



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 118265902 A

(43) 申请公布日 2024. 06. 28

(21) 申请号 202380014539.X

(22) 申请日 2023.04.10

(30) 优先权数据

2022-068370 2022.04.18 JP

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2024.05.16

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/JP2023/014606 2023.04.10

(87) PCT国际申请的公布数据

W02023/204089 JA 2023.10.26

(71) 申请人 日东电工株式会社

地址 日本

(72) 发明人 吉田敬 木川洋一 杉浦绅介

前田惠里 松并淳

(74) 专利代理机构 北京林达刘知识产权代理事
务所(普通合伙) 11277

专利代理师 刘新宇 韩平

(51) Int.Cl.

G01N 21/3577 (2006.01)

G01N 21/65 (2006.01)

权利要求书1页 说明书15页 附图16页

(54) 发明名称

核苷亚磷酸酰胺识别系统、核苷亚磷酸酰胺识别
方法及程序

(57) 摘要

提高核苷亚磷酸酰胺的识别精度。核苷亚磷酸酰胺识别系统包括：存储部，存储多个不同的核苷亚磷酸酰胺溶液的光谱；检测部，检测核苷亚磷酸酰胺溶液的光谱；识别部，根据存储部中存储的光谱与检测部检测出的光谱的余弦相似度，来识别核苷亚磷酸酰胺。

1. 一种核苷亚磷酰胺识别系统,其包括:
存储部,存储多个不同核苷亚磷酰胺溶液的光谱;
检测部,检测所述核苷亚磷酰胺溶液的光谱;及
识别部,根据所述存储部中存储的所述光谱及所述检测部检测出的所述光谱的余弦相似度,识别核苷亚磷酰胺。
2. 根据权利要求1所述的核苷亚磷酰胺识别系统,还包括:
供液部,输送所述核苷亚磷酰胺溶液;及
合成部,使所述核苷亚磷酰胺产生反应而合成寡核苷酸,
所述检测部从所述供液部输送的所述核苷亚磷酰胺溶液中检测所述光谱。
3. 根据权利要求2所述的核苷亚磷酰胺识别系统,其中,
所述检测部检测在所述供液部与所述合成部之间被输送的所述核苷亚磷酰胺溶液的所述光谱。
4. 根据权利要求3所述的核苷亚磷酰胺识别系统,其中,
所述检测部通过红外线光谱法或拉曼光谱法,检测所述核苷亚磷酰胺溶液的所述光谱。
5. 根据权利要求2所述的核苷亚磷酰胺识别系统,还包括:
输入部,输入所述寡核苷酸的序列信息;及
对照部,对所述序列信息与所述识别部的识别结果进行对照。
6. 根据权利要求5所述的核苷亚磷酰胺识别系统,还包括:
显示部,将所述识别部的识别结果与所述对照部的对照结果关联起来进行显示。
7. 根据权利要求6所述的核苷亚磷酰胺识别系统,还包括:
控制部,在所述对照结果包含错误的情况下,进行停止所述供液部的控制。
8. 根据权利要求6所述的核苷亚磷酰胺识别系统,还包括:
控制部,在所述对照结果包含错误的情况下,进行将所述核苷亚磷酰胺溶液输送到废弃路径的控制。
9. 根据权利要求2所述的核苷亚磷酰胺识别系统,其中,
所述核苷亚磷酰胺溶液的浓度为25mM以下。
10. 一种核苷亚磷酰胺识别方法,由计算机执行以下步骤:
存储步骤,存储多个不同核苷亚磷酰胺溶液的光谱;
检测步骤,检测所述核苷亚磷酰胺溶液的光谱;及
识别步骤,根据在所述存储步骤中存储的所述光谱与在所述检测步骤中检测出的所述光谱的余弦相似度,来识别核苷亚磷酰胺。
11. 一种程序,用于使计算机执行以下步骤:
存储步骤,存储多个不同核苷亚磷酰胺溶液的光谱;
检测步骤,检测所述核苷亚磷酰胺溶液的光谱;及
识别步骤,根据在所述存储步骤中存储的所述光谱与在所述检测步骤中检测出的所述光谱的余弦相似度,来识别核苷亚磷酰胺。

核苷亚磷酰胺识别系统、核苷亚磷酰胺识别方法及程序

技术领域

[0001] 本发明涉及一种核苷亚磷酰胺 (Nucleoside phosphoramidite) 识别系统、核苷亚磷酰胺识别方法及程序。

背景技术

[0002] 已有通过根据序列信息结合核苷亚磷酰胺来合成寡核苷酸 (Oligonucleotide) 的核酸合成装置。例如, 专利文献1中公开了一种核酸合成装置, 其包括脱保护单元、偶联单元、氧化/硫醇化单元、封端单元和洗涤单元, 多个反应容器按照用于所希望的核酸序列的合成方案而被移动到各单元。

[0003] 为了检测核酸合成过程中的错误, 已有实时监测的技术。例如, 非专利文献1中, 公开了通过红外线光谱仪对输送给反应容器的核苷亚磷酰胺的乙腈溶液进行实时监视的技术。根据非专利文献1记载的技术, 通过对红外线光谱仪检测出的红外吸收光谱, 采用偏最小二乘判别分析 (PLS-DA; Partial Least Squares Discriminant Analysis) (以下, 也称为“PLS判别法”) 进行分析, 来识别被输送的核苷亚磷酰胺的种类。

[0004] <现有技术文献>

[0005] <专利文献>

[0006] 专利文献1: 国际公开第2020/210476号

[0007] <非专利文献>

[0008] 非专利文献1: John-David McElderry, Daniel Hill, Elliott Schmitt, Xiao ye Su, and Jessica Stolee, “In-line Phosphoramidite Identification by FTIR to Support Real-Time Oligonucleotide Sequence Confirmation,” Organic Process Research&Development 2021, 25, 2, 262-270.

发明内容

[0009] <本发明要解决的问题>

[0010] 然而, 在PLS判别法中, 存在核苷亚磷酰胺的识别精度低的问题。尤其是, 核苷亚磷酰胺的浓度越低, 就越容易受到噪声的影响, 而出现误识别增多的倾向。

[0011] 本发明的一个方式, 鉴于所述技术问题, 其目的在于提高核苷亚磷酰胺的识别精度。

[0012] <用于解决问题的手段>

[0013] 为了解决所述课题, 本发明的一个方式的核苷亚磷酰胺识别系统包括: 存储部, 存储多个不同核苷亚磷酰胺溶液的光谱; 检测部, 检测所述核苷亚磷酰胺溶液的光谱; 识别部, 根据所述存储部中存储的所述光谱及所述检测部检测出的所述光谱的余弦相似度, 识别核苷亚磷酰胺。

[0014] <发明的效果>

[0015] 根据本发明的一个方式, 能够提高核苷亚磷酰胺的识别精度。

附图说明

- [0016] 图1是示出核苷亚磷酰胺识别系统的整体结构的一例的图。
- [0017] 图2是示出核酸合成装置的硬件结构的一例的图。
- [0018] 图3是示出计算机的硬件结构的一例的图。
- [0019] 图4是示出核苷亚磷酰胺识别系统的功能结构的一例的图。
- [0020] 图5是示出核苷亚磷酰胺识别方法的处理步骤的一例的图。
- [0021] 图6是示出红外吸收光谱的一例的图。
- [0022] 图7是示出结果显示画面的一例的图。
- [0023] 图8是示出核苷亚磷酰胺溶液的浓度变化的一例的图。
- [0024] 图9是示出拉曼光谱的一例的图。
- [0025] 图10是示出第3实施方式的核酸合成装置的硬件结构的一例的图。
- [0026] 图11是示出第3实施方式的核苷亚磷酰胺识别方法的处理步骤的一例的图。
- [0027] 图12是示出实验数据的图。
- [0028] 图13是示出实施例1的识别结果的图。
- [0029] 图14是示出比较例1的识别结果的图。
- [0030] 图15是示出实施例2的识别结果的图。
- [0031] 图16是示出实施例3的识别结果的图。
- [0032] 图17是示出实施例4的识别结果的图。

具体实施方式

[0033] 以下,参照附图对本发明的各实施方式进行说明。并且,在本说明书及附图中,对实质上具有相同功能结构的结构要素标注相同的符号,并省略重复的说明。

[第1实施方式]

[0035] 本发明的第1实施方式是核苷亚磷酰胺识别系统,其识别在核酸合成装置中输送到色谱柱的核苷亚磷酰胺的种类。本实施方式的,利用红外线光谱仪从包含核苷亚磷酰胺的乙腈溶液(以下,也称为“核苷亚磷酰胺溶液”)中检测红外吸收光谱。另外,根据检测出的红外吸收光谱及预先存储的红外吸收光谱的余弦相似度,识别被输送的核苷亚磷酰胺的种类。

[0036] 另外,从核苷亚磷酰胺溶液中检测光谱的方法不限于红外线光谱仪。例如,可以用拉曼光谱仪取代红外线光谱仪。将在第2实施方式中说明使用拉曼光谱仪的结构。在本实施方式中,也可以使用其他光谱仪,但在核苷亚磷酰胺的识别中,优选使用红外线光谱仪或拉曼光谱仪。

[0037] 余弦相似度是表示两个矢量的相似性的尺度。具体为,余弦相似度是两个矢量构成的角的余弦值。例如,矢量 $\vec{a} = (a_1, a_2, \dots, a_n)$ 与矢量 $\vec{b} = (b_1, b_2, \dots, b_n)$ 的余弦相似度由公式(1)表示。

[0038] 在本发明的各实施方式中,矢量 $\vec{a}$ 与矢量 $\vec{b}$ 是红外吸收光谱或拉曼光谱中的解析波数范围(以下,也记载为测定波数范围)的全波数的矢量。矢量 $\vec{a}$ 是预先确定了核苷亚磷酰胺的种类的光谱(参考)的数据。矢量 $\vec{b}$ 是核苷亚磷酰胺的种类未知的检测光谱的数据。此时,如果公式(1)的 $\cos(\vec{a}, \vec{b})$ 最接近1,则余弦相似度最大。

[0039] 例如,根据未知的核苷亚磷酸胺的检测光谱及事先作为参考取得的各种核苷亚磷酸胺(腺嘌呤、胸腺嘧啶、鸟嘌呤、胞嘧啶)的光谱,分别计算 $\cos(a \rightarrow, b \rightarrow)$,如果腺嘌呤的核苷亚磷酸胺的光谱的 $\cos(a \rightarrow, b \rightarrow)$ 最接近1(余弦相似度最大),则判断为检测光谱是腺嘌呤的核苷亚磷酸胺。

$$\cos(\vec{a}, \vec{b}) = \frac{\sum_{i=1}^n a_i b_i}{\sqrt{\sum_{i=1}^n a_i^2} \cdot \sqrt{\sum_{i=1}^n b_i^2}} \quad \dots (1)$$

[0041] 另外,本实施方式的核苷亚磷酸胺识别系统,对核苷亚磷酸胺的识别结果以及作为合成对象的寡核苷酸的序列信息进行对照。本实施方式的核苷亚磷酸胺识别系统,将识别结果与对照结果对应起来,实时地显示在显示器等显示装置上。

[0042] 进而,本实施方式的核苷亚磷酸胺识别系统,在从对照结果中检测出错误的情况下,进行警告通知或对核酸合成装置进行停止核苷亚磷酸胺的输送的控制。

[0043] <核苷亚磷酸胺识别系统的整体结构>

[0044] 首先,参照图1说明本实施方式的核苷亚磷酸胺识别系统的整体结构。图1是示出本实施方式的核苷亚磷酸胺识别系统的整体结构的一例的方框图。

[0045] 如图1所示,本实施方式的核苷亚磷酸胺识别系统1包括核酸合成装置10、检测装置20以及识别装置30。检测装置20与设置在核酸合成装置10的管子上的流动池光学连接。识别装置30与核酸合成装置10及检测装置20电连接。

[0046] 核酸合成装置10是合成寡核苷酸的核酸合成装置。核酸合成装置10包括多个罐子以及柱子,所述罐子储存用于合成寡核苷酸的各种核苷亚磷酸胺的乙腈溶液、包含活化剂的溶液、包含脱保护剂的溶液、包含氧化剂或硫醇化剂的溶液、包含封端剂的溶液、洗涤用乙腈、胺洗涤反应液,所述柱子用于合成寡核苷酸。各罐子及柱子隔着泵并通过管子连接。泵根据寡核苷酸的序列信息,进行将核苷亚磷酸胺溶液从任一个罐输送到柱子的控制。在连接泵与柱子的管子上,设有用于连接各种测量装置的流动池。

[0047] 检测装置20是用于在设置于核酸合成装置10的流动池中对核苷亚磷酸胺溶液的光谱进行检测的测定装置。本实施方式的检测装置20是红外线光谱仪,通过对被输送到柱子之前的核苷亚磷酸胺溶液照射红外线来检测红外吸收光谱。

[0048] 识别装置30是根据检测装置20检测出的核苷亚磷酸胺溶液的红外吸收光谱来识别输送到柱子的核苷亚磷酸胺的种类的PC(个人计算机)、工作站、服务器等信息处理装置。在识别装置30的存储部中,作为参考预先存储有由检测装置20从各种核苷亚磷酸胺溶液中检测出的红外吸收光谱。识别装置30根据存储在存储部中的作为参考的红外吸收光谱以及由检测装置20检测出的作为检测对象的核苷亚磷酸胺溶液的红外吸收光谱的余弦相似度,来识别提供给柱子的核苷亚磷酸胺的种类。

[0049] 另外,图1所示的核苷亚磷酸胺识别系统1的整体结构是一个例子,可根据用途及目的形成各种系统结构例。例如,识别装置30可由多台计算机实现,也可以作为云计算的服务来实现。另外,例如,核苷亚磷酸胺识别系统1也可以由兼备检测装置20及识别装置30各自应该具备的功能的独立的信息处理装置来实现。

[0050] <核苷亚磷酸胺识别系统的硬件结构>

[0051] 接下来,参照图2来说明本实施方式的核苷亚磷酸胺识别系统的硬件结构。

[0052] 《核酸合成装置的硬件结构》

[0053] 图2是示出本实施方式的核酸合成装置10的硬件结构的一例的方框图。如图2所示,本实施方式的核酸合成装置10具有罐子11、泵12、管子13、流动池14、柱子15以及废液罐16。

[0054] 罐子11储存包含核苷亚磷酰胺的乙腈溶液。罐子11由多个罐子构成,在各罐中分别储存包含一种核苷亚磷酰胺的乙腈溶液、包含未图示的活化剂的溶液、包含脱保护剂的溶液、包含氧化剂或硫醇化剂的溶液、包含封端剂的溶液、洗涤用乙腈、胺洗涤反应液。在本实施方式中,罐子11中的核苷亚磷酰胺的DNA的碱基为5种:腺嘌呤(以下记载为“dA”)、胸腺嘧啶(以下记载为“dT”)、鸟嘌呤(以下记载为“dG”)、胞嘧啶(以下记载为“dC”)以及5-甲基-胞嘧啶(下面记载为“5MedC”)。核苷亚磷酰胺并不限于以上,也可以是其他的DNA修饰物、RNA、RNA修饰物。

[0055] 泵12分别通过管子13与罐子11及柱子15连接。泵12将核苷亚磷酰胺溶液从罐子11输送到柱子15。泵12被控制为根据寡核苷酸的序列信息将任意核苷亚磷酰胺溶液依次输送到柱子15。

[0056] 流动池14被设置在连接泵12与柱子15的管子13上。流动池14构成为能够光学连接各种测定装置。

[0057] 柱子15是用于使通过泵12从罐子11输送的核苷亚磷酰胺、活化剂、脱保护剂、氧化剂或硫醇化剂及封端剂产生反应,生成寡核苷酸的反应容器。在柱子15内,例如执行由脱保护、偶联、氧化或硫醇化以及封端等各步骤构成的核酸合成方法。

[0058] 废液罐16通过管子13与柱子15连接。柱子15中使用的溶液被废弃到废液罐16中。

[0059] 图2所示的核酸合成装置10的硬件结构为一例。本实施方式的核酸合成装置10只要能够从输送到柱子15的核苷亚磷酰胺溶液中检测光谱,则可以是任意的硬件结构。

[0060] 《计算机的硬件结构》

[0061] 本实施方式的检测装置20及识别装置30例如由计算机实现。图3是表示本实施方式的计算机500的硬件结构的一例的方框图。

[0062] 如图3所示,计算机500包括CPU(Central Processing Unit)501、ROM(Read Only Memory)502、RAM(Random Access Memory)503、HDD(Hard Disk Drive)504、输入装置505、显示装置506、通信I/F(Interface)507及外部I/F508。CPU501、ROM502及RAM503形成所谓的计算机。计算机500的各硬件通过总线509相互连接。另外,输入装置505及显示装置506也可以是与外部I/F508连接利用的方式。

[0063] CPU501是通过从ROM502或HDD504等的存储装置中将程序或数据读出到RAM503并进行处理来实现计算机500整体的控制或功能的运算装置。

[0064] ROM502是即使切断了电源也能够保持程序或数据的非挥发性半导体存储器(存储装置)的一例。ROM502作为主存储装置发挥功能,其存储用于由CPU501执行HDD504中安装的各种程序所需的各种程序、数据等。具体而言,在ROM502中存储计算机500起动时执行的BIOS(Basic Input/Output System)、EFI(Extensible Firmware Interface)等的引导程序、OS(Operating System)设定、网络设定等数据。

[0065] RAM503是挥发性半导体存储器(存储装置)的一例,如果切断电源,程序或数据就会消失。RAM503例如是DRAM(Dynamic Random Access Memory)或SRAM(Static Random

Access Memory)等。RAM503提供由CPU501执行HDD504中安装的各种程序时展开的工作区域。

[0066] HDD504是存储有程序或数据的非挥发性存储装置的一例。HDD504中存储的程序或数据中,包括作为控制计算机500整体的基本软件的OS,以及在OS上提供各种功能的应用程序等。在此,计算机500也可以使用以闪存作为存储介质的存储设备(例如SSD:Solid State Drive等)来代替HDD504。

[0067] 输入装置505是供用户输入各种信号的触摸面板、操作键或按钮、输入键盘或鼠标、输入声音等声音数据的麦克风等。

[0068] 显示装置506由显示画面的液晶或有机EL(Electro-Luminescence)等的显示器、输出声音等声音数据的扬声器等构成。

[0069] 通信I/F507是连接于通信网络,用于计算机500进行数据通信的接口。

[0070] 外部I/F508是与外部装置的接口。外部装置包括驱动装置510等。

[0071] 驱动装置510是用于设置记录介质511的装置。在此所说的记录介质511包括如CD-ROM、软盘、光磁盘等的以光学、电气或磁气方式记录信息的介质。另外,记录介质511也可以包括如ROM、闪存等的电气记录信息的半导体存储器等。由此,计算机500能够通过外部I/F508进行记录介质511的读取和/或写入。

[0072] 在此,被安装在HDD504中的各种程序,例如,通过将发行的记录介质511设置在连接于外部I/F508的驱动装置510上,并由驱动装置510读取记录介质511中记录的各种程序,来安装各种程序。或者,安装在HDD504中的各种程序,也可以通过通信I/F507与通信网络不同的其他网络载各种程序。

[0073] <核苷亚磷酸胺识别系统的功能构成>

[0074] 接下来,参照图4来说明本实施方式的核苷亚磷酸胺识别系统的功能结构。图4是示出本实施方式的核苷亚磷酸胺识别系统的功能结构的一例的方框图。

[0075] 《核酸合成装置的功能构成》

[0076] 如图4所示,本实施方式的核酸合成装置10包括序列信息输入部101、储液部102、供液部103以及合成部104。

[0077] 序列信息输入部101根据用户的操作,接受由合成部104合成寡核苷酸的核酸合成条件(核苷亚磷酸胺溶液、包含活化剂的溶液、包含脱保护剂的溶液、包含氧化剂或硫醇化剂的溶液、包含封端剂的溶液、洗涤用乙腈及胺洗涤反应液的供液条件等),以及表示核酸合成装置10合成的寡核苷酸的核酸序列的序列信息的输入。序列信息是表示用于合成寡核苷酸的核苷亚磷酸胺的碱基类型及结合顺序的信息。在此情形下,核酸合成装置10根据所述核酸合成条件及所述序列信息(以下,也记载为序列信息等),合成寡核苷酸(以下,也记载为核酸合成模式)。

[0078] 另外,序列信息输入部101根据用户的操作,接受供液部103提供各种核苷亚磷酸胺溶液单体的供液条件、以及所述被提供的各种核苷亚磷酸胺的单体信息的输入。在此情况下,核酸合成装置10不执行核酸合成,而是根据所述供液条件及所述单体信息(以下,也记载为单体信息等),提供各种核苷亚磷酸胺溶液单体(以下,也记载为单体供液模式)。

[0079] 储液部102储存各种核苷亚磷酸胺溶液、包含活化剂的溶液、包含脱保护剂的溶液、包含氧化剂或硫醇化剂的溶液、包含封端剂的溶液、洗涤用乙腈及胺洗涤反应液。储液

部102例如通过图2所示的罐子11来实现。

[0080] 供液部103在核酸合成模式下,根据序列信息输入部101接受到的序列信息等,将储存在储液部102中的核苷亚磷酸胺溶液、包含活化剂的溶液、包含脱保护剂的溶液、包含氧化剂或硫醇化剂的溶液、包含封端剂的溶液、洗涤用乙腈或胺洗涤反应液依次输送到合成部104。

[0081] 供液部103在单体供液模式下,根据序列信息输入部101接受的单体信息等,将储存在储液部102中的核苷亚磷酸胺溶液输送到合成部104。

[0082] 供液部103例如由图2所示的泵12和管子13实现。

[0083] 合成部104在核酸合成模式下,使用由供液部103提供的核苷亚磷酸胺溶液、包含活化剂的溶液、包含脱保护剂的溶液、包含氧化剂或硫醇化剂的溶液、包含封端剂的溶液、洗涤用乙腈及胺洗涤反应液,根据规定的核酸合成法,合成寡核苷酸。合成部104例如由图2所示的柱子15实现。

[0084] 《检测装置的功能结构》

[0085] 如图4所示,本实施方式的检测装置20具备检测部201。

[0086] 检测部201,通过由CPU501执行从图3所示的HDD504在RAM503上展开的程序的处理来实现。

[0087] 检测部201从供液部103提供的核苷亚磷酸胺溶液中检测红外吸收光谱。以下,也将检测部201检测出的红外吸收光谱称为“检测光谱”。另外,检测部201将检测光谱输出到识别装置30。

[0088] 《识别装置的功能结构》

[0089] 如图4所示,本实施方式的识别装置30包括光谱存储部300、序列信息输入部301、相似度计算部302、识别部303、对照部304、结果显示部305、控制部306、序列信息存储部310以及结果存储部320。

[0090] 序列信息输入部301、相似度计算部302、识别部303、对照部304、结果显示部305以及控制部306,通过由CPU501执行从图3所示的HDD504在RAM503上开展的程序的处理来实现。

[0091] 光谱存储部300、序列信息存储部310以及结果存储部320例如使用图3所示的HDD504来实现。

[0092] 光谱存储部300存储事先在单体供液模式下从作为识别对象的核苷亚磷酸胺中检测出的作为参考的红外吸收光谱。以下,存储在光谱存储部300中的红外吸收光谱也称为“识别对象光谱”。识别对象光谱被存储在与通过序列信息输入部301输入的各种核苷亚磷酸胺的单体信息关联的光谱存储部300中。

[0093] 作为识别对象的核苷亚磷酸胺是核酸合成装置10合成的寡核苷酸的序列信息所包含的各种核苷亚磷酸胺。换言之,作为识别对象的核苷亚磷酸胺是核酸合成装置10的储液部102中储存的各种核苷亚磷酸胺。

[0094] 光谱存储部300中存储的识别对象光谱也可以包含针对每种核苷亚磷酸胺使用以不同浓度调合的核苷亚磷酸胺溶液而检测出的多个红外吸收光谱。通过这种结构,除了核苷亚磷酸胺的种类之外,还能够识别乙腈溶液的浓度。

[0095] 序列信息输入部301根据用户的操作,接受核酸合成模式下的寡核苷酸的序列信

息或单体供液模式下的各种核苷亚磷酸胺的单体信息的输入。

[0096] 序列信息存储部310存储由序列信息输入部301接受的寡核苷酸的序列信息或各种核苷亚磷酸胺的单体信息。

[0097] 相似度计算部302计算光谱存储部300中存储的各个识别目标光谱与检测装置20检测出的检测光谱之间的余弦相似度。

[0098] 识别部303根据相似度计算部302计算出的余弦相似度,识别核酸合成装置10的供液部103输送的核苷亚磷酸胺的种类。具体而言,识别部303确定与相似度计算部302计算出的余弦相似度中值最大的余弦相似度对应的识别对象光谱(即,与检测光谱最相似的识别对象光谱)。其次,识别部303将与确定的识别对象光谱对应的核苷亚磷酸胺的种类,确定为被输送的核苷亚磷酸胺的种类。

[0099] 对照部304将识别部303识别出的核苷亚磷酸胺的识别结果与序列信息存储部310中存储的序列信息或单体信息进行对照。具体而言,对照部304,首先根据序列信息或单体信息,确定当前应提供的正确答案的核苷亚磷酸胺。其次,对照部304判定正确答案的核苷亚磷酸胺与识别部303识别出的核苷亚磷酸胺的识别结果是否一致。

[0100] 结果存储部320将识别部303的识别结果与对照部304的对照结果关联起来进行存储。

[0101] 结果显示部305将存储在结果存储部320中的识别结果与对照结果关联起来显示在显示装置506上。此时,如果对照结果表示不一致,结果显示部305就对该情况进行警告显示。

[0102] 在对照部304的对照结果表示不一致的情况下,控制部306对核酸合成装置10进行停止液体输送的控制。停止液体输送的方法根据核酸合成装置10而异,例如有使管子13闭塞以阻止溶液流动、发送停止泵12的控制信号等的方法。

[0103] <核苷亚磷酸胺识别方法的处理步骤>

[0104] 接下来,参照图5来说明本实施方式的核苷亚磷酸胺识别系统所执行的核苷亚磷酸胺识别方法的处理步骤。图5是示出本实施方式的核苷亚磷酸胺识别方法的处理步骤的一例的流程图。

[0105] 在步骤S1-1中,核酸合成装置10具备的序列信息输入部101根据用户的操作,接受寡核苷酸的序列信息等或各种核苷亚磷酸胺的单体信息等的输入。接着,序列信息输入部101将接受的序列信息等或单体信息等发送到供液部103。

[0106] 在步骤S1-2中,识别装置30具备的序列信息输入部301根据用户的操作,接受寡核苷酸的序列信息或各种核苷亚磷酸胺的单体信息的输入。接着,序列信息输入部301将接受的序列信息或单体信息存储在序列信息存储部310中。

[0107] 在步骤S2中,核酸合成装置10具备的供液部103,在核酸合成模式下,根据从序列信息输入部101接受的序列信息等,将储存在储液部102中的核苷亚磷酸胺溶液、包含活化剂的溶液、包含脱保护剂的溶液、包含氧化剂或硫醇化剂的溶液、包含封端剂的溶液、洗涤用乙腈或胺洗涤反应液依次提供给合成部104。

[0108] 供液部103在单体供液模式下,根据从序列信息输入部101接受到的单体信息等,将储存在储液部102中的核苷亚磷酸胺溶液提供给合成部104。

[0109] 另外,供液部103还可以从序列信息输入部301接受寡核苷酸的序列信息或各种核

核苷亚磷酰胺的单体信息。

[0110] 在步骤S3-1中,核酸合成装置10具备的合成部104判断是核酸合成模式还是单体供液模式。在核酸合成模式的情况下,(是)合成部104进行步骤S3-2的处理。在单体供液模式的情况下(否),合成部104跳过步骤S3-2。

[0111] 在步骤S3-2中,核酸合成装置10具备的合成部104,使用由供液部103提供的核苷亚磷酰胺、活化剂、脱保护剂、氧化剂或硫醇化剂及封端剂,按照规定的核酸合成法合成寡核苷酸。

[0112] 在步骤S4中,检测装置20具备的检测部201,从供液部103提供的核苷亚磷酰胺溶液中检测红外吸收光谱。接着,检测部201将检测光谱输出到识别装置30。

[0113] 《红外吸收光谱》

[0114] 在此,关于红外吸收光谱,参照图6进行说明。图6是示出红外吸收光谱的一例的图。

[0115] 具体而言,图6是从dT核苷亚磷酰胺检测出的红外吸收光谱的一例。图6的例子是从包含被调合成200mM浓度的dT核苷亚磷酰胺的乙腈溶液中检测的红外吸收光谱。在图6中,横轴是波数(wavenumber),纵轴是吸光度(absorbance)。

[0116] 返回图5进行说明。在步骤S5中,识别装置30具备的相似度计算部302,接受由检测装置20输出的检测光谱的输入。接着,相似度计算部302读出存储在光谱存储部300中的识别对象光谱。

[0117] 接下来,相似度计算部302针对各个识别对象光谱,计算识别对象光谱与检测光谱的余弦相似度。接着,相似度计算部302将与各个识别对象光谱对应的余弦相似度发送给识别部303。

[0118] 在步骤S6中,识别装置30具备的识别部303从相似度计算部302接受余弦相似度。接着,识别部303确定与接受到的余弦相似度中值最大的余弦相似度对应的识别对象光谱。接着,识别部303将与确定的识别对象光谱对应的核苷亚磷酰胺的种类确定为被输送的核苷亚磷酰胺的种类。

[0119] 识别部303将表示确定的核苷亚磷酰胺的种类的识别结果发送到对照部304。接着,识别部303将识别结果存储在结果存储部320中。

[0120] 另外,识别部303也可以不将识别结果发送到对照部304,而是仅存储在结果存储部320中。在这种情况下,识别部303跳过步骤S7,进入步骤S8的处理。

[0121] 在步骤S7中,识别装置30具备的对照部304从识别部303接受识别结果。接着,对照部304根据存储在序列信息存储部310中的序列信息或单体信息,确定当前应该输送的正确答案的核苷亚磷酰胺。

[0122] 接下来,对照部304判定正确答案的核苷亚磷酰胺与核苷亚磷酰胺的识别结果是否一致。接着,对照部304将表示正确答案与识别结果是否一致的对照结果存储到结果存储部320中。

[0123] 在步骤S8中,识别装置30具备的结果显示部305将结果存储部320中存储的识别结果与对照结果关联起来显示在显示装置506上。此时,如果对照结果表示不一致,结果显示部305对该情况进行警告显示。当对照结果表示不一致时,结果显示部305也可以从显示装置506的扬声器发出警告音。

[0124] 另外,在跳过步骤S7的情况下,结果显示部305将结果存储部320中存储的识别结果显示在显示装置506上。

[0125] 《结果显示画面》

[0126] 在此,关于本实施例的结果显示画面,参照图7进行说明。图7是示出本实施方式的结果显示画面的一例的概念图。

[0127] 如图7所示,本实施方式的结果显示画面1000包括序列信息输入栏1001、序列信息显示栏1002、识别结果显示栏1003、对照结果显示栏1004、开始按钮1008以及取消按钮1009。

[0128] 序列信息输入栏1001根据用户的操作,接受寡核苷酸的序列信息或各种核苷亚磷酰胺的单体信息的输入。当用户输入序列信息或单体信息并按下开始按钮1008时,开始核苷亚磷酰胺的识别。

[0129] 在序列信息显示栏1002中,显示从当前时刻起应该提供的规定数量的核苷亚磷酰胺。在图7的例子中,示出了应该按照dA、5MedC、dC、dT、dG的顺序提供。

[0130] 在识别结果显示栏1003中,依次显示与各序列信息对应的识别结果。在图7的例子中,示出了按照dA、5MedC、dT的顺序进行了识别。“-”表示尚未进行识别。

[0131] 在对照结果显示栏1004中,依序显示与各识别结果对应的对照结果。在对照结果显示栏1004中,以颜色区分显示对照结果。在图7的例子中,白色表示一致,阴影表示不一致,黑色表示未识别。颜色区分的类别,只要是用户能够容易判别的颜色,可以使用任何颜色。例如,可以设定为绿色表示一致,红色表示不一致,灰色表示未识别。另外,对照结果的显示方式不限于颜色区分,只要是用户能够容易理解对照结果的显示方式,可以是任意的显示方式。

[0132] 另外,在跳过了步骤S7的情况下,结果显示画面1000上不会显示对照结果显示栏1004。

[0133] 返回图5进行说明。在步骤S9中,识别装置30具备的对照部304判定步骤S7的对照结果是否表示一致(即,识别结果是否与序列信息或单体信息一致)。在对照结果表示一致的情况下(是),对照部304返回步骤S5的处理,等待接下来被提供的核苷亚磷酰胺的检测光谱。在对照结果表示不一致的情况下(“否”),对照部304进行步骤S10的处理。

[0134] 在步骤S10中,识别装置30具备的控制部306对核酸合成装置10进行停止供液的控制。例如,该控制是闭塞核酸合成装置10的管子13的控制。另外,例如,该控制是发送核酸合成装置10的泵12的停止信号的控制。

[0135] 在步骤S11中,核酸合成装置10具备的供液部103根据来自控制部306的控制,停止供液。例如,核酸合成装置10在管子13被闭塞的情况下,检测到供液异常而自动停止供液。另外,例如,核酸合成装置10在接受到泵12的停止信号时,根据该停止信号停止泵12。

[0136] <第1实施方式的效果>

[0137] 本实施方式的核苷亚磷酰胺识别系统,根据从核苷亚磷酰胺溶液中检测出的红外吸收光谱、以及预先从各种核苷亚磷酰胺溶液中检测出并作为参考预先存储的红外吸收光谱的余弦相似度,来识别核苷亚磷酰胺的种类。

[0138] 在现有技术中,根据PLS判别法来识别核苷亚磷酰胺的种类。然而,在核苷亚磷酰胺为低浓度时,存在识别精度降低的问题。低浓度的核苷亚磷酰胺在检测光谱时容易受到

噪声的影响。

[0139] 尤其是,核酸合成装置在从罐输输送核苷亚磷酸胺溶液时,管内会发生浓度变化。这是因为,在核酸合成法的各步骤之间,有必要用乙腈洗涤管内,通过向充满乙腈的管内注入核苷亚磷酸胺溶液来进行供液。

[0140] 图8是表示在核酸合成装置中以 1250cm^{-1} 光谱强度对输送dT核苷亚磷酸胺溶液时的浓度测定的结果、以历来的PLS判别法对该测定结果进行识别的结果的图。如图8所示,在供液结束附近,核苷亚磷酸胺溶液的浓度递减。因此,按照历来的PLS判别法被误判为dA。如此,按照历来的PLS判别法,若在供液结束附近的浓度降低的状态下进行判定,则会出现错判增多的倾向。

[0141] 在PLS判别法中,是着眼于光谱峰值的位置以及高度等来计算相似度。因此,如果峰值的位置或高度受到噪声影响而有变动时,则识别错误的可能性会增加。相似而言,在余弦相似度中,是着眼光谱形状来计算相似度。因此,即使在峰值的位置或高度受到噪声影响而有变动时,只要光谱形状没有大的变动,就能够正确地进行识别。

[0142] 因此,根据本实施方式的核苷亚磷酸胺识别系统,与历来技术相比,可提高核苷亚磷酸胺的识别精度。

[0143] [第2实施方式]

[0144] 在第1实施方式,检测装置20是红外线光谱仪,其被配置为根据从核苷亚磷酸胺溶液中检测出的红外吸收光谱来识别核苷亚磷酸胺的种类。在第2实施例,检测装置20是拉曼光谱仪,其被配置为根据从核苷亚磷酸胺溶液中检测出的拉曼光谱来识别核苷亚磷酸胺的种类。

[0145] 以下,关于本实施方式的核苷亚磷酸胺识别系统1,以其与第1实施方式的核苷亚磷酸胺识别系统1的不同点为中心进行说明。

[0146] <核苷亚磷酸胺识别系统的功能结构>

[0147] 本实施方式的检测装置20是拉曼光谱仪,其将通过对输送到柱子的核苷亚磷酸胺溶液照射激光而产生的拉曼散射光分解成光谱。

[0148] 本实施方式的检测部201从供液部103提供的核苷亚磷酸胺溶液中检测拉曼光谱。另外,检测部201还将检测出的拉曼光谱输出到识别装置30。

[0149] 本实施方式的光谱存储部300存储从作为识别对象的核苷亚磷酸胺中事先检测出的拉曼光谱。以下,光谱存储部300中存储的拉曼光谱也称为“识别对象光谱”。

[0150] 本实施方式的相似度计算部302计算光谱存储部300中存储的各个拉曼光谱与检测装置20所检测出的拉曼光谱的余弦相似度。

[0151] 本实施方式的识别部303根据相似度计算部302计算出的余弦相似度,对核酸合成装置10的供液部103提供的核苷亚磷酸胺的种类进行识别。

[0152] 《拉曼光谱》

[0153] 在此,关于拉曼光谱,参照图9进行说明。图9是示出拉曼光谱的一例的图。

[0154] 具体而言,图9是从dC核苷亚磷酸胺中检测出的拉曼光谱的一例。图9的例子是从调合浓度为 100mM 的乙腈溶液中检测出的拉曼光谱。在图9中,横轴为拉曼位移(Raman shift),纵轴为光强度(intensity)。另外,图9(A)是在 $0 \sim 80000$ 的范围内表示光强度的曲线图,图9(B)则是将光强度扩大到 $0 \sim 20000$ 的范围的曲线图。

[0155] <第2实施方式的效果>

[0156] 本实施方式的核苷亚磷酰胺识别系统,根据从核苷亚磷酰胺溶液中检测出的拉曼光谱以及预先从各种核苷亚磷酰胺溶液中检测出并作为参考而存储的拉曼光谱的余弦相似度,来识别核苷亚磷酰胺的种类。

[0157] 因此,根据本实施方式的核苷亚磷酰胺识别系统,与第1实施方式同样,与历来技术相比,可提高核苷亚磷酰胺的识别精度。

[0158] [第3实施方式]

[0159] 在第1实施方式中,当序列信息与识别结果的对照结果不一致时,控制部306会对核酸合成装置10进行停止供液的控制。而在第3实施方式中,控制部306被配置为对核酸合成装置10进行废弃被提供的核苷亚磷酰胺溶液的控制。

[0160] 以下,关于本实施方式的核苷亚磷酰胺识别系统1,以其与第1实施方式的核苷亚磷酰胺识别系统1的不同点为中心进行说明。

[0161] 《核酸合成装置的硬件结构》

[0162] 图10是示出本实施方式的核酸合成装置10的硬件结构的一例的方框图。如图10所示,本实施方式的核酸合成装置10与第1实施方式的核酸合成装置10相比,不同点在于还具备电磁阀17及废液管18。

[0163] 电磁阀17被设置在连接流动池14与柱子15的管子13上。另外,电磁阀17还通过废液罐16与废液管18连接。并且,电磁阀17与识别装置30电连接。电磁阀17根据从识别装置30接收的控制信号,进行将管子13输送的核苷亚磷酰胺溶液输送到废液管18的控制。以下,将从电磁阀17通过废液管18与废液罐16连接的路径也称为“废弃路径”。

[0164] <核苷亚磷酰胺识别方法的处理步骤>

[0165] 以下,参照图11来说明本实施方式的核苷亚磷酰胺识别系统所执行的核苷亚磷酰胺识别方法的处理步骤。图11是示出本实施方式的核苷亚磷酰胺识别方法的处理步骤的一例的流程图。

[0166] 如图11所示,本实施方式的核苷亚磷酰胺识别方法与第1实施方式的核苷亚磷酰胺识别方法相比,步骤S10及S11的处理不同。

[0167] 在步骤S10中,识别装置30所具备的控制部306,对核酸合成装置10进行废弃核苷亚磷酰胺溶液的控制。具体而言,该控制是向核酸合成装置10的电磁阀17发送要求的控制信号,以将核苷亚磷酰胺溶液输送到废液管18的控制。

[0168] 在步骤S11中,核酸合成装置10所具备的供液部103根据来自控制部306的控制,将核苷亚磷酰胺溶液提供到废液罐16。具体而言,核酸合成装置10控制电磁阀17以将核苷亚磷酰胺溶液输送到废液管18。

[0169] [实施例1]

[0170] 在实施例1中,在单体供液模式下,使用第1实施方式的核苷亚磷酰胺化物识别系统来识别核苷亚磷酰胺化物。以下,参照图12至图14说明实施例1。

[0171] 另外,在本实施例及以下比较例中,使用相同的核酸合成装置进行判定试验。在判定试验中,不是确认合成中(核酸合成模式)的核苷亚磷酰胺的种类,而是确认各种浓度单体(单体供液模式)下的判定成功率。

[0172] 《参考的取得》

[0173] 在本实施例中,通过以下步骤预先取得了参考。在单体供液模式下,调合成25mM、50mM、100mM、200mM的核苷亚磷酸胺(dA,dG,dT,dC)的乙腈溶液之后,使用所述核酸合成装置将各种核苷亚磷酸胺溶液提供给通过塑料管连接的红外光谱仪(Mettler Toledo(注册商标)公司制造ReactIR15(注册商标))的流动池中,并测定了流动的乙腈溶液的红外吸收光谱。

[0174] 此外,红外线光谱仪的测定条件如下。将测量波数范围设为 $1850 \sim 650\text{cm}^{-1}$ 。将波数分辨率设为 8cm^{-1} 。将累计次数设为16次。

[0175] 将通过以上步骤取得的红外吸收光谱作为参考,与各种核苷亚磷酸胺的单体信息关联起来存储到识别装置30所具备的光谱存储部300中。

[0176] 《实施例1》

[0177] 调合成6.25mM、12.5mM、25mM、50mM、100mM、200mM的核苷亚磷酸胺(dA,dG,dT,dC)的乙腈溶液之后,使用所述核酸合成装置,将各种核苷亚磷酸胺溶液输送到通过塑料管连接的所述红外线光谱仪的流动池,并测定流动的乙腈溶液的红外吸收光谱。在此,红外线光谱仪的测定条件与取得参考时的相同。

[0178] 检测出的红外吸收光谱的数据被依次存储在识别装置30的结果存储部320中。图12是按照溶液浓度及核苷亚磷酸胺的种类分别表示在以上条件下检测出的红外吸收光谱的数据数的图。

[0179] 本实施例是根据余弦相似度对核苷亚磷酸胺进行识别的例子。当检测出的红外吸收光谱从所述红外线光谱仪被存储到识别装置30的结果存储部320中时,对各红外吸收光谱进行指数化,并求出与此时的参考的红外吸收光谱的余弦相似度。然后,将取余弦相似度最大值的核苷亚磷酸胺的种类作为识别结果输出。

[0180] 图13是示出本实施例的识别结果的图。图13是示出各判定试验的判定成功率的表。

[0181] 《比较例1》

[0182] 与本实施例同样,准备预先测量的核苷亚磷酸胺(dA,dG,dT,dC)的红外吸收光谱,作为参考。当检测出的红外吸收光谱从所述红外线光谱仪被存储到识别装置30的结果存储部320中时,通过PLS判别法来判定该红外吸收光谱的核苷亚磷酸胺的种类。

[0183] 图14是示出本比较例中的识别结果的图。图14是示出各判定试验的判定成功率的表。

[0184] 《实施例1与比较例1的比较》

[0185] 如图13及图14所示,在本比较例及本实施例中,在50mM以上的较高浓度下,均能够正确识别全部种类的核苷亚磷酸胺。另一方面,在本比较例中,在25mM时发生了错误识别,确认到浓度越低错误识别的情况越多的倾向。相对而言,在本实施例中,即使在25mM以下的低浓度,也能够正确识别全部种类的核苷亚磷酸胺。

[0186] 如上所述,在本实施例中,通过第1实施方式的核苷亚磷酸胺识别系统,相比于历来方法可获得提高识别精度的结果。

[0187] [实施例2]

[0188] 在实施例2中,在核酸合成模式下,使用第1实施方式的核苷亚磷酸胺识别系统,对核酸合成装置中输送的核苷亚磷酸胺的种类进行识别。以下,参照图15来说明实施例2。

[0189] 《参考的取得》

[0190] 在本实施例中,通过以下步骤预先取得参考。在单体供液模式下,调合成25mM、50mM、100mM、200mM的核苷亚磷酰胺(dA,dG,dT,dC)的乙腈溶液之后,使用所述核酸合成装置,将各种核苷亚磷酰胺溶液提供到通过塑料管连接的所述红外线光谱仪的流动池,并测定流动的乙腈溶液的红外吸收光谱。另外,红外线光谱仪的测定条件与实施例1相同。将通过以上步骤得到的红外吸收光谱作为参考,与各种核苷亚磷酰胺的单体信息关联起来存储到识别装置30所具备的光谱存储部300中。

[0191] 《合成方法》

[0192] 在本实施例中,如下进行寡核苷酸的合成。首先,以合成投入量成为480 μ mol为目标将多孔质树脂珠(NittoPhase(注册商标)HL UnyLinker350)的加入合成柱(容积12.6ml)内,并设置在核酸合成装置(AKTA oligopilot 100(注册商标),Cytiva公司制造)上。接下来,添加200mM的核苷亚磷酰胺及作为活化剂的4,5-二氰咪唑,进行偶联反应。

[0193] 将活化剂全部溶解于乙腈中,调制成0.7M。其他合成试剂如下。作为脱保护剂,使用了甲苯中含3%DCA的溶液。作为氧化剂,使用了用于所述核酸合成装置的0.05M氧化溶液。作为封端剂,使用乙腈中含二甲基吡啶(lutidine)、N-甲基咪唑及乙酸酐的混合溶液。在偶联工序、氧化工序、封端工序、脱保护步骤的各工序之间,用乙腈对管子和合成柱内进行洗涤。作为胺洗涤反应液,使用了乙腈中含TBA(8:2的比例)的溶液。在核酸合成装置中,在DMT-off条件下合成了24merDNA寡核苷酸(5'-TCGACGTATTGACGTATTGACGTA-3'全部氧化:序列号1)。合成后,从核酸合成装置10取出合成柱,使用氨水溶液从合成柱内的多孔树脂珠中切取寡核苷酸,进行精炼,获得精炼物。

[0194] 《判定试验》

[0195] 在执行所述合成方法中取得的红外吸收光谱各为15个样品,以通过24周期的合成所获得的合计360个样品作为判定试验的对象。在判定试验中,对各红外吸收光谱,根据余弦相似度进行核苷亚磷酰胺的识别。

[0196] 图15(A)是示出本实施例中的识别结果的图。如图15所示,在本实施例中,在360个样品中有360个样品是正确的,正确识别出了全种类的核苷亚磷酰胺。相对于此,通过历来的PLS判别法,在360个样品中有324个样品是正确的,错误识别了36个样品。

[0197] 图15(B)是示出输送核苷亚磷酰胺的顺序、以及对设定的序列信息的识别结果的图。在各周期中15个样品全部正确的情况标注“○”,错误识别1个样品以上的情况标注“×”。如图15(B)所示,通过历来的PLS判别法,在输送dT以及dC时有错误识别。

[0198] 如上所述,在本实施例中,通过第1实施方式中的核苷亚磷酰胺识别系统,即使是合成中的核苷亚磷酰胺,与历来的方法相比也可获得提高识别精度的结果。

[0199] [实施例3]

[0200] 在实施例3中,在单体供液模式中,使用第1实施方式的核苷亚磷酰胺识别系统来识别修饰型核苷亚磷酰胺。以下,参照图16来说明实施例3。

[0201] 《参考的取得》

[0202] 在本实施例中,通过以下步骤预先取得了参考。在单体供液模式下,调合成200mM的修饰型核苷亚磷酰胺(2'OMerA,2'OMerC,2'OMerG,5MedC)的乙腈溶液后,使用所述核酸合成装置,将各种修饰型核苷亚磷酰胺溶液提供到通过塑料管连接的所述红外线光谱仪的

流动池,并测定了流动的乙腈溶液的红外吸收光谱。在此,红外线光谱仪的测定条件与实施例1相同。将通过以上的步骤得到的红外吸收光谱作为参考,与各种核苷亚磷酰胺的单体信息关联起来存储在识别装置30所具备的光谱存储部300中。

[0203] 《判定试验》

[0204] 使用所述核酸合成装置,将200mM的4种修饰型核苷亚磷酰胺(2'OMerA,2'OMerC,2'OMerG,5MedC)的乙腈溶液输送到用塑料管连接的所述红外线光谱仪的流动池,并测定了流动的乙腈溶液的红外吸收光谱。

[0205] 当检测出的红外吸收光谱从所述红外线光谱仪被存储到识别装置30的结果存储部320中时,对各红外吸收光谱进行指数化,求出与此时的参考的红外吸收光谱的余弦相似度。然后,将取余弦相似度最大值的修饰型核苷亚磷酰胺的种类作为识别结果输出。

[0206] 图16是示出本实施例的识别结果的图。如图16所示,根据余弦相似度,正确识别出全种类的核苷亚磷酰胺。这表示不仅是无修饰的核苷亚磷酰胺,对修饰型核苷亚磷酰胺也能够根据余弦相似度来进行识别。根据图16的识别结果及实施例2的图15的(在核酸合成模式下)识别结果,可推断为,即使在核酸合成条件(核酸合成模式)下,也能够正确识别修饰型核苷亚磷酰胺。

[0207] [实施例4]

[0208] 在实施例4中,在单体供液模式下,使用第2实施方式的核苷亚磷酰胺识别系统(即,使用拉曼光谱)来识别核苷亚磷酰胺。以下,参照图17来说明实施例4。

[0209] 《参考的取得》

[0210] 在本实施例中,按照以下步骤预先取得了参考。在单体供液模式下,调合成11.8mM,23.5mM,36.6mM,48mM,64mM,80mM,100mM的核苷亚磷酰胺(dA,dG,dT,dC,5MedC)的乙腈溶液之后,使用单柱塞泵(From公司制造,SP-21)将各种核苷亚磷酰胺溶液输送到通过塑料管连接的拉曼光谱仪(Process Instruments公司制造,PI-200)的流动池一体式探针(Marq Metrix公司制造),测定了流动的乙腈溶液的拉曼光谱。

[0211] 另外,拉曼光谱仪的测定条件如下。将激光波长设为532nm。将测量波数范围设为1850~650cm⁻¹。将波数分辨率设为8cm⁻¹。将曝光时间设为1秒。将累计次数设为10次。

[0212] 将通过以上的步骤得到的拉曼光谱,作为参考与各种核苷亚磷酰胺单体信息关联起来存储在识别装置30所具备的光谱存储部300中。

[0213] 《判定试验》

[0214] 配制200mM的核苷亚磷酰胺(dA,dC,5MedC,dT,dG)乙腈溶液后,安装在所述核酸合成装置的配管上。在核酸合成装置的软件设定中,按照dA、dC、5MedC、dT、dG的顺序,将5种核苷亚磷酰胺向拉曼光谱仪的流动池一体型探针供液。

[0215] 在切换核苷亚磷酰胺时,使用12mL的乙腈对塑料管内进行洗涤及置换。求出从流动池获得的拉曼光谱与作为参考登录的拉曼光谱的余弦相似度。然后,将取余弦相似度最大值的核苷亚磷酰胺的种类作为识别结果输出。

[0216] 图17是示出本实施例的识别结果的图。如图17所示,输送了5种核苷亚磷酰胺,正确识别出了全部核苷亚磷酰胺的种类。根据图17的拉曼光谱的识别结果及实施例2的图15的(在核酸合成模式下同样使用余弦相似度)识别结果,推定为即使在核酸合成条件下(核酸合成模式),也能够通过拉曼光谱检测及余弦相似度,正确识别全种类的核苷亚磷酰胺。

[0217] [补充]

[0218] 以上说明的实施方式的各功能,也能够通过一个或多个处理电路来实现。在此,本说明书中的“处理电路”包括如通过电子电路安装的处理电路那样被编程为通过软件来执行各功能的处理器、或被设计为执行以上说明的各功能的ASIC (Application Specific Integrated Circuit)、DSP (Digital Signal Processor)、FPGA (Field Programmable Gate Array)、现有的电路模块等的设备。

[0219] 以上,对本发明的实施方式进行了详细说明,但本发明并不限于这些实施方式,在权利要求范围记载的本发明的主旨的范围内,可以进行各种变形或变更。

[0220] 本申请根据2022年4月18日向日本专利厅提出的日本专利申请2022-68370号请求优先权,并将其全部内容引用用于本申请中。

[0221] 符号说明

[0222] 1核苷亚磷酰胺识别系统

[0223] 10核酸合成装置

[0224] 101序列信息输入部

[0225] 102储液部

[0226] 103供液部

[0227] 104合成部

[0228] 20检测装置

[0229] 201检测部

[0230] 30识别装置

[0231] 300光谱存储部

[0232] 301序列信息输入部

[0233] 302相似度计算部

[0234] 303识别部

[0235] 304对照部

[0236] 305结果显示部

[0237] 306控制部

[0238] 310序列信息存储部

[0239] 320结果存储部

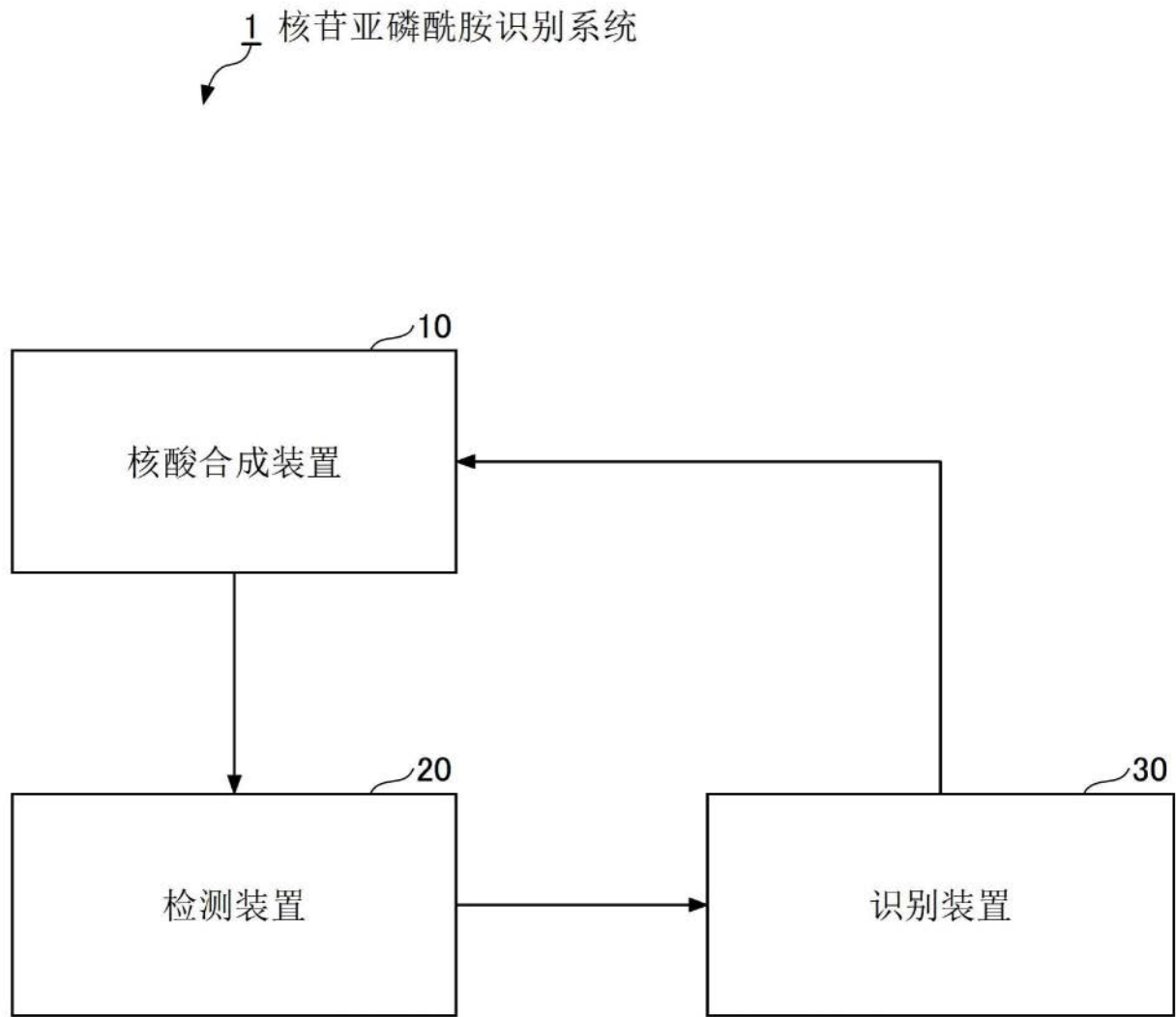


图1

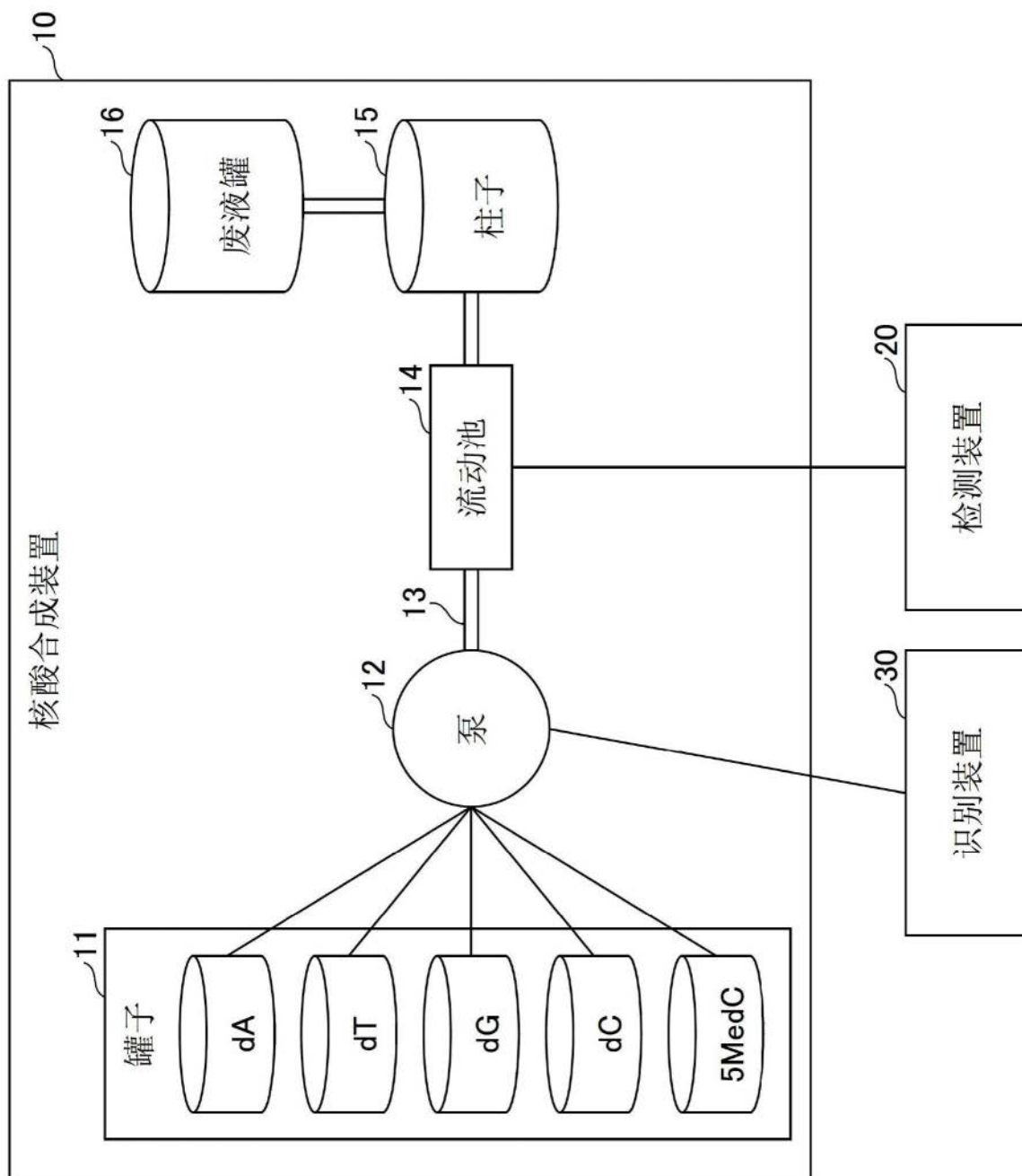


图2

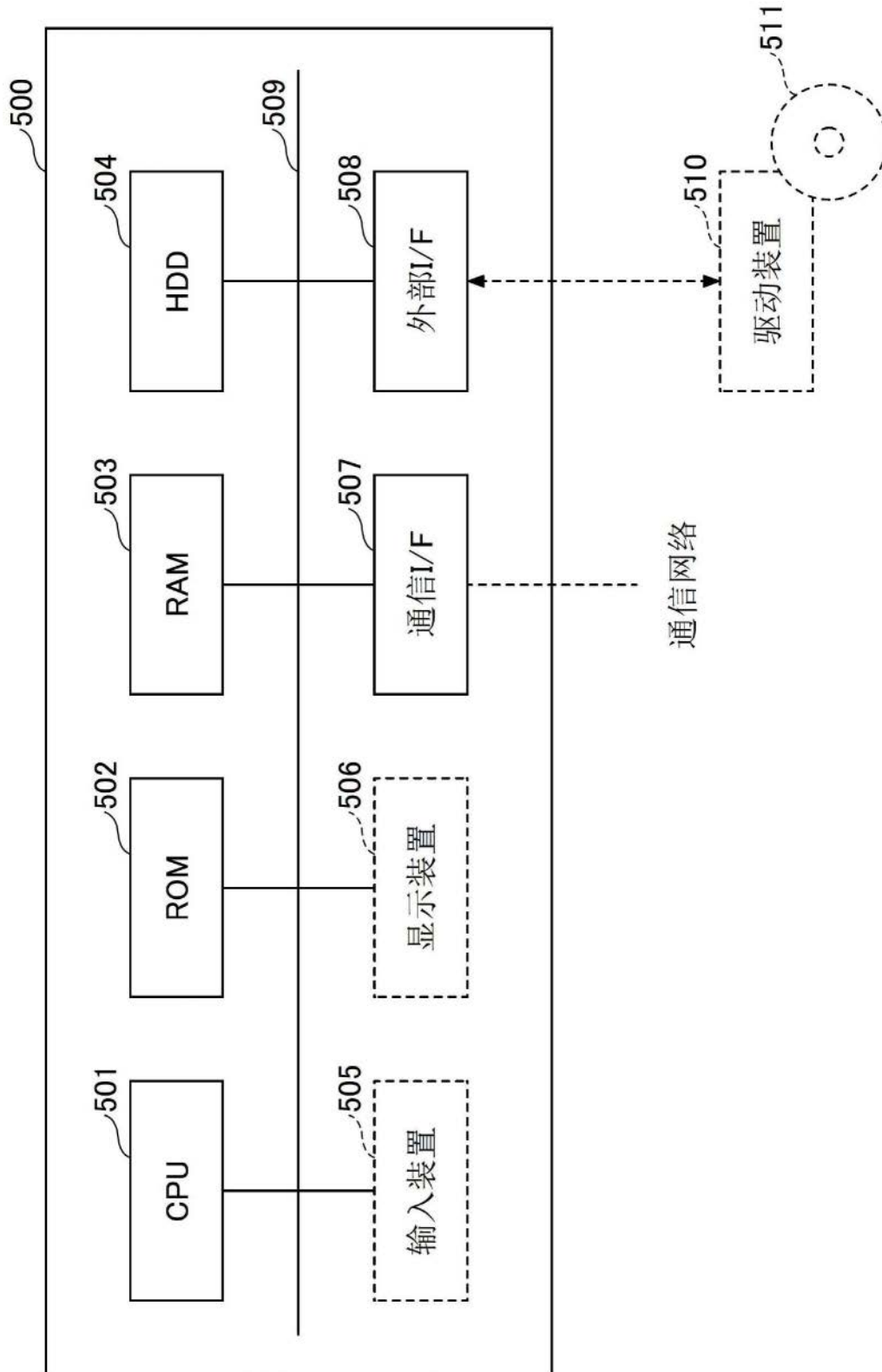


图3

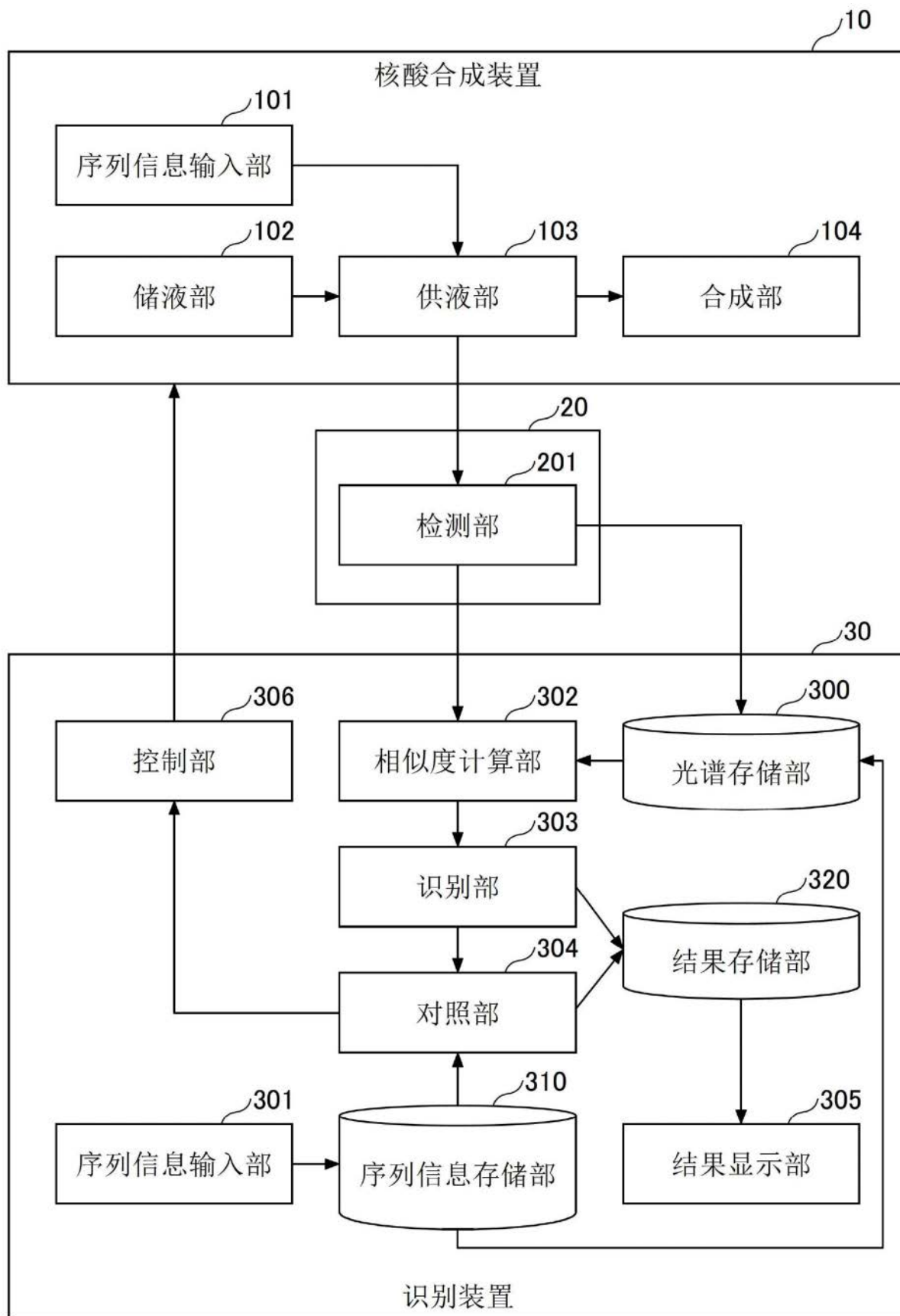


图4

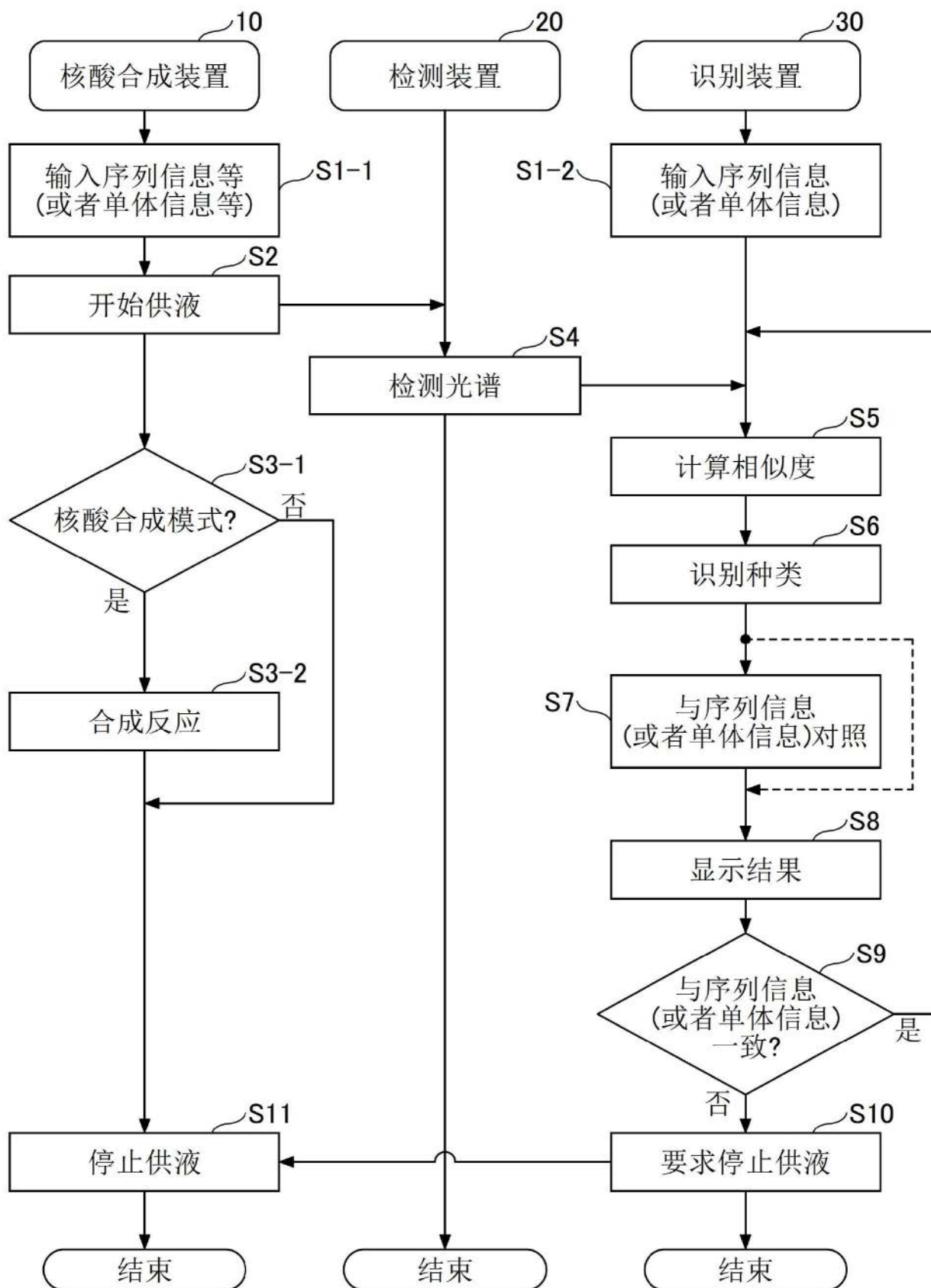


图5

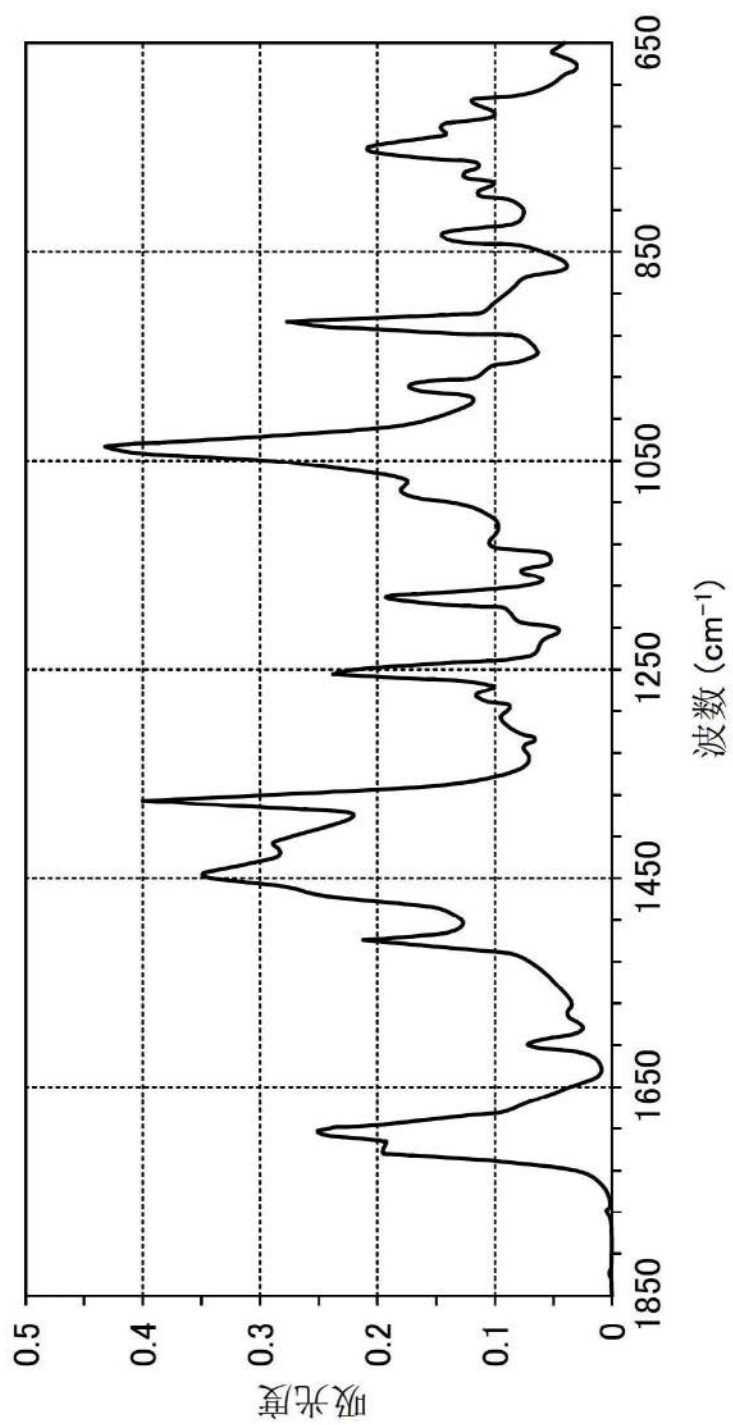


图6

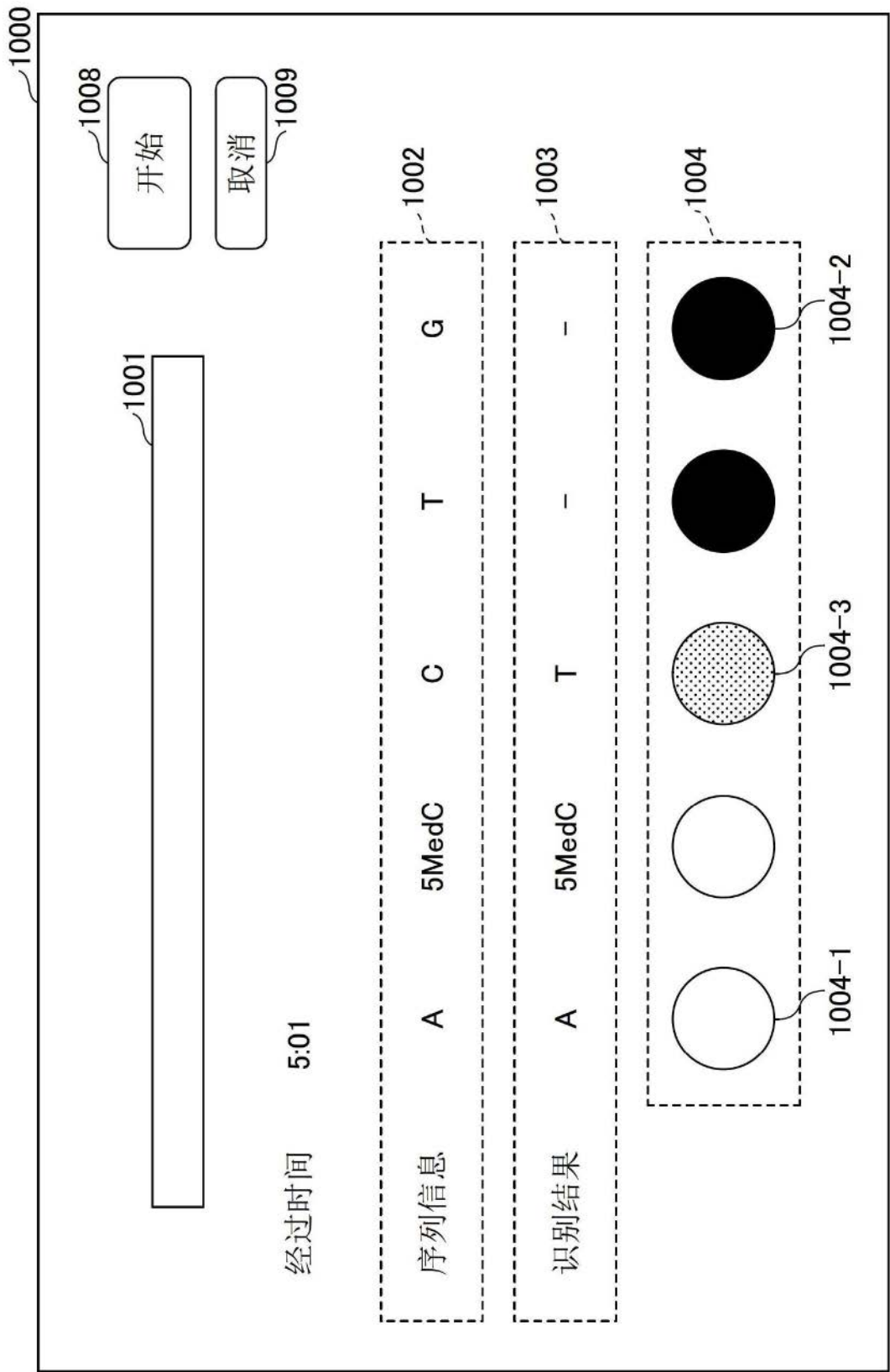


图7

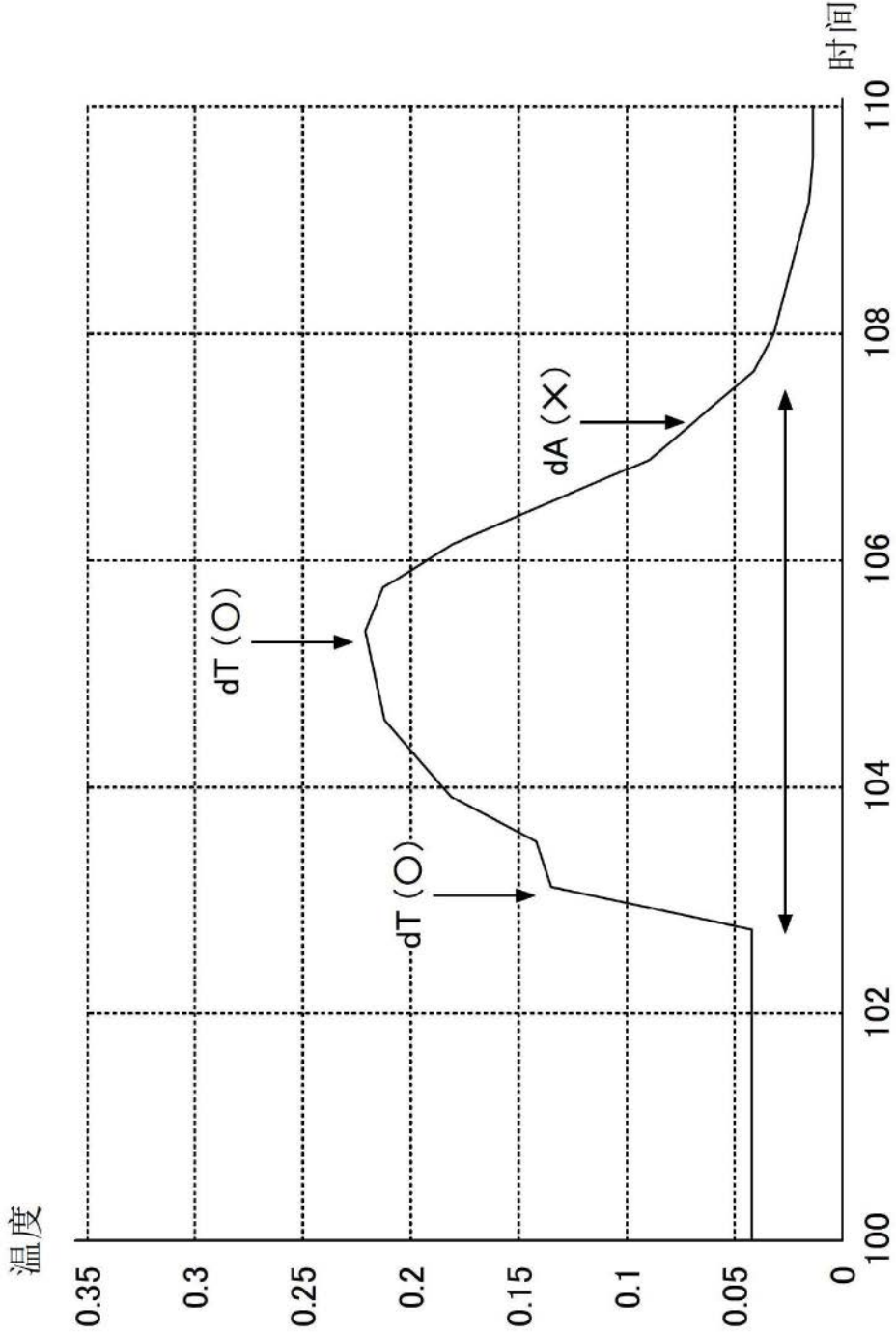


图8

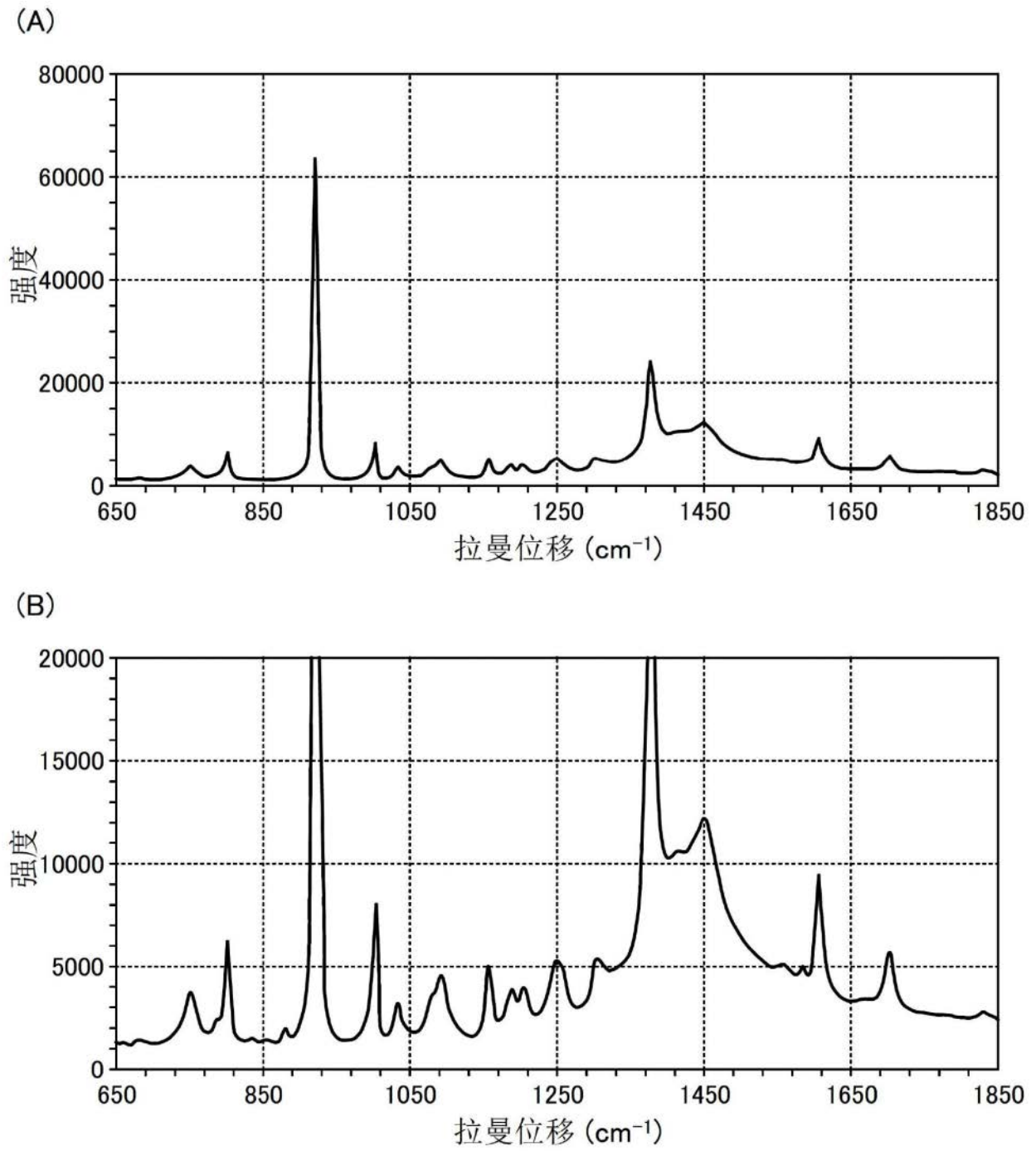


图9

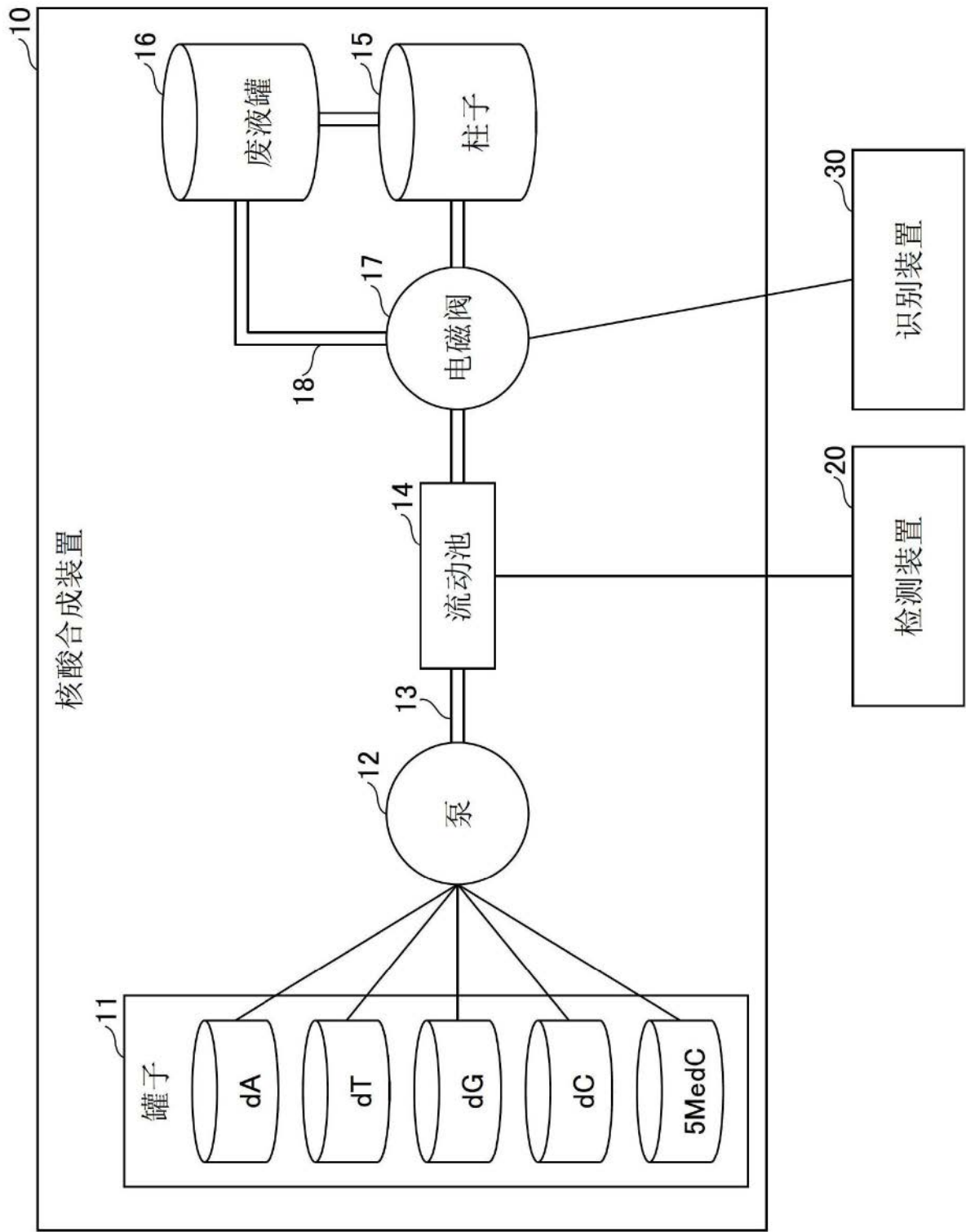


图10

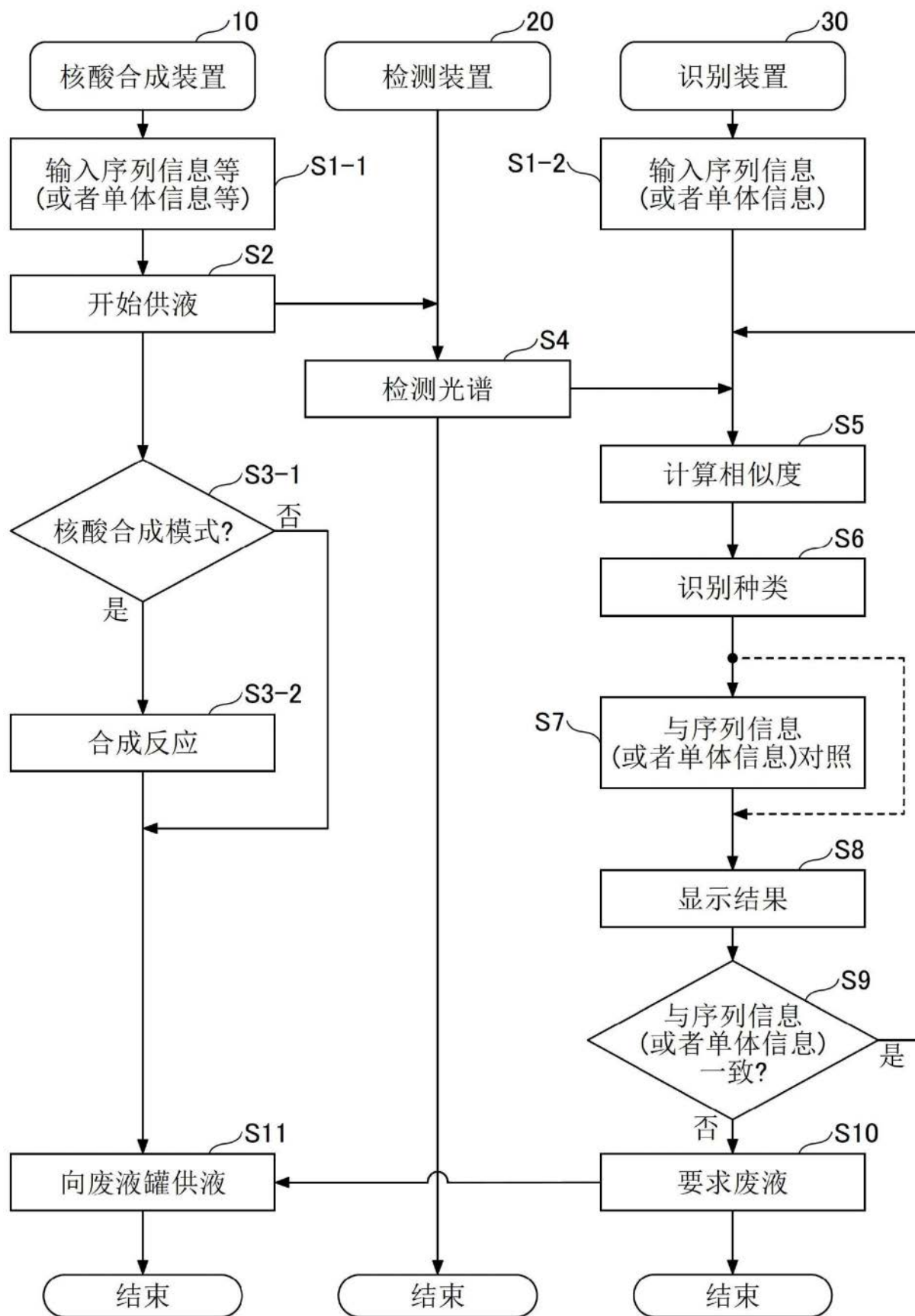


图11

	200 mM	100 mM	50 mM	25 mM	12.5 mM	6.25 mM
dA	13	17	14	16	16	18
dC	14	15	15	17	17	19
dG	14	14	13	16	18	18
dT	14	14	17	15	18	15

图12

	200 mM	100 mM	50 mM	25 mM	12.5 mM	6.25 mM
dA	100%	100%	100%	100%	100%	100%
dC	100%	100%	100%	100%	100%	100%
dG	100%	100%	100%	100%	100%	100%
dT	100%	100%	100%	100%	100%	100%

图13

	200 mM	100 mM	50 mM	25 mM	12.5 mM	6.25 mM
dA	100%	100%	100%	100%	94%	0%
dC	100%	100%	100%	100%	12%	0%
dG	100%	100%	100%	100%	100%	100%
dT	100%	100%	100%	33%	0%	0%

图14

(A)

手法	余弦相似度	PLS判别法
正确率	100% (360/360)	90.0% (324/360)

(B)

顺序	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
设定	A	T	G	C	A	G	T	T	A	T	G	C	A	G	T	T	A	T	G	C	A	G	C	T
余弦相似度	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O
PLS判别法	O	X	O	X	O	O	X	X	O	X	O	X	O	O	X	O	O	X	O	X	O	O	X	X

图15

顺序	1	2	3	4
设定	2'OMerA	2'OMerC	2'OMerG	5MedC
判定	2'OMerA	2'OMerC	2'OMerG	5MedC
结果	○	○	○	○

图16

顺序	1	2	3	4	5
设定	dA	dC	5MedC	dT	dG
判定	dA	dC	5MedC	dT	dG
结果	○	○	○	○	○

图17