水性組成物と、
- 少なくとも一の核酸配列を含んでなる第二の水性組成物

を含むキット。

実施態様 7 2 . 第二の水性組成物が、二本鎖ヌクレオチド配列を変性させるのに有効な量の少なくとも一種の変性剤を更に含有する実施態様 7 1 に記載のキット。

実施態様 7 3 . 第二の水性組成物中の変性剤が極性非プロトン溶媒である実施態様 7 2 のキット。

実施態様 7 4 . 第二の水性組成物中の極性非プロトン溶媒の濃度が実施態様 3 2 から 3 5 の何れか一に記載の通りに定義される実施態様 7 3 のキット。

実施態様 7 5 . 第二の水性組成物中の極性非プロトン溶媒が実施態様 3 6 又は 4 1 から 4 7 の何れか一に記載の通りに定義される実施態様 7 3 又は 7 4 のキット。

実施態様 7 6 . 第二の水性組成物が実施態様 3 7 から 4 0 又は 4 8 から 6 2 の何れか一に記載の通りに定義される実施態様 7 1 から 7 5 の何れか一のキット。

実施態様 2 - 1 .

核酸配列をハイブリダイズさせるインサイツの方法において、

- 二本鎖ヌクレオチド配列を変性させるのに有効な量の少なくとも一種の極性非プロトン溶媒を含有する第一の水性組成物中で第一の核酸配列を含む第一の二本鎖核酸配列を変性させ、

- 二本鎖ヌクレオチド配列を変性させるのに有効な量の少なくとも変性剤を含有する第二の水性組成物中で第二の核酸配列を含む第二の二本鎖核酸配列を変性させ、

- 第一及び第二の核酸配列を、第一及び第二の核酸配列をハイブリダイズさせるために 8 時間未満少なくとも一の極性非プロトン溶媒を含有する水性組成物中で組み合わせることを含み、

ここで極性非プロトン溶媒はジメチルスルホキシド (D M S O) では無いインサイツの方法。

実施態様 2 - 2 .

第二の水性組成物中の変性剤が極性非プロトン溶媒である実施態様 2 - 1 に記載の方法。

実施態様 2 - 3 .

例えば前記第一及び / 又は前記第二の核酸を変性させる時間が 1 分、 2 分、 3 分、 4 分、 5 分、 10 分、 15 分、又は 30 分である実施態様 2 - 1 及び実施態様 2 - 2 の何れか一に記載の方法。

実施態様 2 - 4 .

ハイブリダイジングの工程が、組成物を加熱及び / 又は冷却する工程を含み、例えばハイブリダイゼーションの工程が 1 時間未満、例えば 30 分未満、例えば 15 分未満、例えば 5 分未満を要する実施態様 1 - 2 から 2 - 3 の何れか一に記載の方法。

実施態様 2 - 5 .

水性組成物中の極性非プロトン溶媒の濃度が約 1 % から 95 % (v / v) 、例えば 5 % から 10 % (v / v) 、例えば 10 % から 20 % (v / v) 、例えば 20 % から 30 % (v / v) である実施態様 2 - 1 から 2 - 4 の何れか一に記載の方法。

実施態様 2 - 6 .

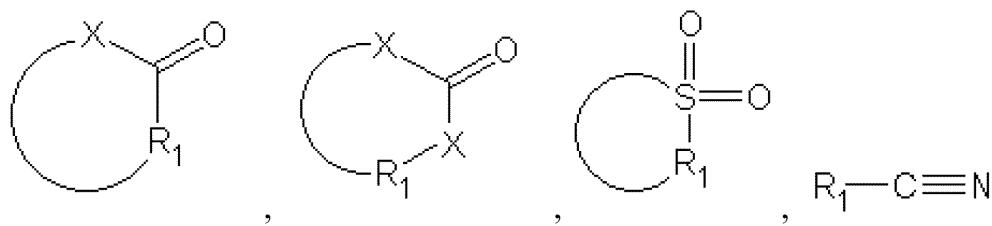
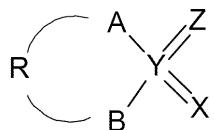
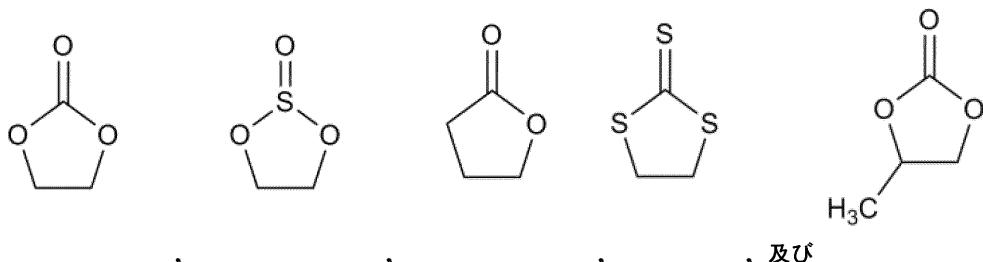
水性組成物中の極性非プロトン溶媒が無毒性である実施態様 2 - 1 から 2 - 5 の何れか一に記載の方法。

実施態様 2 - 7 .

水性組成物中の極性非プロトン溶媒が、ラクトン、スルホン、ニトリル、サルファイト、及び / 又はカーボネートの官能性を有する実施態様 2 - 1 から 2 - 6 の何れか一に記載の方法。

実施態様 2 - 8 .

水性組成物中の極性非プロトン溶媒が、17.7 から 22.0 M P a 1 / 2 の範囲の分散溶解度パラメータ、13 から 23 M P a 1 / 2 の範囲の極性溶解度パラメータ、及び 3 から 13 M P a 1 / 2 の範囲の水素結合溶解度パラメータを有する実施態様 2 - 1 から 2 - 7 の何れか一に記載の方法。

実施態様 2 - 9 .水性組成物中の極性非プロトン溶媒が(ここで、X が O であり、R1 がアルキルジイルである)、及び(ここで、X は任意であり、存在する場合は、O 又は S から選択され、Z は任意であり、存在する場合は、O 又は S から選択され、A 及び B は独立して O 又は N 又は S 又はアルキルジイルの一部又は第 1 級アミンでありR はアルキルジイルであり、Y は O 又は S 又は C である)からなる群から選択される実施態様 2 - 1 から 2 - 8 の何れか一に記載の方法。実施態様 2 - 1 0 .水性組成物中の極性非プロトン溶媒が、、 、 、 、 及びからなる群から選択される実施態様 2 - 1 から 2 - 9 の何れか一に記載の方法。実施態様 2 - 1 1 .水性組成物が、緩衝剤、塩、促進剤、キレート剤、洗浄剤、及びブロッキング剤からなる群から選択される少なくとも一種の更なる成分を更に含む実施態様 2 - 1 から 2 - 1 0 の何れか一に記載の方法。実施態様 2 - 1 2 .促進剤がデキストラン硫酸であり、塩が NaCl 及び / 又はホスフェートバッファーである実施態様 2 - 1 1 に記載の方法。実施態様 2 - 1 3 .デキストラン硫酸が 5 % から 40 % の濃度で存在し、NaCl が 0 mM から 1200 mM の濃度で存在し、及び / 又はホスフェートバッファーが 0 mM から 50 mM の濃度で存在し、例えば、デキストラン硫酸が 10 % から 30 % の濃度で存在し、NaCl が 300 mM から 600 mM の濃度で存在し、及び / 又はホスフェートバッファーが 5 mM から 20 mM の濃度で存在する実施態様 2 - 1 2 に記載の方法。

実施態様 2 - 1 4 .

促進剤が、ホルムアミド、DMSO、グリセロール、プロピレングリコール、1，2-プロパンジオール、ジエチレングリコール、エチレングリコール、グリコール、及び1，3プロパンジオールからなる群から選択され、緩衝剤がクエン酸バッファーである実施態様2-11に記載の方法。

実施態様 2 - 1 5 .

ホルムアミドが0.1-5%の濃度で存在し、DMSOが0.01%から10%の濃度で存在し、グリセロール、プロピレングリコール、1，2-プロパンジオール、ジエチレングリコール、エチレングリコール、グリコール、及び1，3プロパンジオールが0.1%から10%の濃度で存在し、クエン酸バッファーが1mMから50mMの濃度で存在する実施態様2-14に記載の方法。

実施態様 2 - 1 6 .

水性組成物が40%の少なくとも一種の極性非プロトン溶媒、10%のデキストラン硫酸、300mMのNaCl、及び/又は5mMのホスフェートバッファーを含有する実施態様2-11に記載の方法。

実施態様 2 - 1 7 .

水性組成物が15%の少なくとも一種の極性非プロトン溶媒、20%のデキストラン硫酸、600mMのNaCl、及び10mMのクエン酸バッファーpH6.2を含有する実施態様2-11に記載の方法。

実施態様 2 - 1 8 .

インサイツハイブリダイゼーション用途における標的の別々の変性を実施するための、少なくとも一種の極性非プロトン溶媒を1%から95%（v/v）含有する組成物の使用。

実施態様 2 - 1 9 .

極性非プロトン溶媒の濃度が実施態様2-5又は2-6又は2-7から2-10に記載される、実施態様2-18に記載の組成物の使用。