

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2023年10月26日(26.10.2023)



(10) 国際公開番号

WO 2023/204089 A1

(51) 国際特許分類:
G01N 21/3577 (2014.01) G01N 21/65 (2006.01)

(21) 国際出願番号: PCT/JP2023/014606

(22) 国際出願日: 2023年4月10日(10.04.2023)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:
特願 2022-068370 2022年4月18日(18.04.2022) JP

(71) 出願人: 日東電工株式会社 (NITTO DENKO CORPORATION) [JP/JP]; 〒5678680 大阪府茨木市下穂積1丁目1番2号 Osaka (JP).

(72) 発明者: 吉田 敬(YOSHIDA, Kei); 〒5678680 大阪府茨木市下穂積1丁目1番2号 日東電工株式会社内 Osaka (JP). 木川 洋一(KIGAWA, Yoichi); 〒5678680 大阪府茨木市下穂積1丁目1番2号 日東電工株式会社内 Osaka (JP). 杉浦 紳介(SUGIURA, Shinsuke); 〒5678680 大阪府茨木市下穂積1丁目1番2号 日東電工株式会社内 Osaka (JP). 前田 恵里(MAETA, Eri); 〒5678680 大阪府茨木市下穂積1丁目1番2号 日東電工株式会社内 Osaka (JP). 松並 淳(MATSUNAMI, Jun); 〒5678680 大阪府茨木市下穂積1丁目1番2号 株式会社日東分析センター内 Osaka (JP).

(74) 代理人: 伊東 忠重, 外(ITO, Tadashige et al.); 〒1000005 東京都千代田区丸の内二丁目1

番1号 丸の内 M Y P L A Z A (明治安田生命ビル) 16階 Tokyo (JP).

(81) 指定国(表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CV, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IQ, IR, IS, IT, JM, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MU, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW.

(84) 指定国(表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, CV, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SC, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, ME, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

一 国際調査報告(条約第21条(3))

(54) Title: NUCLEOSIDE PHOSPHOROAMIDITE IDENTIFICATION SYSTEM, AND NUCLEOSIDE PHOSPHOROAMIDITE IDENTIFICATION METHOD AND PROGRAM

(54) 発明の名称: ヌクレオシドホスホロアミダイト識別システム、ヌクレオシドホスホロアミダイト識別方法及びプログラム

(57) Abstract: The purpose of the present invention is to improve the accuracy of identifying nucleoside phosphoramidite. A nucleoside phosphoramidite identification system comprises: a storage unit for storing spectra of a plurality of different nucleoside phosphoramidite solutions; a detection unit for detecting the spectrum of the nucleoside phosphoramidite solution; and an identification unit for identifying the nucleoside phosphoramidite on the basis of the cosine similarity between the spectrum stored in the storage unit and the spectrum detected by the detection unit.

(57) 要約: ヌクレオシドホスホロアミダイトの識別精度を向上する。ヌクレオシドホスホロアミダイト識別システムは、複数の異なるヌクレオシドホスホロアミダイト溶液のスペクトルを記憶する記憶部と、ヌクレオシドホスホロアミダイト溶液のスペクトルを検出する検出部と、記憶部が記憶するスペクトルと検出部が検出したスペクトルとのコサイン類似度に基づいてヌクレオシドホスホロアミダイトを識別する識別部と、を備える。

WO 2023/204089 A1

明 細 書

発明の名称：

ヌクレオシドホスホロアミダイト識別システム、ヌクレオシドホスホロアミダイト識別方法及びプログラム

技術分野

[0001] この発明は、ヌクレオシドホスホロアミダイト識別システム、ヌクレオシドホスホロアミダイト識別方法及びプログラムに関する。

背景技術

[0002] ヌクレオシドホスホロアミダイトを配列情報に従って結合することで、オリゴヌクレオチドを合成する核酸合成装置がある。例えば、特許文献1には、脱保護ユニット、カップリングユニット、酸化／チオール化ユニット、キャッピングユニット及び洗浄ユニットを備え、複数の反応容器が、所望の核酸配列のための合成スキームに従って各ユニットに移動される核酸合成装置が開示されている。

[0003] 核酸合成プロセスにおけるエラーを検出するために、リアルタイムにモニタリングする技術がある。例えば、非特許文献1には、反応容器に送液されるヌクレオシドホスホロアミダイトのアセトニトリル溶液を赤外線分光器によりリアルタイムにモニタリングする技術が開示されている。非特許文献1に記載の技術では、赤外線分光器により検出した赤外吸収スペクトルを部分的最小二乗判別分析（PLS-DA; Partial Least Squares Discriminant Analysis）（以下、「PLS判定法」とも呼ぶ）で分析することで、送液されるヌクレオシドホスホロアミダイトの種類を識別する。

先行技術文献

特許文献

[0004] 特許文献1：国際公開第2020／210476号

非特許文献

[0005] 非特許文献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.

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0006] しかしながら、PLS判定法では、ヌクレオシドホスホロアミダイトの識別精度が低いという課題がある。特に、ヌクレオシドホスホロアミダイトの濃度が低いほど、ノイズの影響を受け易くなるため、誤識別が多くなる傾向がある。

[0007] 本発明の一態様は、上記のような技術的課題に鑑みて、ヌクレオシドホスホロアミダイトの識別精度を向上することを目的とする。

課題を解決するための手段

[0008] 上記の課題を解決するために、本発明の一態様のヌクレオシドホスホロアミダイト識別システムは、複数の異なるヌクレオシドホスホロアミダイト溶液のスペクトルを記憶する記憶部と、ヌクレオシドホスホロアミダイト溶液のスペクトルを検出する検出部と、記憶部が記憶するスペクトルと検出部が検出したスペクトルとのコサイン類似度に基づいてヌクレオシドホスホロアミダイトを識別する識別部と、を備える。

発明の効果

[0009] 本発明の一態様によれば、ヌクレオシドホスホロアミダイトの識別精度を向上することができる。

図面の簡単な説明

[0010] [図1]図1は、ヌクレオシドホスホロアミダイト識別システムの全体構成の一例を示す図である。

[図2]図2は、核酸合成装置のハードウェア構成の一例を示す図である。

[図3]図3は、コンピュータのハードウェア構成の一例を示す図である。

[図4]図4は、ヌクレオシドホスホロアミダイト識別システムの機能構成の一例を示す図である。

例を示す図である。

[図5]図5は、ヌクレオシドホスホロアミダイト識別方法の処理手順の一例を示す図である。

[図6]図6は、赤外吸収スペクトルの一例を示す図である。

[図7]図7は、結果表示画面の一例を示す図である。

[図8]図8は、ヌクレオシドホスホロアミダイト溶液の濃度変化の一例を示す図である。

[図9]図9は、ラマンスペクトルの一例を示す図である。

[図10]図10は、第3実施形態における核酸合成装置のハードウェア構成の一例を示す図である。

[図11]図11は、第3実施形態におけるヌクレオシドホスホロアミダイト識別方法の処理手順の一例を示す図である。

[図12]図12は、実験データを示す図である。

[図13]図13は、実施例1の識別結果を示す図である。

[図14]図14は、比較例1の識別結果を示す図である。

[図15]図15は、実施例2の識別結果を示す図である。

[図16]図16は、実施例3の識別結果を示す図である。

[図17]図17は、実施例4の識別結果を示す図である。

発明を実施するための形態

[0011] 以下、本発明の各実施形態について添付の図面を参照しながら説明する。
なお、本明細書および図面において、実質的に同一の機能構成を有する構成要素については、同一の符号を付することにより重複した説明を省略する。

[0012] [第1実施形態]

本発明の第1実施形態は、核酸合成装置においてカラムに送液されるヌクレオシドホスホロアミダイトの種類を識別するヌクレオシドホスホロアミダイト識別システムである。本実施形態におけるヌクレオシドホスホロアミダイト識別システムは、赤外線分光器により、ヌクレオシドホスホロアミダイトを含むアセトニトリル溶液（以下、「ヌクレオシドホスホロアミダイト溶

液」とも表記する) から赤外吸収スペクトルを検出する。また、検出した赤外吸収スペクトルと予め記憶した赤外吸収スペクトルとのコサイン類似度に基づいて、送液されるヌクレオシドホスホロアミダイトの種類を識別する。

[0013] なお、ヌクレオシドホスホロアミダイト溶液からスペクトルを検出する方法は、赤外線分光器に限定されない。例えば、赤外線分光器に代えて、ラマン分光器を用いてもよい。ラマン分光器を用いた構成は、第2実施形態で説明する。本実施形態では、その他の分光器を用いることも可能であるが、ヌクレオシドホスホロアミダイトの識別では、好ましくは赤外線分光器又はラマン分光器を用いるとよい。

[0014] コサイン類似度とは、2つのベクトルの類似性を表す尺度である。具体的には、コサイン類似度は、2つのベクトルがなす角のコサイン値である。例えば、ベクトル $\vec{a}=(a_1, a_2, \dots, a_n)$ とベクトル $\vec{b}=(b_1, b_2, \dots, b_n)$ とのコサイン類似度は、式(1)で表される。

[0015] 本発明の各実施形態において、ベクトル $\vec{a}$ とベクトル $\vec{b}$ は、赤外吸収スペクトル又はラマンスペクトルにおける解析波数範囲(以下、測定波数範囲とも表記する)の全波数のベクトルである。ベクトル $\vec{a}$ は、ヌクレオシドホスホロアミダイトの種類が事前に特定されたスペクトル(リファレンス)のデータとする。ベクトル $\vec{b}$ は、ヌクレオシドホスホロアミダイトの種類が未知である検出スペクトルのデータとする。このとき、式(1)の $\cos(\vec{a}, \vec{b})$ が最も1に近ければ、コサイン類似度が最大となる。

[0016] 例えば、未知のヌクレオシドホスホロアミダイトの検出スペクトルと、事前にリファレンスとして取得した各種ヌクレオシドホスホロアミダイト(塩基がアデニン、チミン、グアニン、シトシン)のスペクトルから、それぞれ $\cos(\vec{a}, \vec{b})$ を計算し、アデニンのヌクレオシドホスホロアミダイトのスペクトルの $\cos(\vec{a}, \vec{b})$ が最も1に近い(コサイン類似度が最大の)場合、検出スペクトルはアデニンのヌクレオシドホスホロアミダイトと判定される。

[0017]

[数1]

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

[0018] また、本実施形態におけるヌクレオシドホスホロアミダイト識別システムは、ヌクレオシドホスホロアミダイトの識別結果と、合成対象とするオリゴヌクレオチドの配列情報とを照合する。本実施形態におけるヌクレオシドホスホロアミダイト識別システムは、識別結果及び照合結果を対応付けて、ディスプレイ等の表示装置にリアルタイムに表示する。

[0019] さらに、本実施形態におけるヌクレオシドホスホロアミダイト識別システムは、照合結果から誤りが検出された場合、警告報知又は核酸合成装置に対してヌクレオシドホスホロアミダイトの送液を停止する制御を行う。

[0020] <ヌクレオシドホスホロアミダイト識別システムの全体構成>

まず、本実施形態におけるヌクレオシドホスホロアミダイト識別システムの全体構成を、図1を参照しながら説明する。図1は、本実施形態におけるヌクレオシドホスホロアミダイト識別システムの全体構成の一例を示すブロック図である。

[0021] 図1に示されているように、本実施形態におけるヌクレオシドホスホロアミダイト識別システム1は、核酸合成装置10、検出装置20及び識別装置30を含む。検出装置20は、核酸合成装置10のチューブに設けられたフローセルと光学的に接続される。識別装置30は、核酸合成装置10及び検出装置20と電氣的に接続される。

[0022] 核酸合成装置10は、オリゴヌクレオチドを合成する核酸合成装置である。核酸合成装置10は、オリゴヌクレオチドの合成に用いる各種のヌクレオシドホスホロアミダイトを含むアセトニトリル溶液、活性化剤を含む溶液、脱保護剤を含む溶液、酸化剤又はチオール化剤を含む溶液、キャップ化剤を

含む溶液、洗浄用アセトニトリル、アミンウォッシュ反応液を貯蔵する複数のタンクと、オリゴヌクレオチドを合成するカラムとを備える。各タンクとカラムとはポンプを介してチューブで接続されている。ポンプは、オリゴヌクレオチドの配列情報に従って、いずれか1つのタンクからカラムにヌクレオシドホスホロアミダイト溶液を送液する制御を行う。ポンプとカラムとを繋ぐチューブには、各種の測定装置を接続するためのフローセルが設けられる。

[0023] 検出装置20は、核酸合成装置10に設けられたフローセルにおいてヌクレオシドホスホロアミダイト溶液のスペクトルを検出する測定装置である。本実施形態における検出装置20は、カラムに送液される前のヌクレオシドホスホロアミダイト溶液に赤外線を照射することで赤外吸収スペクトルを検出する赤外線分光器である。

[0024] 識別装置30は、検出装置20が検出したヌクレオシドホスホロアミダイト溶液の赤外吸収スペクトルに基づいて、カラムに送液されるヌクレオシドホスホロアミダイトの種類を識別するPC (Personal Computer)、ワークステーション、サーバ等の情報処理装置である。識別装置30の記憶部には、検出装置20が各種のヌクレオシドホスホロアミダイト溶液から検出した赤外吸収スペクトルがリファレンスとして予め記憶されている。識別装置30は、記憶部に記憶されているリファレンスの赤外吸収スペクトルと、検出装置20が検出した検出対象としてのヌクレオシドホスホロアミダイト溶液の赤外吸収スペクトルとのコサイン類似度に基づいて、カラムに送液されるヌクレオシドホスホロアミダイトの種類を識別する。

[0025] なお、図1に示したヌクレオシドホスホロアミダイト識別システム1の全体構成は一例であって、用途や目的に応じて様々なシステム構成例があり得る。例えば、識別装置30は、複数台のコンピュータにより実現してもよいし、クラウドコンピューティングのサービスとして実現してもよい。また、例えば、ヌクレオシドホスホロアミダイト識別システム1は、検出装置20及び識別装置30がそれぞれ備えるべき機能を兼ね備えたスタンドアローン

の情報処理装置により実現してもよい。

[0026] <ヌクレオシドホスホロアミダイト識別システムのハードウェア構成>

次に、本実施形態におけるヌクレオシドホスホロアミダイト識別システムのハードウェア構成を、図2を参照しながら説明する。

[0027] 《核酸合成装置のハードウェア構成》

図2は、本実施形態における核酸合成装置10のハードウェア構成の一例を示すブロック図である。図2に示されているように、本実施形態における核酸合成装置10は、タンク11、ポンプ12、チューブ13、フローセル14、カラム15及び廃液タンク16を有する。

[0028] タンク11は、ヌクレオシドホスホロアミダイトを含むアセトニトリル溶液を貯蔵する。タンク11は、複数のタンクから構成され、各タンクには、一種のヌクレオシドホスホロアミダイトを含むアセトニトリル溶液、図示しない活性化剤を含む溶液、脱保護剤を含む溶液、酸化剤又はチオール化剤を含む溶液、キャップ化剤を含む溶液、洗浄用アセトニトリル、アミンウォッシュ反応液がそれぞれ貯蔵される。本実施形態において、タンク11に貯蔵されるヌクレオシドホスホロアミダイトは、DNAの塩基がアデニン（以下「dA」と表記する）、チミン（以下、「dT」と表記する）、グアニン（以下、「dG」と表記する）、シトシン（以下、「dC」と表記する）及び5-メチルシトシン（以下、「5Me dC」と表記する）の5種である。ヌクレオシドホスホロアミダイトは、上記に限定されず、その他のDNA修飾体、RNA、RNA修飾体であってもよい。

[0029] ポンプ12は、タンク11及びカラム15とチューブ13でそれぞれ接続される。ポンプ12は、タンク11からカラム15にヌクレオシドホスホロアミダイト溶液を送液する。ポンプ12は、オリゴヌクレオチドの配列情報に従って、いずれかのヌクレオシドホスホロアミダイト溶液を順番にカラム15に送液するように制御される。

[0030] フローセル14は、ポンプ12とカラム15とを接続するチューブ13に設けられる。フローセル14は、各種の測定装置が光学的に接続可能となる

ように構成されている。

[0031] カラム 15 は、ポンプ 12 によりタンク 11 から送液されるヌクレオシドホスホロアミダイト、活性化剤、脱保護剤、酸化剤又はチオール化剤及びキヤップ化剤を反応させ、オリゴヌクレオチドを生成する反応容器である。カラム 15 内では、例えば、脱保護、カップリング、酸化又はチオール化、及びキャッピング等の各工程からなる核酸合成法が実行される。

[0032] 廃液タンク 16 は、カラム 15 とチューブ 13 で接続される。カラム 15 で使用された溶液は廃液タンク 16 へ廃棄される。

[0033] 図 2 に示した核酸合成装置 10 のハードウェア構成は一例である。本実施形態における核酸合成装置 10 は、カラム 15 に送液されるヌクレオシドホスホロアミダイト溶液からスペクトルを検出可能であれば、どのようなハードウェア構成としても構わない。

[0034] 《コンピュータのハードウェア構成》

本実施形態における検出装置 20 及び識別装置 30 は、例えばコンピュータにより実現される。図 3 は、本実施形態におけるコンピュータ 500 のハードウェア構成の一例を示すブロック図である。

[0035] 図 3 に示されているように、コンピュータ 500 は、CPU (Central Processing Unit) 501、ROM (Read Only Memory) 502、RAM (Random Access Memory) 503、HDD (Hard Disk Drive) 504、入力装置 505、表示装置 506、通信 I/F (Interface) 507 及び外部 I/F 508 を有する。CPU 501、ROM 502 及び RAM 503 は、いわゆるコンピュータを形成する。コンピュータ 500 の各ハードウェアは、バスライン 509 を介して相互に接続されている。なお、入力装置 505 及び表示装置 506 は外部 I/F 508 に接続して利用する形態であってもよい。

[0036] CPU 501 は、ROM 502 又は HDD 504 等の記憶装置からプログラムやデータを RAM 503 上に読み出し、処理を実行することで、コンピュータ 500 全体の制御や機能を実現する演算装置である。

[0037] ROM 502 は、電源を切ってもプログラムやデータを保持することがで

きる不揮発性の半導体メモリ（記憶装置）の一例である。ROM502は、HDD504にインストールされている各種プログラムをCPU501が実行するために必要な各種プログラム、データ等を格納する主記憶装置として機能する。具体的には、ROM502には、コンピュータ500の起動時に実行されるBIOS（Basic Input/Output System）、EFI（Extensible Firmware Interface）等のブートプログラムや、OS（Operating System）設定、ネットワーク設定等のデータが格納されている。

[0038] RAM503は、電源を切るとプログラムやデータが消去される揮発性の半導体メモリ（記憶装置）の一例である。RAM503は、例えば、DRAM（Dynamic Random Access Memory）やSRAM（Static Random Access Memory）等である。RAM503は、HDD504にインストールされている各種プログラムがCPU501によって実行される際に展開される作業領域を提供する。

[0039] HDD504は、プログラムやデータを格納している不揮発性の記憶装置の一例である。HDD504に格納されるプログラムやデータには、コンピュータ500全体を制御する基本ソフトウェアであるOS、及びOS上において各種機能を提供するアプリケーション等がある。なお、コンピュータ500はHDD504に替えて、記憶媒体としてフラッシュメモリを用いる記憶装置（例えばSSD：Solid State Drive等）を利用するものであってもよい。

[0040] 入力装置505は、ユーザが各種信号を入力するために用いるタッチパネル、操作キーやボタン、キーボードやマウス、音声等の音データを入力するマイクロホン等である。

[0041] 表示装置506は、画面を表示する液晶や有機EL（Electro-Luminescence）等のディスプレイ、音声等の音データを出力するスピーカ等で構成されている。

[0042] 通信I/F507は、通信ネットワークに接続し、コンピュータ500がデータ通信を行うためのインタフェースである。

[0043] 外部 I / F 5 0 8 は、外部装置とのインタフェースである。外部装置には、ドライブ装置 5 1 0 等がある。

[0044] ドライブ装置 5 1 0 は、記録媒体 5 1 1 をセットするためのデバイスである。ここでいう記録媒体 5 1 1 には、C D - R O M、フレキシブルディスク、光磁気ディスク等のように情報を光学的、電気的あるいは磁氣的に記録する媒体が含まれる。また、記録媒体 5 1 1 には、R O M、フラッシュメモリ等のように情報を電気的に記録する半導体メモリ等が含まれていてもよい。これにより、コンピュータ 5 0 0 は外部 I / F 5 0 8 を介して記録媒体 5 1 1 の読み取り及び／又は書き込みを行うことができる。

[0045] なお、H D D 5 0 4 にインストールされる各種プログラムは、例えば、配布された記録媒体 5 1 1 が外部 I / F 5 0 8 に接続されたドライブ装置 5 1 0 にセットされ、記録媒体 5 1 1 に記録された各種プログラムがドライブ装置 5 1 0 により読み出されることでインストールされる。あるいは、H D D 5 0 4 にインストールされる各種プログラムは、通信 I / F 5 0 7 を介して、通信ネットワークとは異なる他のネットワークよりダウンロードされることでインストールされてもよい。

[0046] <ヌクレオシドホスホロアミダイト識別システムの機能構成>

続いて、本実施形態におけるヌクレオシドホスホロアミダイト識別システムの機能構成を、図 4 を参照しながら説明する。図 4 は本実施形態におけるヌクレオシドホスホロアミダイト識別システムの機能構成の一例を示すブロック図である。

[0047] <<核酸合成装置の機能構成>>

図 4 に示されているように、本実施形態における核酸合成装置 1 0 は、配列情報入力部 1 0 1、貯液部 1 0 2、送液部 1 0 3 及び合成部 1 0 4 を備える。

[0048] 配列情報入力部 1 0 1 は、ユーザの操作に応じて、合成部 1 0 4 がオリゴヌクレオチドを合成する核酸合成条件（ヌクレオシドホスホロアミダイト溶液、活性化剤を含む溶液、脱保護剤を含む溶液、酸化剤又はチオール化剤を

含む溶液、キャップ化剤を含む溶液、洗浄用アセトニトリル及びアミンウォッシュ反応液の送液条件等）、及び核酸合成装置１０が合成するオリゴヌクレオチドの核酸配列を表す配列情報の入力を受け付ける。配列情報は、オリゴヌクレオチドを合成するためにヌクレオシドホスホロアミダイトの塩基の種類及び結合する順番を示す情報である。この場合、核酸合成装置１０は、前記核酸合成条件及び前記配列情報（以下、配列情報等とも表記する）に従って、オリゴヌクレオチドを合成する（以下、核酸合成モードとも表記する）。

[0049] また、配列情報入力部１０１は、ユーザの操作に応じて、送液部１０３が各種ヌクレオシドホスホロアミダイト溶液単体を送液する送液条件、及び前記送液される各種ヌクレオシドホスホロアミダイトの単体情報の入力を受け付ける。この場合、核酸合成装置１０は、核酸合成を実行せずに、前記送液条件及び前記単体情報（以下、単体情報等とも表記する）に従って、各種ヌクレオシドホスホロアミダイト溶液単体を送液する（以下、単体送液モードとも表記する）。

[0050] 貯液部１０２は、各種のヌクレオシドホスホロアミダイト溶液、活性化剤を含む溶液、脱保護剤を含む溶液、酸化剤又はチオール化剤を含む溶液、キャップ化剤を含む溶液、洗浄用アセトニトリル及びアミンウォッシュ反応液を貯蔵する。貯液部１０２は、例えば、図２に示されているタンク１１によって実現される。

[0051] 送液部１０３は、核酸合成モードにおいては、配列情報入力部１０１が受け付けた配列情報等に従って、貯液部１０２に貯蔵されているヌクレオシドホスホロアミダイト溶液、活性化剤を含む溶液、脱保護剤を含む溶液、酸化剤又はチオール化剤を含む溶液、キャップ化剤を含む溶液、洗浄用アセトニトリル又はアミンウォッシュ反応液を合成部１０４に順次送液する。

[0052] 送液部１０３は、単体送液モードにおいては、配列情報入力部１０１が受け付けた単体情報等に従って、貯液部１０２に貯蔵されているヌクレオシドホスホロアミダイト溶液を合成部１０４に送液する。

[0053] 送液部１０３は、例えば、図２に示されているポンプ１２及びチューブ１３によって実現される。

[0054] 合成部１０４は、核酸合成モードにおいて、送液部１０３から送液されたヌクレオシドホスホロアミダイト溶液、活性化剤を含む溶液、脱保護剤を含む溶液、酸化剤又はチオール化剤を含む溶液、カップ化剤を含む溶液、洗浄用アセトニトリル及びアミンウォッシュ反応液を用いて、所定の核酸合成法に従って、オリゴヌクレオチドを合成する。合成部１０４は、例えば、図２に示されているカラム１５によって実現される。

[0055] ≪検出装置の機能構成≫

図４に示されているように、本実施形態における検出装置２０は、検出部２０１を備える。

[0056] 検出部２０１は、図３に示されているＨＤＤ５０４からＲＡＭ５０３上に展開されたプログラムがＣＰＵ５０１に実行させる処理によって実現される。

[0057] 検出部２０１は、送液部１０３が送液するヌクレオシドホスホロアミダイト溶液から赤外吸収スペクトルを検出する。以下、検出部２０１が検出した赤外吸収スペクトルを「検出スペクトル」とも呼ぶ。また、検出部２０１は、検出スペクトルを識別装置３０に出力する。

[0058] ≪識別装置の機能構成≫

図４に示されているように、本実施形態における識別装置３０は、スペクトル記憶部３００、配列情報入力部３０１、類似度計算部３０２、識別部３０３、照合部３０４、結果表示部３０５、制御部３０６、配列情報記憶部３１０及び結果記憶部３２０を備える。

[0059] 配列情報入力部３０１、類似度計算部３０２、識別部３０３、照合部３０４、結果表示部３０５及び制御部３０６は、図３に示されているＨＤＤ５０４からＲＡＭ５０３上に展開されたプログラムがＣＰＵ５０１に実行させる処理によって実現される。

[0060] スペクトル記憶部３００、配列情報記憶部３１０及び結果記憶部３２０は

、例えば、図3に示されているHDD504を用いて実現される。

[0061] スペクトル記憶部300は、識別対象とするヌクレオシドホスホロアミダイトからリファレンスとして事前に単体送液モードにおいて検出した赤外吸収スペクトルを記憶する。以下、スペクトル記憶部300に記憶されている赤外吸収スペクトルを「識別対象スペクトル」とも呼ぶ。識別対象スペクトルは、配列情報入力部301から入力された各種ヌクレオシドホスホロアミダイトの単体情報と関連付けられてスペクトル記憶部300に記憶される。

[0062] 識別対象とするヌクレオシドホスホロアミダイトは、核酸合成装置10が合成するオリゴヌクレオチドの配列情報に含まれる各種のヌクレオシドホスホロアミダイトである。言い換えると、識別対象とするヌクレオシドホスホロアミダイトは、核酸合成装置10の貯液部102が貯蔵する各種のヌクレオシドホスホロアミダイトである。

[0063] スペクトル記憶部300が記憶する識別対象スペクトルは、ヌクレオシドホスホロアミダイトの種類毎に、異なる濃度で調合したヌクレオシドホスホロアミダイト溶液を用いて検出した複数の赤外吸収スペクトルを含んでもよい。このように構成することで、ヌクレオシドホスホロアミダイトの種類に加えて、アセトニトリル溶液の濃度も識別することが可能となる。

[0064] 配列情報入力部301は、ユーザの操作に応じて、核酸合成モードにおけるオリゴヌクレオチドの配列情報又は単体送液モードにおける各種ヌクレオシドホスホロアミダイトの単体情報の入力を受け付ける。

[0065] 配列情報記憶部310は、配列情報入力部301が受け付けたオリゴヌクレオチドの配列情報又は各種ヌクレオシドホスホロアミダイトの単体情報を記憶する。

[0066] 類似度計算部302は、スペクトル記憶部300に記憶されている識別対象スペクトルそれぞれと、検出装置20が検出した検出スペクトルとのコサイン類似度を計算する。

[0067] 識別部303は、類似度計算部302が計算したコサイン類似度に基づいて、核酸合成装置10の送液部103が送液したヌクレオシドホスホロアミ

ダイトの種類を識別する。具体的には、識別部303は、類似度計算部302が計算したコサイン類似度のうち最も値が大きいコサイン類似度に対応する識別対象スペクトル（すなわち、検出スペクトルと最も類似する識別対象スペクトル）を特定する。次に、識別部303は、特定した識別対象スペクトルに対応するヌクレオシドホスホロアミダイトの種類を、送液されたヌクレオシドホスホロアミダイトの種類として特定する。

[0068] 照合部304は、識別部303が識別したヌクレオシドホスホロアミダイトの識別結果と、配列情報記憶部310に記憶されている配列情報又は単体情報とを照合する。具体的には、照合部304は、まず、配列情報又は単体情報に従って、現在送液されるべき正解のヌクレオシドホスホロアミダイトを特定する。次に、照合部304は、正解のヌクレオシドホスホロアミダイトと、識別部303が識別したヌクレオシドホスホロアミダイトの識別結果とが一致するか否かを判定する。

[0069] 結果記憶部320は、識別部303による識別結果と、照合部304による照合結果とを対応付けて記憶する。

[0070] 結果表示部305は、結果記憶部320に記憶されている識別結果と照合結果とを対応付けて表示装置506に表示する。このとき、結果表示部305は、照合結果が不一致を表す場合、その旨を警告する表示を行う。

[0071] 制御部306は、照合部304の照合結果が不一致を表す場合、核酸合成装置10に対して送液を停止する制御を行う。送液を停止する方法は、核酸合成装置10により異なるが、例えば、溶液が流れないようにチューブ13を閉塞する、ポンプ12を停止する制御信号を送信する等の方法がある。

[0072] <ヌクレオシドホスホロアミダイト識別方法の処理手順>

次に、本実施形態におけるヌクレオシドホスホロアミダイト識別システムが実行するヌクレオシドホスホロアミダイト識別方法の処理手順を、図5を参照しながら説明する。図5は本実施形態におけるヌクレオシドホスホロアミダイト識別方法の処理手順の一例を示すフローチャートである。

[0073] ステップS1-1において、核酸合成装置10が備える配列情報入力部1

０１は、ユーザの操作に応じて、オリゴヌクレオチドの配列情報等又は各種ヌクレオシドホスホロアミダイトの単体情報等の入力を受け付ける。次に、配列情報入力部１０１は、受け付けた配列情報等又は単体情報等を送液部１０３に送る。

[0074] ステップＳ１－２において、識別装置３０が備える配列情報入力部３０１は、ユーザの操作に応じて、オリゴヌクレオチドの配列情報又は各種ヌクレオシドホスホロアミダイトの単体情報の入力を受け付ける。次に、配列情報入力部３０１は、受け付けた配列情報又は単体情報を配列情報記憶部３１０に記憶する。

[0075] ステップＳ２において、核酸合成装置１０が備える送液部１０３は、核酸合成モードにおいては、配列情報入力部１０１から受け取った配列情報等に従って、貯液部１０２に貯蔵されているヌクレオシドホスホロアミダイト溶液、活性化剤を含む溶液、脱保護剤を含む溶液、酸化剤又はチオール化剤を含む溶液、キャップ化剤を含む溶液、洗浄用アセトニトリル又はアミンウォッシュ反応液を合成部１０４に順次送液する。

[0076] 送液部１０３は、単体送液モードにおいては、配列情報入力部１０１から受け取った単体情報等に従って、貯液部１０２に貯蔵されているヌクレオシドホスホロアミダイト溶液を合成部１０４に送液する。

[0077] なお、送液部１０３は、配列情報入力部３０１からオリゴヌクレオチドの配列情報又は各種ヌクレオシドホスホロアミダイトの単体情報を受け取ってもよい。

[0078] ステップＳ３－１において、核酸合成装置１０が備える合成部１０４は、核酸合成モードであるか単体送液モードであるかを判定する。核酸合成モードである場合、（ＹＥＳ）合成部１０４は、ステップＳ３－２に処理を進める。単体送液モードである場合（ＮＯ）、合成部１０４は、ステップＳ３－２をスキップする。

[0079] ステップＳ３－２において、核酸合成装置１０が備える合成部１０４は、送液部１０３から送液されたヌクレオシドホスホロアミダイト、活性化剤、

脱保護剤、酸化剤又はチオール化剤及びキャップ化剤を用いて、所定の核酸合成法に従ってオリゴヌクレオチドを合成する。

[0080] ステップS4において、検出装置20が備える検出部201は、送液部103が送液するヌクレオシドホスホロアミダイト溶液から赤外吸収スペクトルを検出する。次に、検出部201は、検出スペクトルを識別装置30に出力する。

[0081] 《赤外吸収スペクトル》

ここで、赤外吸収スペクトルについて、図6を参照しながら説明する。図6は、赤外吸収スペクトルの一例を示す図である。

[0082] 具体的には、図6は、dTヌクレオシドホスホロアミダイトから検出した赤外吸収スペクトルの一例である。図6の例は、200mMの濃度で調合したdTヌクレオシドホスホロアミダイトを含むアセトニトリル溶液から検出した赤外吸収スペクトルである。図6において、横軸は波数（wavenumber）であり、縦軸は吸光度（absorbance）である。

[0083] 図5に戻って説明する。ステップS5において、識別装置30が備える類似度計算部302は、検出装置20が出力する検出スペクトルの入力を受け付ける。次に、類似度計算部302は、スペクトル記憶部300に記憶されている識別対象スペクトルを読み出す。

[0084] 続いて、類似度計算部302は、識別対象スペクトルと検出スペクトルとのコサイン類似度を、識別対象スペクトルそれぞれについて計算する。次に、類似度計算部302は、識別対象スペクトルそれぞれに対応するコサイン類似度を識別部303に送る。

[0085] ステップS6において、識別装置30が備える識別部303は、類似度計算部302からコサイン類似度を受け取る。次に、識別部303は、受け取ったコサイン類似度のうち最も値が大きいコサイン類似度に対応する識別対象スペクトルを特定する。続いて、識別部303は、特定した識別対象スペクトルに対応するヌクレオシドホスホロアミダイトの種類を、送液されたヌクレオシドホスホロアミダイトの種類として特定する。

[0086] 識別部３０３は、特定したヌクレオシドホスホロアミダイトの種類を表す識別結果を照合部３０４に送る。次に、識別部３０３は、識別結果を結果記憶部３２０に記憶する。

[0087] なお、識別部３０３は、識別結果を照合部３０４に送らず、結果記憶部３２０に記憶するのみとしてもよい。この場合、識別部３０３は、ステップＳ７をスキップし、ステップＳ８に処理を進める。

[0088] ステップＳ７において、識別装置３０が備える照合部３０４は、識別部３０３から識別結果を受け取る。次に、照合部３０４は、配列情報記憶部３１０に記憶されている配列情報又は単体情報に従って、現在送液されるべき正解のヌクレオシドホスホロアミダイトを特定する。

[0089] 続いて、照合部３０４は、正解のヌクレオシドホスホロアミダイトと、ヌクレオシドホスホロアミダイトの識別結果とが一致するか否かを判定する。次に、照合部３０４は、正解と識別結果とが一致するか否かを示す照合結果を結果記憶部３２０に記憶する。

[0090] ステップＳ８において、識別装置３０が備える結果表示部３０５は、結果記憶部３２０に記憶されている識別結果と照合結果とを対応付けて表示装置５０６に表示する。このとき、結果表示部３０５は、照合結果が不一致を表す場合、その旨を警告する表示を行う。結果表示部３０５は、照合結果が不一致を表す場合、表示装置５０６のスピーカから警告音を出力してもよい。

[0091] なお、ステップＳ７がスキップされた場合、結果表示部３０５は、結果記憶部３２０に記憶されている識別結果を表示装置５０６に表示する。

[0092] ≪結果表示画面≫

ここで、本実施形態における結果表示画面について、図７を参照しながら説明する。図７は、本実施形態における結果表示画面の一例を示す概念図である。

[0093] 図７に示されているように、本実施形態における結果表示画面１０００は、配列情報入力欄１００１、配列情報表示欄１００２、識別結果表示欄１００３、照合結果表示欄１００４、開始ボタン１００８及びキャンセルボタン

1009を有する。

[0094] 配列情報入力欄1001は、ユーザの操作に応じて、オリゴヌクレオチドの配列情報又は各種ヌクレオシドホスホロアミダイトの単体情報の入力を受け付ける。ユーザが配列情報又は単体情報を入力し、開始ボタン1008を押下すると、ヌクレオシドホスホロアミダイトの識別が開始される。

[0095] 配列情報表示欄1002には、現時点から送液されるべき所定の数のヌクレオシドホスホロアミダイトが表示される。図7の例では、dA、5Me dC、dC、dT、dGの順で送液されるべきことが示されている。

[0096] 識別結果表示欄1003には、各配列情報に対応する識別結果が順番に表示される。図7の例では、dA、5Me dC、dTの順に識別されたことが示されている。なお、「－」はまだ識別が行われていないことを表している。

[0097] 照合結果表示欄1004には、各識別結果に対応する照合結果が順番に表示される。照合結果表示欄1004では、照合結果が色分けして表示される。図7の例では、白塗りが一致を表し、網掛けが不一致を表し、黒塗りが未識別を表している。色分けの種別は、ユーザが容易に判別できる色であれば、どのような色を用いても構わない。例えば、一致は緑色、不一致は赤色、未識別は灰色等に設定すればよい。また、照合結果の表示態様は色分けに限定されず、ユーザが照合結果を容易に理解できる表示態様であればどのような表示態様でも構わない。

[0098] なお、ステップS7がスキップされた場合、結果表示画面1000には、照合結果表示欄1004は表示されない。

[0099] 図5に戻って説明する。ステップS9において、識別装置30が備える照合部304は、ステップS7の照合結果が一致を表すか否か（すなわち、識別結果が配列情報又は単体情報と一致するか否か）を判定する。照合結果が一致を表す場合（YES）、照合部304は、ステップS5に処理を戻し、次に送液されるヌクレオシドホスホロアミダイトの検出スペクトルを待機する。照合結果が不一致を表す場合（NO）、照合部304は、ステップS1

0に処理を進める。

[0100] ステップS 1 0において、識別装置3 0が備える制御部3 0 6は、核酸合成装置1 0に対して送液を停止する制御を行う。例えば、当該制御は、核酸合成装置1 0のチューブ1 3を閉塞する制御である。また、例えば、当該制御は、核酸合成装置1 0のポンプ1 2の停止信号を送信する制御である。

[0101] ステップS 1 1において、核酸合成装置1 0が備える送液部1 0 3は、制御部3 0 6からの制御に応じて、送液を停止する。例えば、核酸合成装置1 0は、チューブ1 3が閉塞された場合、送液異常を検知して自動的に送液を停止する。また、例えば、核酸合成装置1 0は、ポンプ1 2の停止信号を受信した場合、当該停止信号に応じてポンプ1 2を停止する。

[0102] <第1実施形態の効果>

本実施形態におけるヌクレオシドホスホロアミダイト識別システムは、ヌクレオシドホスホロアミダイト溶液から検出した赤外吸収スペクトルと、予め各種のヌクレオシドホスホロアミダイト溶液から検出し、リファレンスとして記憶しておいた赤外吸収スペクトルとのコサイン類似度に基づいて、ヌクレオシドホスホロアミダイトの種類を識別する。

[0103] 従来技術では、P L S判定法に基づいて、ヌクレオシドホスホロアミダイトの種類を識別している。しかしながら、ヌクレオシドホスホロアミダイトが低濃度である場合、識別精度が低下するという課題がある。低濃度のヌクレオシドホスホロアミダイトでは、スペクトルを検出する際にノイズの影響を受けやすいことが一因である。

[0104] 特に、核酸合成装置は、タンクからカラムへヌクレオシドホスホロアミダイト溶液を送液する際に、チューブ内で濃度変化が発生する。核酸合成法の各工程間ではチューブ内をアセトニトリルで洗浄する必要があり、アセトニトリルで満たされたチューブ内にヌクレオシドホスホロアミダイト溶液を注入することで送液が行われるためである。

[0105] 図8は、核酸合成装置において、d Tヌクレオシドホスホロアミダイト溶液を送液した際の濃度を1250cm⁻¹スペクトル強度で測定した結果と、当該測定

結果を従来のPLS判定法で識別した結果とを表したグラフである。図8に示されているように、送液終了付近では、ヌクレオシドホスホロアミダイト溶液の濃度は逡減する。そのため、従来のPLS判定法ではdAと誤判定されている。このように、従来のPLS判定法では、送液終了付近の濃度が低下した状態で判定が行われると、誤判定が多くなる傾向がある。

[0106] PLS判定法では、スペクトルのピークの位置及び高さ等に着目して類似度を計算する。そのため、ノイズの影響でピークの位置又は高さの変動した場合、識別を誤る可能性が高くなる。一方、コサイン類似度では、スペクトル形状に着目して類似度を計算する。そのため、ノイズの影響でピークの位置又は高さの変動したとしても、スペクトル形状が大きく変動しなければ正しく識別することが可能である。

[0107] したがって、本実施形態におけるヌクレオシドホスホロアミダイト識別システムによれば、ヌクレオシドホスホロアミダイトの識別精度が従来と比べて向上する。

[0108] [第2実施形態]

第1実施形態では、検出装置20が赤外線分光器であり、ヌクレオシドホスホロアミダイト溶液から検出した赤外吸収スペクトルに基づいて、ヌクレオシドホスホロアミダイトの種類を識別するように構成した。第2実施形態では、検出装置20がラマン分光器であり、ヌクレオシドホスホロアミダイト溶液から検出したラマンスペクトルに基づいて、ヌクレオシドホスホロアミダイトの種類を識別するように構成する。

[0109] 以下、本実施形態におけるヌクレオシドホスホロアミダイト識別システム1について、第1実施形態におけるヌクレオシドホスホロアミダイト識別システム1との相違点を中心に説明する。

[0110] <ヌクレオシドホスホロアミダイト識別システムの機能構成>

本実施形態における検出装置20は、カラムに送液されるヌクレオシドホスホロアミダイト溶液にレーザーを照射することで発生したラマン散乱光をスペクトルに分解するラマン分光器である。

[0111] 本実施形態における検出部201は、送液部103が送液するヌクレオシドホスホロアミダイト溶液からラマンスペクトルを検出する。また、検出部201は、検出したラマンスペクトルを識別装置30に出力する。

[0112] 本実施形態におけるスペクトル記憶部300は、識別対象とするヌクレオシドホスホロアミダイトから事前に検出したラマンスペクトルを記憶する。以下、スペクトル記憶部300に記憶されているラマンスペクトルを「識別対象スペクトル」とも呼ぶ。

[0113] 本実施形態における類似度計算部302は、スペクトル記憶部300に記憶されているラマンスペクトルそれぞれと、検出装置20が検出したラマンスペクトルとのコサイン類似度を計算する。

[0114] 本実施形態における識別部303は、類似度計算部302が計算したコサイン類似度に基づいて、核酸合成装置10の送液部103が送液したヌクレオシドホスホロアミダイトの種類を識別する。

[0115] 《ラマンスペクトル》

ここで、ラマンスペクトルについて、図9を参照しながら説明する。図9は、ラマンスペクトルの一例を示す図である。

[0116] 具体的には、図9は、dCヌクレオシドホスホロアミダイトから検出したラマンスペクトルの一例である。図9の例は、100mMの濃度で調合したアセトニトリル溶液から検出したラマンスペクトルである。図9において、横軸はラマンシフト（Raman shift）であり、縦軸は光強度（intensity）である。なお、図9（A）は、光強度を0～80000の範囲で示したグラフであり、図9（B）は、光強度を0～20000の範囲に拡大したグラフである。

[0117] ＜第2実施形態の効果＞

本実施形態におけるヌクレオシドホスホロアミダイト識別システムは、ヌクレオシドホスホロアミダイト溶液から検出したラマンスペクトルと、予め各種のヌクレオシドホスホロアミダイト溶液から検出し、リファレンスとして記憶しておいたラマンスペクトルとのコサイン類似度に基づいて、ヌクレ

オシドホスホロアミダイトの種類を識別する。

[0118] したがって、本実施形態におけるヌクレオシドホスホロアミダイト識別システムによれば、第1実施形態と同様に、ヌクレオシドホスホロアミダイトの識別精度が従来と比べて向上する。

[0119] [第3実施形態]

第1実施形態では、配列情報と識別結果との照合結果が不一致であった場合、制御部306が、核酸合成装置10に対して送液を停止する制御を行うように構成した。第3実施形態では、制御部306が、核酸合成装置10に対して、送液されるヌクレオシドホスホロアミダイト溶液を廃棄する制御を行うように構成する。

[0120] 以下、本実施形態におけるヌクレオシドホスホロアミダイト識別システム1について、第1実施形態におけるヌクレオシドホスホロアミダイト識別システム1との相違点を中心に説明する。

[0121] <核酸合成装置のハードウェア構成>

図10は、本実施形態における核酸合成装置10のハードウェア構成の一例を示すブロック図である。図10に示されているように、本実施形態における核酸合成装置10は、第1実施形態における核酸合成装置10と比較して、電磁バルブ17及び廃液チューブ18をさらに有する点が異なる。

[0122] 電磁バルブ17は、フローセル14とカラム15とを接続するチューブ13に設けられる。また、電磁バルブ17は、廃液タンク16と廃液チューブ18でさらに接続される。さらに、電磁バルブ17は、識別装置30と電氣的に接続される。電磁バルブ17は、識別装置30から受信する制御信号に応じて、チューブ13を送液されるヌクレオシドホスホロアミダイト溶液を廃液チューブ18に送液するように制御される。以下、電磁バルブ17から廃液チューブ18を通して廃液タンク16に繋がる経路を「廃棄経路」とも呼ぶ。

[0123] <ヌクレオシドホスホロアミダイト識別方法の処理手順>

次に、本実施形態におけるヌクレオシドホスホロアミダイト識別システム

が実行するヌクレオシドホスホロアミダイト識別方法の処理手順を、図 1 1 を参照しながら説明する。図 1 1 は本実施形態におけるヌクレオシドホスホロアミダイト識別方法の処理手順の一例を示すフローチャートである。

[0124] 図 1 1 に示されているように、本実施形態におけるヌクレオシドホスホロアミダイト識別方法は、第 1 実施形態におけるヌクレオシドホスホロアミダイト識別方法と比較して、ステップ S 1 0 及び S 1 1 の処理が異なる。

[0125] ステップ S 1 0 において、識別装置 3 0 が備える制御部 3 0 6 は、核酸合成装置 1 0 に対してヌクレオシドホスホロアミダイト溶液を廃棄する制御を行う。具体的には、当該制御は、ヌクレオシドホスホロアミダイト溶液を廃液チューブ 1 8 に送液するように、核酸合成装置 1 0 の電磁バルブ 1 7 に要求する制御信号を送信する制御である。

[0126] ステップ S 1 1 において、核酸合成装置 1 0 が備える送液部 1 0 3 は、制御部 3 0 6 からの制御に応じて、ヌクレオシドホスホロアミダイト溶液を廃液タンク 1 6 に送液する。具体的には、核酸合成装置 1 0 は、ヌクレオシドホスホロアミダイト溶液が廃液チューブ 1 8 に送液されるように電磁バルブ 1 7 を制御する。

[0127] [実施例 1]

実施例 1 では、単体送液モードにおいて、第 1 実施形態におけるヌクレオシドホスホロアミダイト識別システムを用いてヌクレオシドホスホロアミダイトを識別した。以下、実施例 1 について、図 1 2 から図 1 4 を参照しながら説明する。

[0128] なお、本実施例と下記比較例とで、同じ核酸合成装置を使用して判定試験を行った。判定試験では、合成中（核酸合成モード）のヌクレオシドホスホロアミダイトの種類ではなく、各種濃度単体（単体送液モード）での判定成功率を確認した。

[0129] ≪リファレンスの取得≫

本実施例では、以下の手順でリファレンスを事前に取得した。単体送液モードにおいて、25mM, 50mM, 100mM, 200mM のヌクレオシドホスホロアミダイト

(d A, d G, d T, d C)のアセトニトリル溶液を調合した後、上記核酸合成装置を用いて、各種のヌクレオシドホスホロアミダイト溶液をプラスチックチューブで繋げた赤外線分光器 (Mettler Toledo (登録商標) 社製ReactIR 15 (登録商標)) のフローセルに送液し、流れるアセトニトリル溶液の赤外吸収スペクトルを測定した。

[0130] なお、赤外線分光器の測定条件は、以下のとおりである。測定波数範囲は、 $1850\sim650\text{cm}^{-1}$ とした。波数分解能は、 8cm^{-1} とした。積算回数は、16回とした。

[0131] 上記の手順で得られた赤外吸収スペクトルを、識別装置30が備えるスペクトル記憶部300にリファレンスとして各種ヌクレオシドホスホロアミダイトの単体情報と関連付けられて記憶した。

[0132] ≪実施例1≫

6.25mM, 12.5mM, 25mM, 50mM, 100mM, 200mMのヌクレオシドホスホロアミダイト(d A, d G, d T, d C)のアセトニトリル溶液を調合した後、上記核酸合成装置を用いて、各種ヌクレオシドホスホロアミダイト溶液をプラスチックチューブで繋げた上記赤外線分光器のフローセルに送液し、流れるアセトニトリル溶液の赤外吸収スペクトルを測定した。なお、赤外線分光器の測定条件は、リファレンス取得時と同様である。

[0133] 検出された赤外吸収スペクトルのデータは、識別装置30の結果記憶部320に逐次記憶される。図12は、上記の条件で検出された赤外吸収スペクトルのデータ数を、溶液の濃度及びヌクレオシドホスホロアミダイトの種類毎に示した図である。

[0134] 本実施例は、コサイン類似度に基づいて、ヌクレオシドホスホロアミダイトの識別を行った例である。上記の赤外線分光器から検出された赤外吸収スペクトルが識別装置30の結果記憶部320に記憶されると、それぞれの赤外吸収スペクトルを指数化し、そのときのリファレンスの赤外吸収スペクトルとのコサイン類似度を求めた。そしてコサイン類似度の最大値を取るヌクレオシドホスホロアミダイトの種類を識別結果として出力させた。

[0135] 図13は、本実施例における識別結果を示す図である。図13は、各判定試験における判定成功率を示す表である。

[0136] <<比較例1>>

本実施例と同様に、予め計測したヌクレオシドホスホロアミダイト(dA, dG, dT, dC)の赤外吸収スペクトルを用意し、リファレンスとした。上記の赤外線分光器から検出された赤外吸収スペクトルが識別装置30の結果記憶部320に記憶されると、PLS判定法によりその赤外吸収スペクトルのヌクレオシドホスホロアミダイトの種類を判定した。

[0137] 図14は、本比較例における識別結果を示す図である。図14は、各判定試験における判定成功率を示す表である。

[0138] <<実施例1と比較例1との比較>>

図13及び図14に示されているように、本比較例及び本実施例とも、50mM以上の比較的高濃度では、全種のヌクレオシドホスホロアミダイトを正しく識別できた。一方、本比較例では、25mMで誤識別が発生し、濃度が低くなるほど誤識別するケースが多くなる傾向が見られた。一方、本実施例では、25mM以下の低濃度であっても全種のヌクレオシドホスホロアミダイトを正しく識別できた。

[0139] 上記のように、本実施例において、第1実施形態におけるヌクレオシドホスホロアミダイト識別システムによって、従来手法よりも識別精度が向上するという結果が得られた。

[0140] [実施例2]

実施例2では、核酸合成モードにおいて、核酸合成装置において送液されるヌクレオシドホスホロアミダイトの種類を、第1実施形態におけるヌクレオシドホスホロアミダイト識別システムを用いて識別した。以下、実施例2について、図15を参照しながら説明する。

[0141] <<リファレンスの取得>>

本実施例では、以下の手順でリファレンスを事前に取得した。単体送液モードにおいて、25mM, 50mM, 100mM, 200mMのヌクレオシドホスホロアミダイト

ト(d A, d G, d T, d C)のアセトニトリル溶液を調合した後、上記核酸合成装置を用いて、各種のヌクレオシドホスホロアミダイト溶液をプラスチックチューブで繋げた上記赤外線分光器のフローセルに送液し、流れるアセトニトリル溶液の赤外吸収スペクトルを測定した。なお、赤外線分光器の測定条件は、実施例1と同様である。上記の手順で得られた赤外吸収スペクトルを、識別装置30が備えるスペクトル記憶部300にリファレンスとして各種ヌクレオシドホスホロアミダイトの単体情報と関連付けられて記憶した。

[0142] 《合成方法》

本実施例では、以下のようにオリゴヌクレオチドの合成を行った。まず、多孔質樹脂ビーズ(NittoPhase(登録商標)HL UnyLinker350)を合成スケール480 μ molになるように合成カラム(容積12.6ml)に入れ、核酸合成装置(AKTA oligopilot 100(登録商標)、Cytiva(登録商標)社製)にセットした。続いて、ヌクレオシドホスホロアミダイト200mM及び活性化剤として4,5-ジシアノイミダゾールを添加し、カップリング反応を行った。

[0143] 活性化剤はすべてアセトニトリルに溶解させ、0.7Mに調製した。その他の合成試薬は、以下のとおりである。脱保護剤としてトルエン中3%DCAを用いた。酸化剤として使用する上記核酸合成装置用の0.05M酸化溶液を用いた。キャップ化剤としてアセトニトリル中ルチジン、N-メチルイミダゾール及び無水酢酸の混合溶液を用いた。カップリング工程、酸化工程、キャッピング工程、脱保護工程の各工程間では、チューブ及び合成カラム内をアセトニトリルで洗浄した。アミンウォッシュ反応液としてアセトニトリル中TBA(8:2の比率)を用いた。核酸合成装置では、DMT-offの条件にて24merDNAオリゴヌクレオチド(5'-TCGACGTATTGACGTATTGACGTA-3'すべて酸化：配列番号1)を合成した。合成後、合成カラムを核酸合成装置10から取り出し、アンモニア水溶液を用いて合成カラム内の多孔質樹脂ビーズからオリゴヌクレオチドを切り出し、精製して、精製物を得た。

[0144] 《判定試験》

上記合成方法を実行中に取得した赤外吸収スペクトルは、各15サンプルであり、24サイクル合成したことで得られた、合計360サンプルを判定試験の対象とした。判定試験では、各赤外吸収スペクトルに対して、コサイン類似度に基づいてヌクレオシドホスホロアミダイトの識別を行った。

[0145] 図15(A)は、本実施例における識別結果を示す図である。図15に示されているように、本実施例では、360サンプル中360サンプルで正解し、全種のヌクレオシドホスホロアミダイトを正しく識別できた。それに対して、従来のPLS判定法では、360サンプル中324サンプルで正解し、36サンプルを誤識別した。

[0146] 図15(B)は、ヌクレオシドホスホロアミダイトを送液する順番、及び設定された配列情報に対する識別結果を示す図である。各サイクルで15サンプルすべて正解した場合を「○」、1サンプル以上誤識別した場合を「×」として表記した。図15(B)に示されているように、従来のPLS判定法ではdT及びdCを送液した際に誤識別があった。

[0147] 上記のように、本実施例において、第1実施形態におけるヌクレオシドホスホロアミダイト識別システムによって、合成中のヌクレオシドホスホロアミダイトであっても、従来手法よりも識別精度が向上するという結果が得られた。

[0148] [実施例3]

実施例3では、単体送液モードにおいて、第1実施形態におけるヌクレオシドホスホロアミダイト識別システムを用いて修飾型ヌクレオシドホスホロアミダイトを識別した。以下、実施例3について、図16を参照しながら説明する。

[0149] <<リファレンスの取得>>

本実施例では、以下の手順でリファレンスを事前に取得した。単体送液モードにおいて、200mMの修飾型ヌクレオシドホスホロアミダイト (2'OMerA, 2'OMerC, 2'OMerG, 5MedC) のアセトニトリル溶液を調合した後、上記核酸合成装置を用いて、各種の修飾型ヌクレオシドホスホロアミダイト溶液をプラ

スチックチューブで繋げた上記赤外線分光器のフローセルに送液し、流れるアセトニトリル溶液の赤外吸収スペクトルを測定した。なお、赤外線分光器の測定条件は、実施例 1 と同様である。上記の手順で得られた赤外吸収スペクトルを、識別装置 30 が備えるスペクトル記憶部 300 にリファレンスとして各種ヌクレオシドホスホロアミダイトの単体情報と関連付けられて記憶した。

[0150] 《判定試験》

200mMの修飾型ヌクレオシドホスホロアミダイト 4 種類 (2'OMerA, 2'OMerC, 2'OMerG, 5MedC) のアセトニトリル溶液を、上記核酸合成装置を用いて、プラスチックチューブで繋げた上記赤外線分光器のフローセルに送液し、流れるアセトニトリル溶液の赤外吸収スペクトルを測定した。

[0151] 上記の赤外線分光器から検出された赤外吸収スペクトルが識別装置 30 の結果記憶部 320 に記憶されると、それぞれの赤外吸収スペクトルを指数化し、そのときのリファレンスの赤外吸収スペクトルとのコサイン類似度を求めた。そしてコサイン類似度の最大値を取る修飾型ヌクレオシドホスホロアミダイトの種類を識別結果として出力させた。

[0152] 図 16 は、本実施例における識別結果を示す図である。図 16 に示されているように、コサイン類似度では全種のヌクレオシドホスホロアミダイトをすべて正しく識別した。したがって、修飾のないヌクレオシドホスホロアミダイトだけでなく、修飾型ヌクレオシドホスホロアミダイトもコサイン類似度により識別できることが示された。図 16 の識別結果及び実施例 2 の図 15 の（核酸合成モードでの）識別結果から、核酸合成条件下（核酸合成モード）においても、修飾型ヌクレオシドホスホロアミダイトを正しく識別可能と推定される。

[0153] [実施例 4]

実施例 4 では、単体送液モードにおいて、第 2 実施形態におけるヌクレオシドホスホロアミダイト識別システムを用いて（すなわち、ラマンスペクトルを用いて）ヌクレオシドホスホロアミダイトを識別した。以下、実施例 4

について、図 17 を参照しながら説明する。

[0154] 《リファレンスの取得》

本実施例では、以下の手順でリファレンスを事前に取得した。単体送液モードにおいて、11.8mM, 23.5mM, 36.6mM, 48mM, 64mM, 80mM, 100mMのヌクレオシドホスホロアミダイト(d A, d G, d T, d C, 5 M e d C)のアセトニトリル溶液を調合した後、各種のヌクレオシドホスホロアミダイト溶液をシングルプランジャーポンプ (From社製SP-21) を用いてプラスチックチューブで繋げたラマン分光器 (Process Instruments社製PI-200) のフローセル一体型プローブ (Marq Metrix社製) に送液し、流れるアセトニトリル溶液のラマンスペクトルを測定した。

[0155] なお、ラマン分光器の測定条件は、以下のとおりである。レーザー波長は532nmとした。測定波数範囲は1850~650cm⁻¹とした。波数分解能は8cm⁻¹とした。露光時間は1秒とした。積算回数は10回とした。

[0156] 上記の手順で得られたラマンスペクトルを、識別装置30が備えるスペクトル記憶部300にリファレンスとして各種ヌクレオシドホスホロアミダイト単体情報と関連付けられて記憶した。

[0157] 《判定試験》

200mMのヌクレオシドホスホロアミダイト (d A, d C, 5 M e d C, d T, d G)のアセトニトリル溶液を調合した後、上記核酸合成装置の配管に取り付けた。核酸合成装置のソフトウェア設定で、ヌクレオシドホスホロアミダイト5種類を、d A, d C, 5 M e d C, d T, d Gの順番でラマン分光器のフローセル一体型プローブへ送液した。

[0158] ヌクレオシドホスホロアミダイトの切り替えの際には、アセトニトリル12mlでプラスチックチューブ内を洗浄及び置換を行った。フローセルから得られたラマンスペクトルと、リファレンスとして登録されているラマンスペクトルとのコサイン類似度を求めた。そしてコサイン類似度の最大値を取るヌクレオシドホスホロアミダイトの種類を識別結果として出力させた。

[0159] 図 17 は、本実施例における識別結果を示す図である。図 17 に示されて

いるように、5種類のヌクレオシドホスホロアミダイトを送液し、すべてのヌクレオシドホスホロアミダイトの種類を正確に識別した。図17のラマンスペクトルによる識別結果及び実施例2の図15の（核酸合成モードで同じコサイン類似度を用いた）識別結果から、核酸合成条件下（核酸合成モード）においても、ラマンスペクトル検出及びコサイン類似度により、全種のヌクレオシドホスホロアミダイトを正しく識別可能と推定される。

[0160] [補足]

上記で説明した実施形態の各機能は、一又は複数の処理回路によって実現することが可能である。ここで、本明細書における「処理回路」とは、電子回路により実装されるプロセッサのようにソフトウェアによって各機能を実行するようプログラミングされたプロセッサや、上記で説明した各機能を実行するよう設計されたASIC（Application Specific Integrated Circuit）、DSP（Digital Signal Processor）、FPGA（Field Programmable Gate Array）や従来の回路モジュール等の機器を含むものとする。

[0161] 以上、本発明の実施の形態について詳述したが、本発明はこれらの実施形態に限定されるものではなく、特許請求の範囲に記載された本発明の要旨の範囲内において、種々の変形又は変更が可能である。

[0162] 本願は、日本国特許庁に2022年4月18日に出願された日本国特許出願2022-68370号の優先権を主張するものであり、その全内容を参照することにより本願に援用する。

符号の説明

[0163] 1 ヌクレオシドホスホロアミダイト識別システム

10 核酸合成装置

101 配列情報入力部

102 貯液部

103 送液部

104 合成部

20 検出装置

- 2 0 1 検出部
- 3 0 識別装置
- 3 0 0 スペクトル記憶部
- 3 0 1 配列情報入力部
- 3 0 2 類似度計算部
- 3 0 3 識別部
- 3 0 4 照合部
- 3 0 5 結果表示部
- 3 0 6 制御部
- 3 1 0 配列情報記憶部
- 3 2 0 結果記憶部

請求の範囲

- [請求項1] 複数の異なるヌクレオシドホスホロアミダイト溶液のスペクトルを記憶する記憶部と、
前記ヌクレオシドホスホロアミダイト溶液のスペクトルを検出する検出部と、
前記記憶部が記憶する前記スペクトルと前記検出部が検出した前記スペクトルとのコサイン類似度に基づいてヌクレオシドホスホロアミダイトを識別する識別部と、
を備えるヌクレオシドホスホロアミダイト識別システム。
- [請求項2] 請求項1に記載のヌクレオシドホスホロアミダイト識別システムであって、
前記ヌクレオシドホスホロアミダイト溶液を送液する送液部と、
前記ヌクレオシドホスホロアミダイトを反応させてオリゴヌクレオチドを合成する合成部と、
をさらに備え、
前記検出部は、前記送液部が送液する前記ヌクレオシドホスホロアミダイト溶液から前記スペクトルを検出する、
ヌクレオシドホスホロアミダイト識別システム。
- [請求項3] 請求項2に記載のヌクレオシドホスホロアミダイト識別システムであって、
前記検出部は、前記送液部と前記合成部との間で送液される前記ヌクレオシドホスホロアミダイト溶液の前記スペクトルを検出する、
ヌクレオシドホスホロアミダイト識別システム。
- [請求項4] 請求項3に記載のヌクレオシドホスホロアミダイト識別システムであって、
前記検出部は、赤外線分光法又はラマン分光法により前記ヌクレオシドホスホロアミダイト溶液の前記スペクトルを検出する、
ヌクレオシドホスホロアミダイト識別システム。

〔請求項5〕 請求項2に記載のヌクレオシドホスホロアミダイト識別システムであって、

前記オリゴヌクレオチドの配列情報を入力する入力部と、
前記配列情報と前記識別部による識別結果とを照合する照合部と、
をさらに備えるヌクレオシドホスホロアミダイト識別システム。

〔請求項6〕 請求項5に記載のヌクレオシドホスホロアミダイト識別システムであって、

前記識別部による識別結果と前記照合部による照合結果とを対応付けて表示する表示部をさらに備える、

ヌクレオシドホスホロアミダイト識別システム。

【請求項7】 請求項6に記載のヌクレオシドホスホロアミダイト識別システムであって、

前記照合結果が誤りを含む場合に、前記送液部を停止する制御を行う制御部をさらに備える、

ヌクレオシドホスホロアミダイト識別システム。

【請求項8】 請求項6に記載のヌクレオシドホスホロアミダイト識別システムであって、

前記照合結果が誤りを含む場合に、前記ヌクレオシドホスホロアミ
ダイト溶液を廃棄経路に送液する制御を行う制御部をさらに備える、

ヌクレオシドホスホロアミダイト識別システム。

【請求項9】 請求項2に記載のヌクレオシドホスホロアミダイト識別システムであって、

前記ヌクレオシドホスホロアミダイト溶液は、濃度が25 mM以下である、

ヌクレオシドホスホロアミダイト識別システム。

[請求項10] コンピュータが、
 複数の異なるヌクレオシドホスホロアミダイト溶液のスペクトルを
 記憶する記憶手順と、

前記ヌクレオシドホスホロアミダイト溶液のスペクトルを検出する
検出手順と、

前記記憶手順で記憶した前記スペクトルと前記検出手順で検出した
前記スペクトルとのコサイン類似度に基づいてヌクレオシドホスホロ
アミダイトを識別する識別手順と、

を実行するヌクレオシドホスホロアミダイト識別方法。

[請求項11]

コンピュータに、

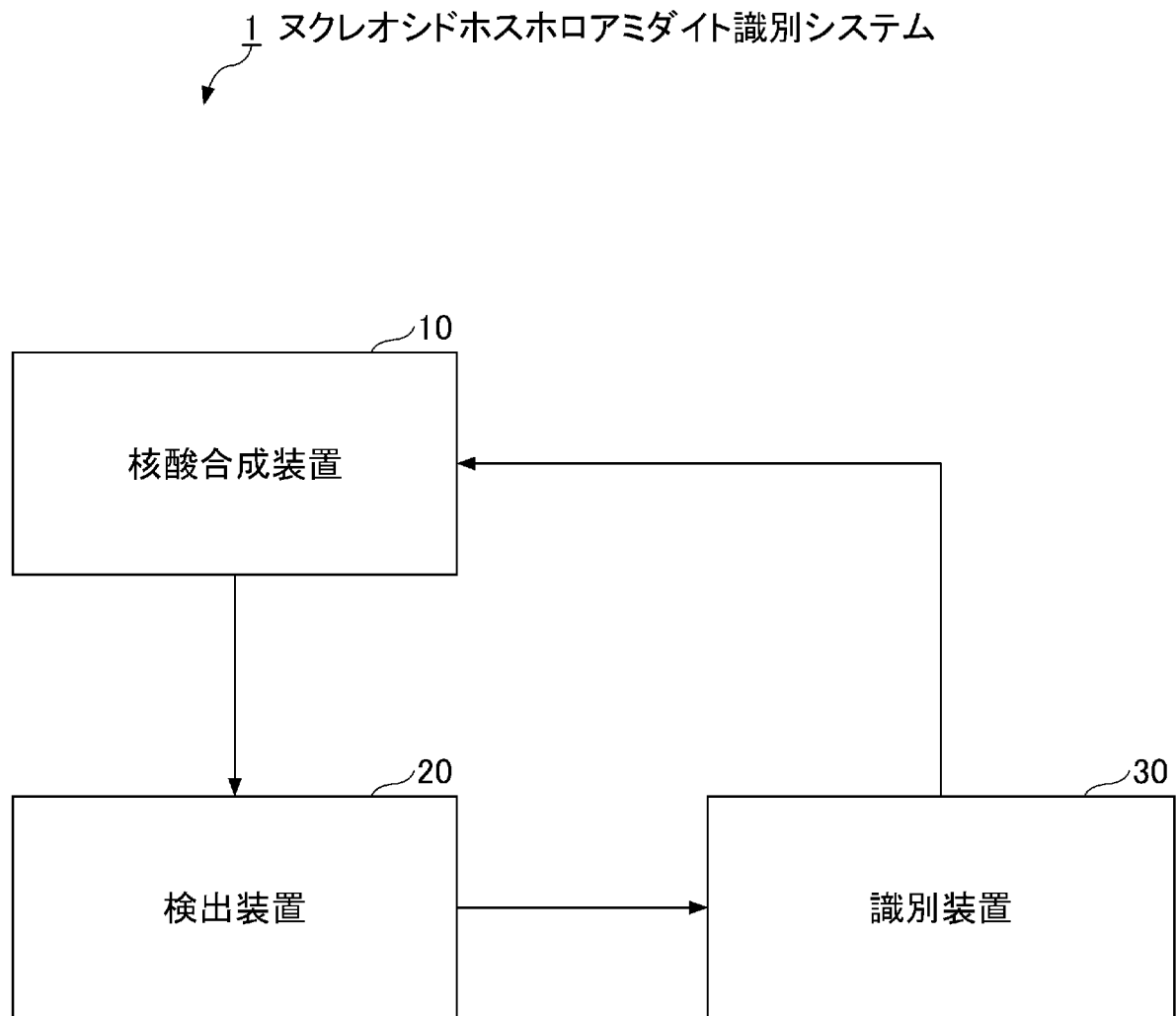
複数の異なるヌクレオシドホスホロアミダイト溶液のスペクトルを
記憶する記憶手順と、

前記ヌクレオシドホスホロアミダイト溶液のスペクトルを検出する
検出手順と、

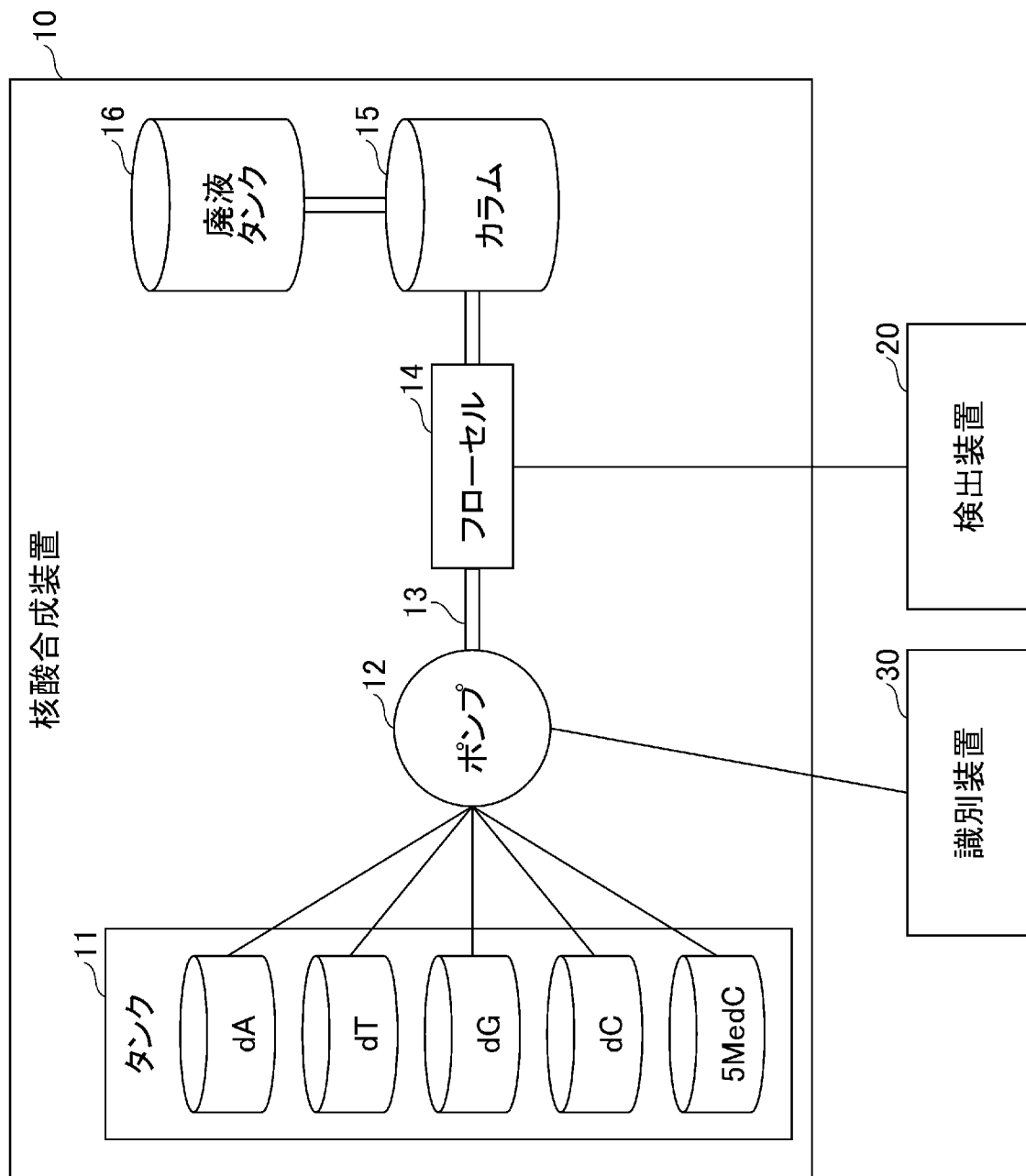
前記記憶手順で記憶した前記スペクトルと前記検出手順で検出した
前記スペクトルとのコサイン類似度に基づいてヌクレオシドホスホロ
アミダイトを識別する識別手順と、

を実行させるためのプログラム。

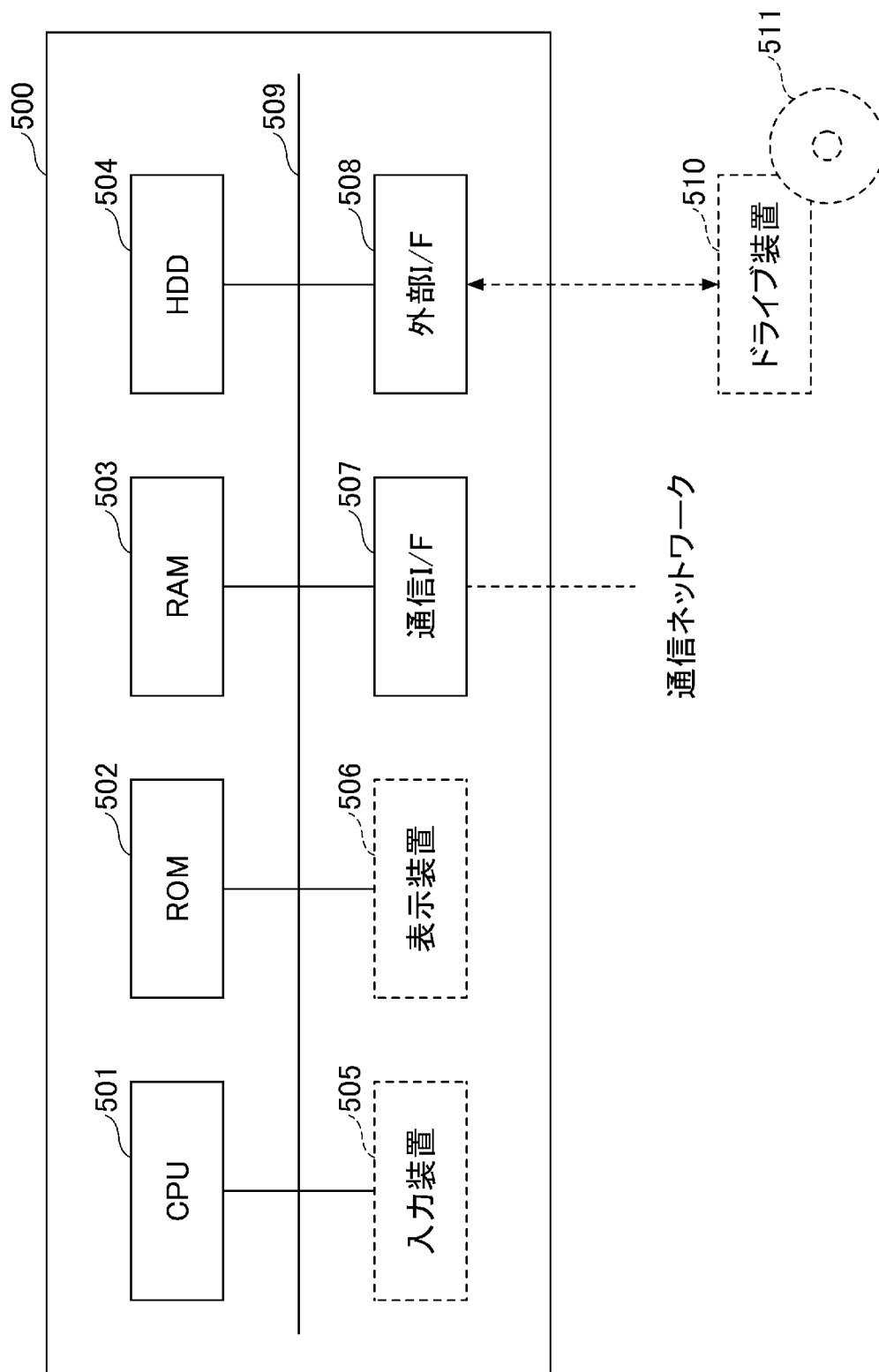
[図1]



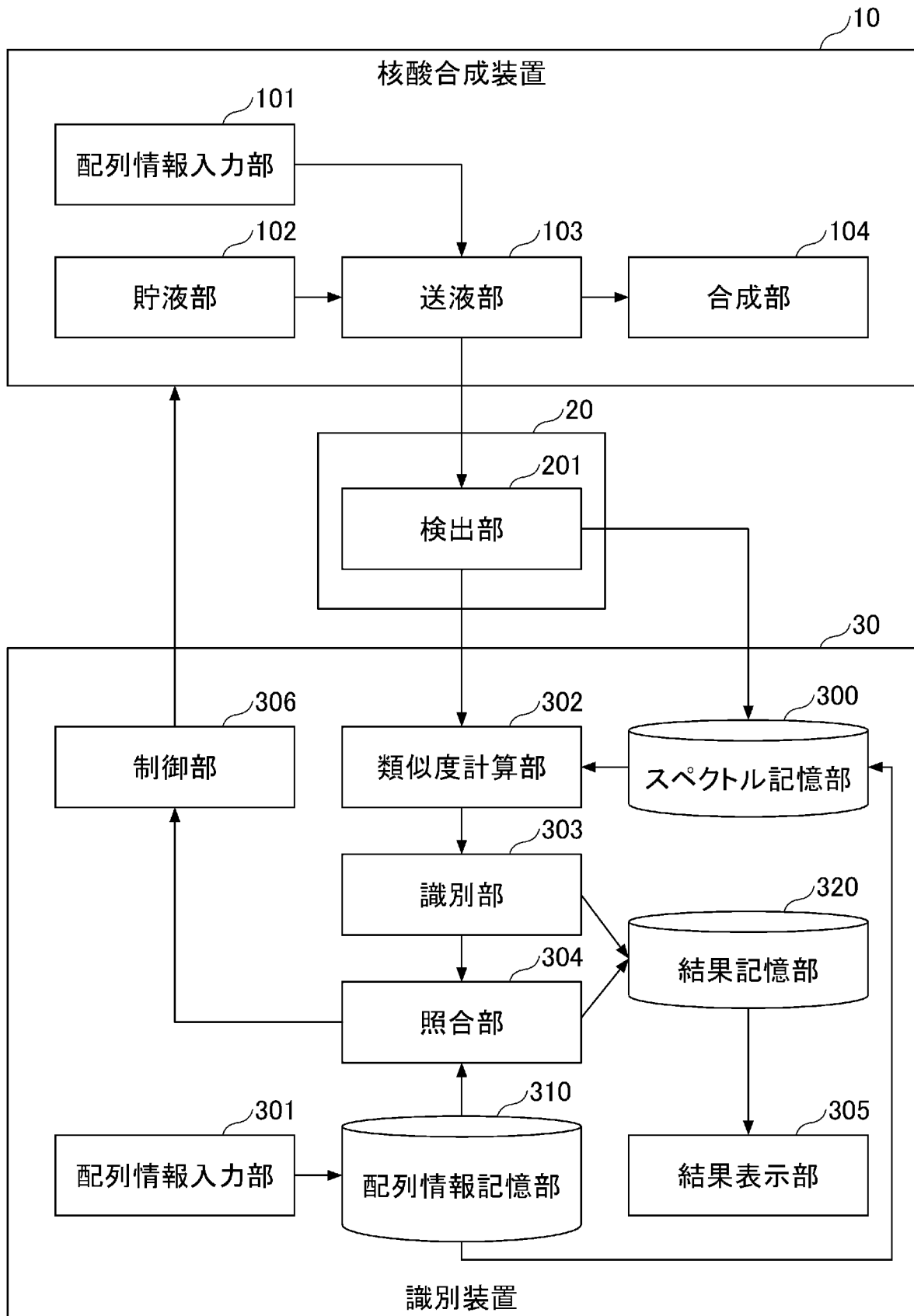
[図2]



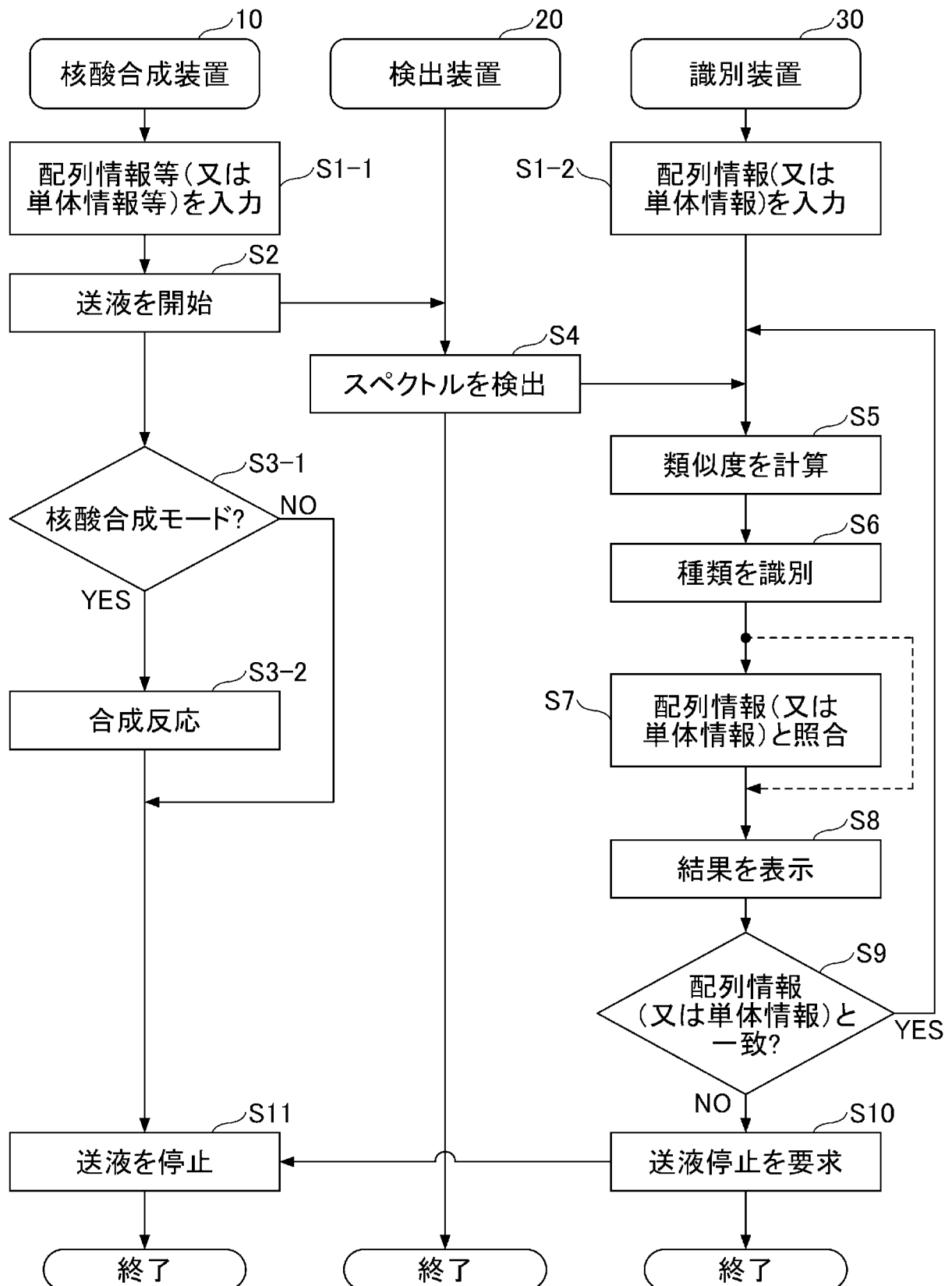
[図3]



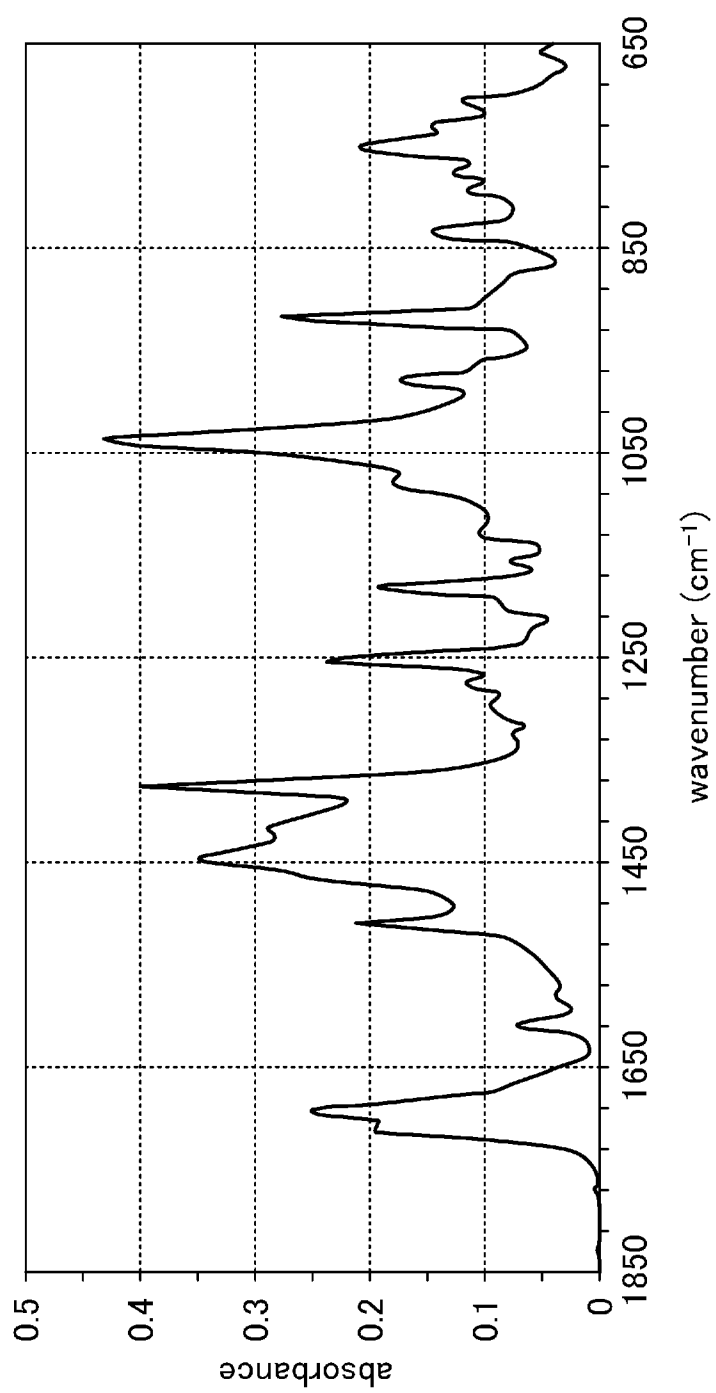
[図4]



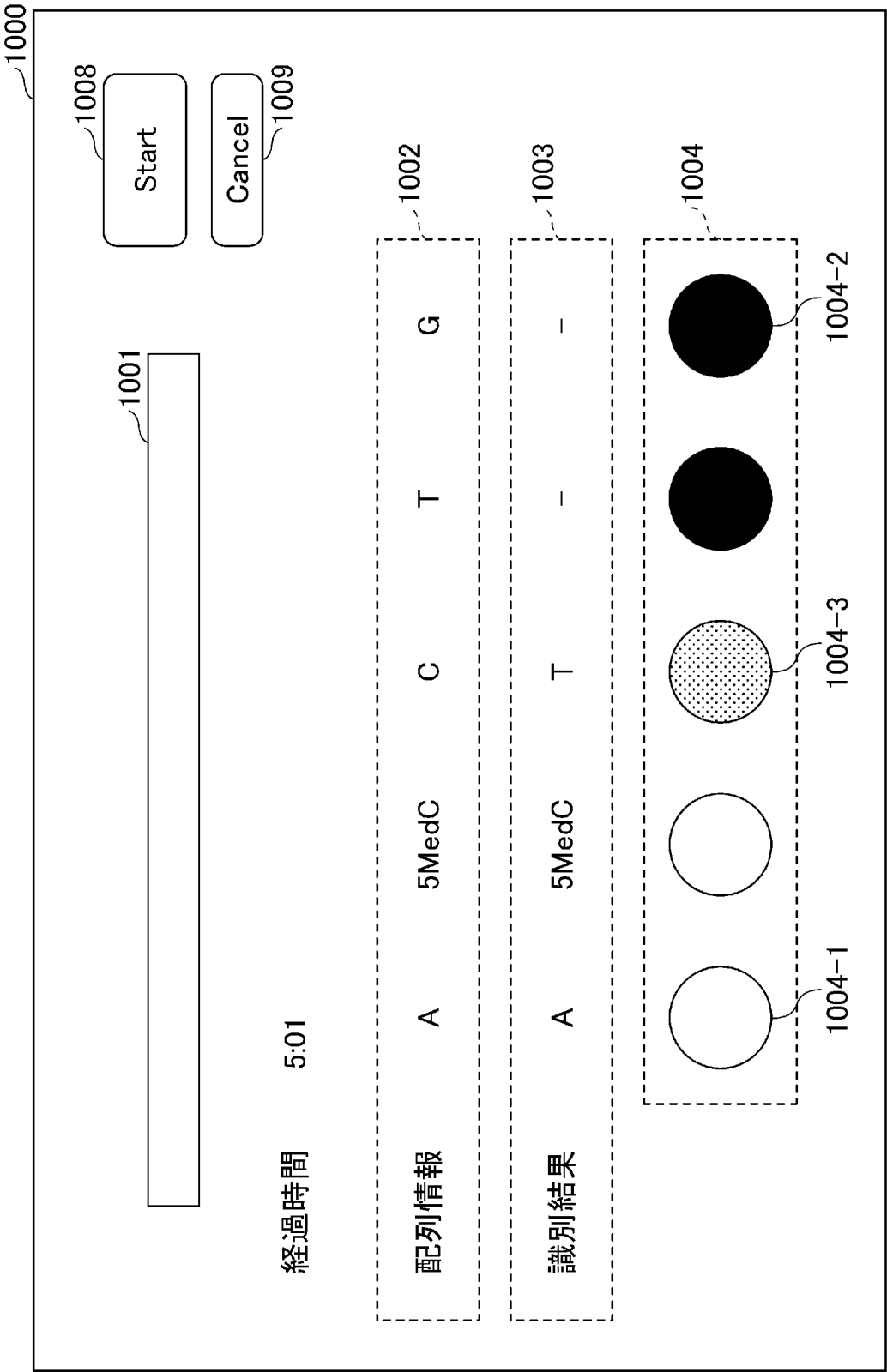
[図5]



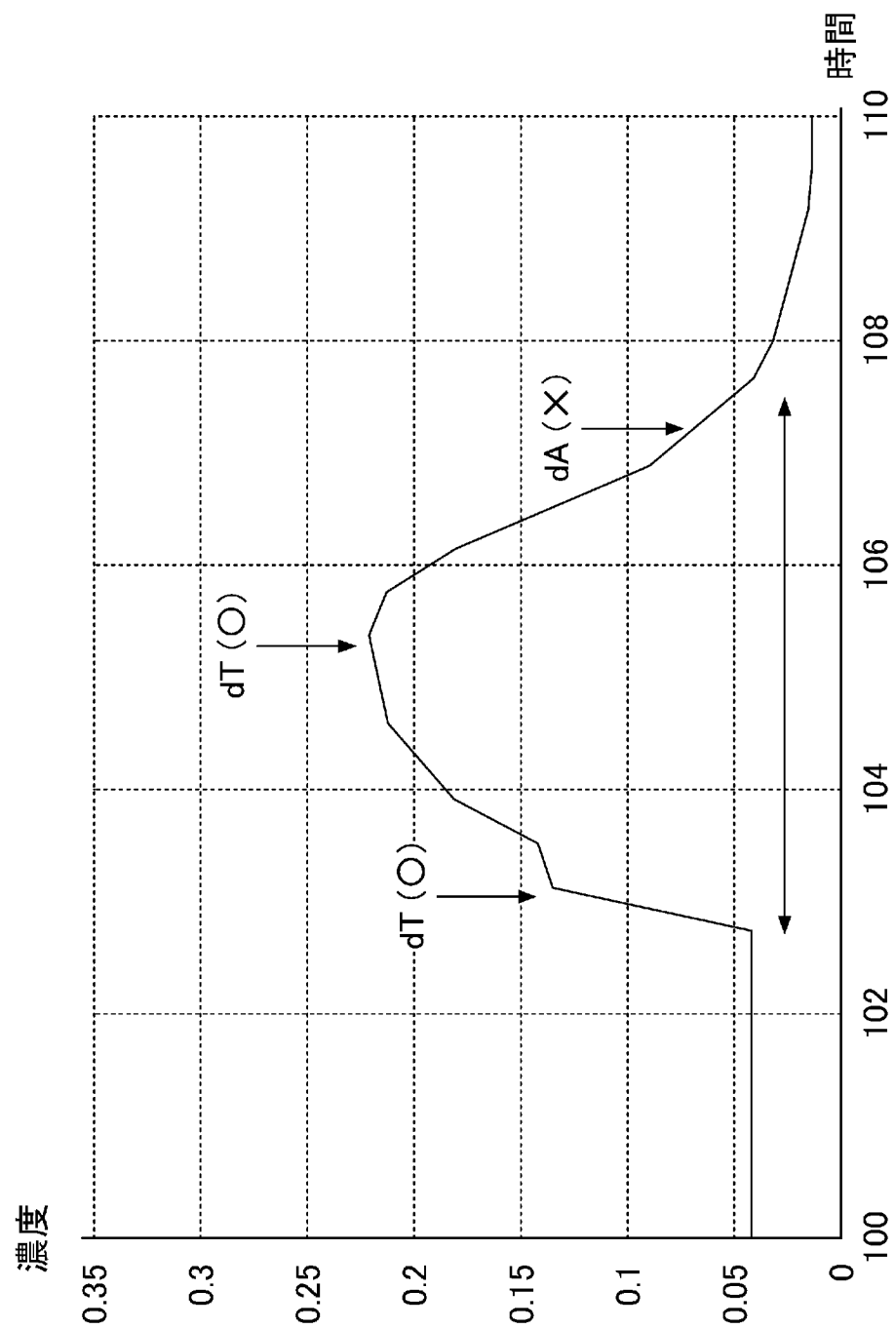
[図6]



[図7]

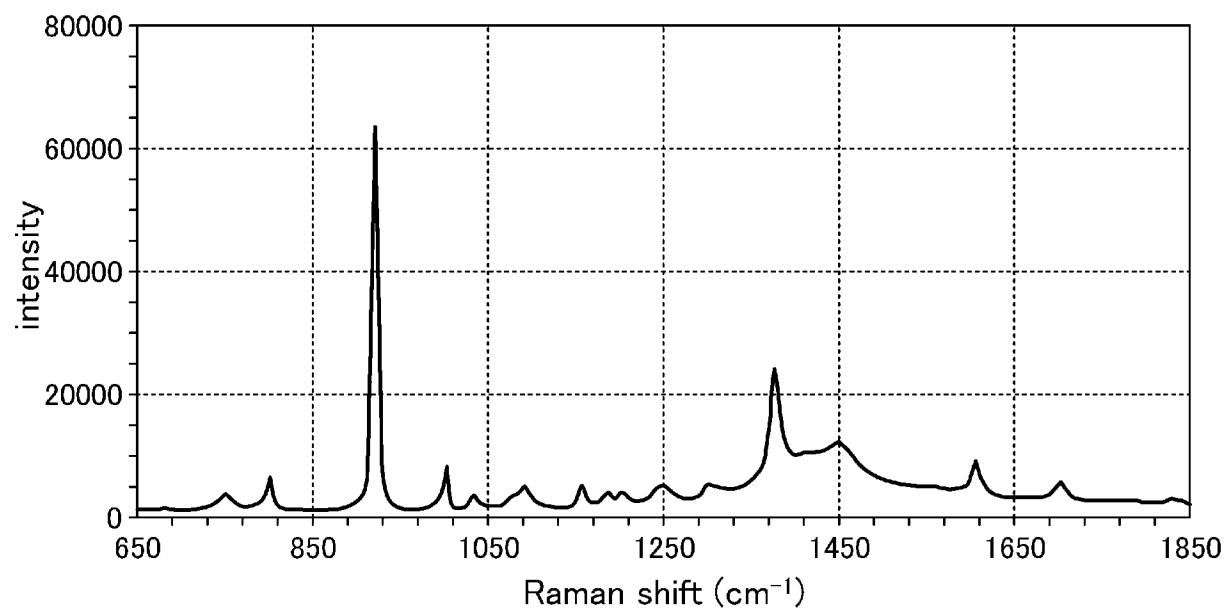


[図8]

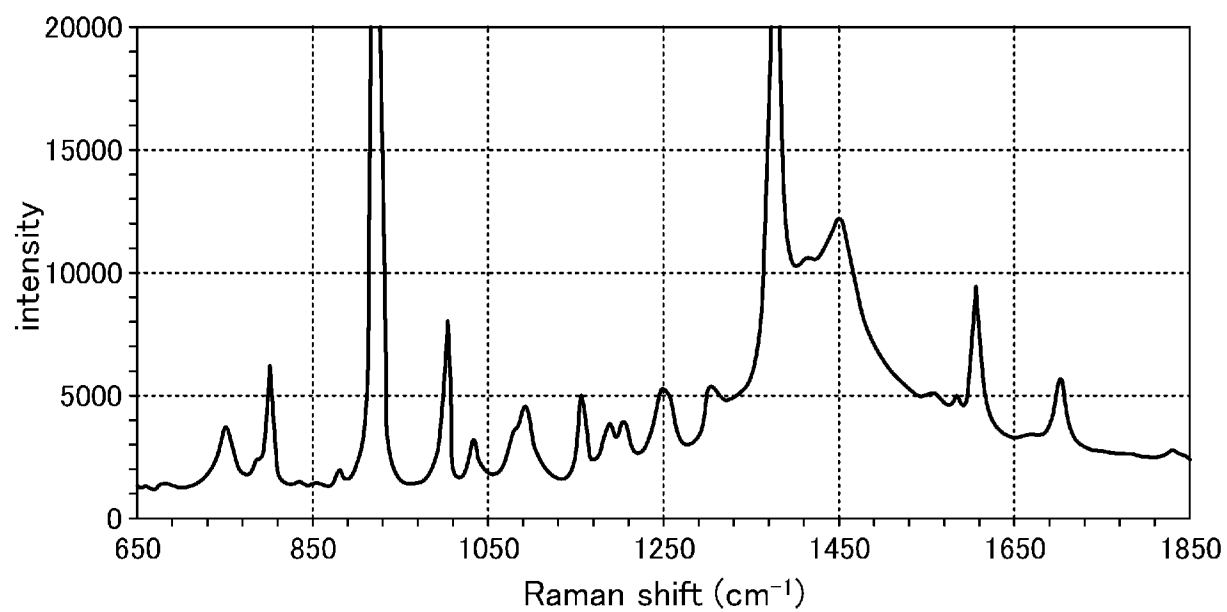


[図9]

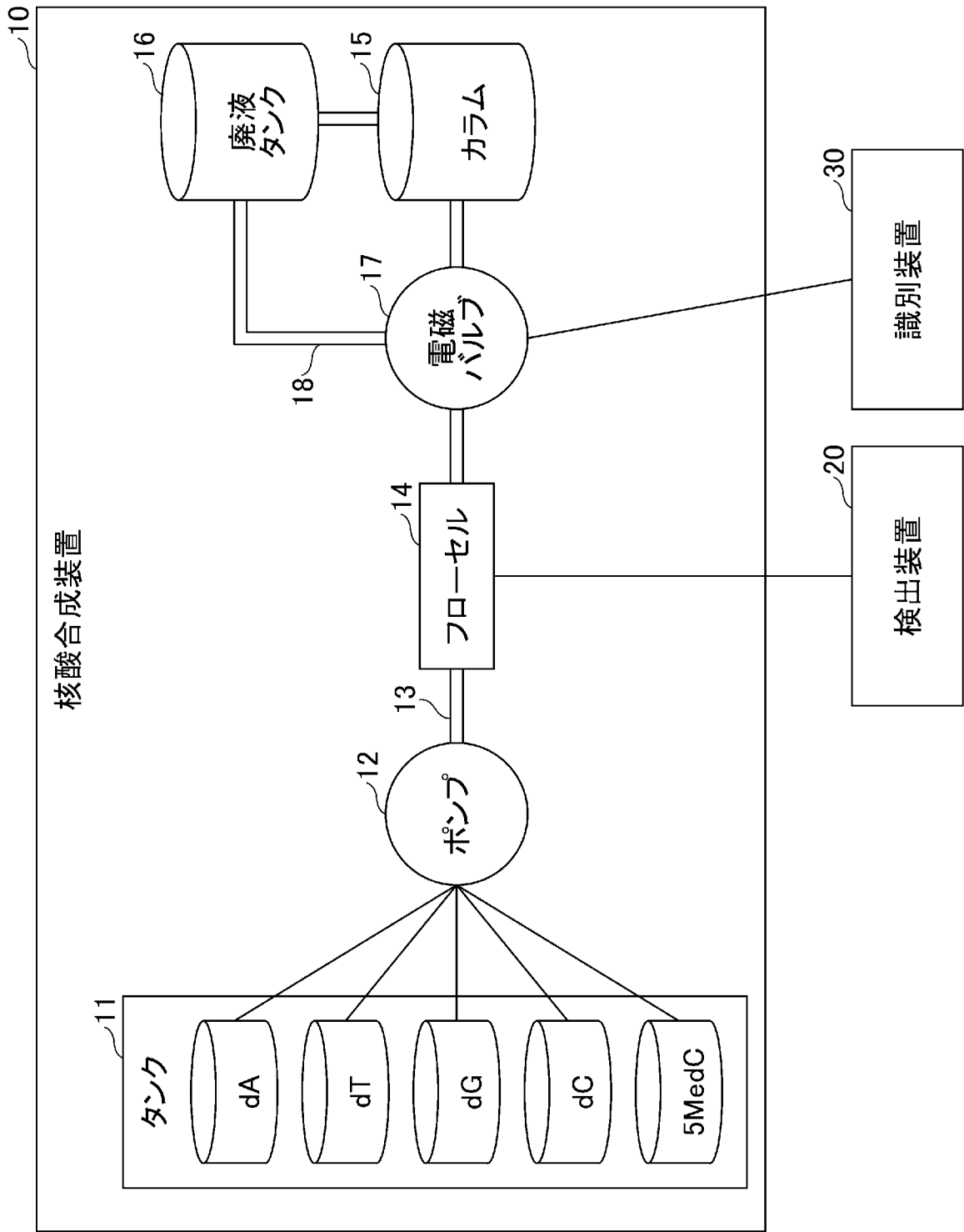
(A)



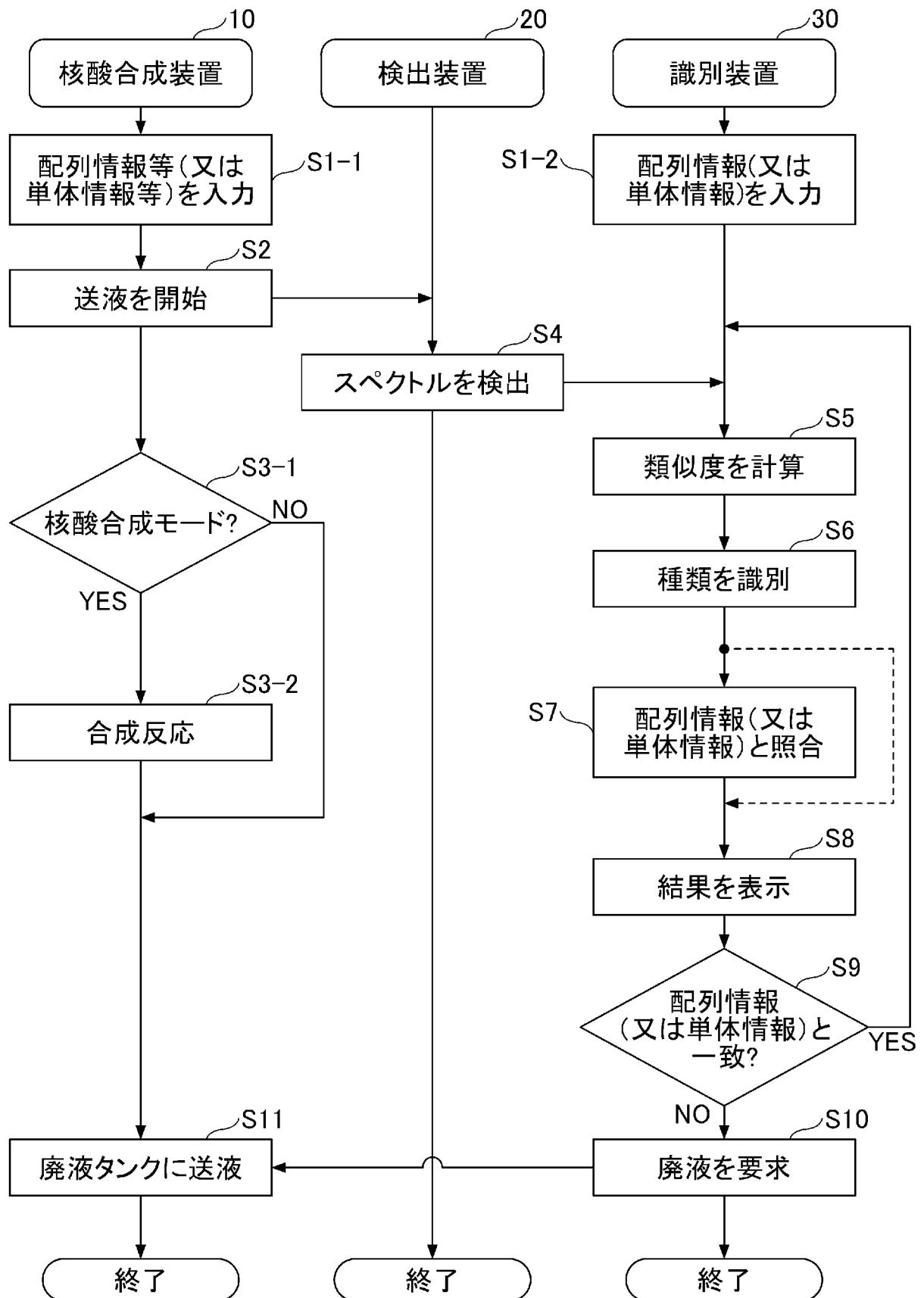
(B)



[図10]



[図11]



[図12]

	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

[図13]

	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%

[図14]

	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%

[図15]

(A)

手法	コサイン類似度	PLS判定法
正解率	100% (360/360)	90.0% (324/360)

(B)

順番	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
設定	A	T	G	C	A	G	T	T	A	T	G	C	A	G	T	T	A	T	G	C	A	G	C	T
コサイン 類似度	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
PLS判定法	○	×	○	×	○	○	×	×	○	×	○	×	○	○	×	×	○	×	○	×	○	×	×	×

[図16]

順番	1	2	3	4
設定	2'OMerA	2'OMerC	2'OMerG	5MedC
判定	2'OMerA	2'OMerC	2'OMerG	5MedC
結果	○	○	○	○

[図17]

順番	1	2	3	4	5
設定	dA	dC	5MedC	dT	dG
判定	dA	dC	5MedC	dT	dG
結果	○	○	○	○	○

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2023/014606

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER**G01N 21/3577**(2014.01)i; **G01N 21/65**(2006.01)i

FI: G01N21/3577; G01N21/65

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

G01N21/3577; G01N21/65

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Published examined utility model applications of Japan 1922-1996
 Published unexamined utility model applications of Japan 1971-2023
 Registered utility model specifications of Japan 1996-2023
 Published registered utility model applications of Japan 1994-2023

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	US 2018/0059011 A1 (OPTIONLINE LLC) 01 March 2018 (2018-03-01) claims 1-7, paragraph [0002]	1-11
Y	MCELDERRY et al. In-line Phosphoramidite Identification by FTIR to Support Real-Time Oligonucleotide Sequence Confirmation. Organic Process Research & Development. 2021, vol. 25, issue 2, pp. 262-270 abstract, p. 262, right column, line 10 to p. 264, right column, line 8, fig. 1	1-11
A	HE et al. Simultaneous Quantification of Nucleosides and Nucleotides from Biological Samples. Journal of the American Society for Mass Spectrometry. 2019, vol. 30, issue 6, pp. 987-1000 abstract, p. 989, data analysis	1-11
A	GAUTAM et al. Review of multidimensional data processing approaches for Raman and infrared spectroscopy. EPJ Techniques and Instrumentation. 2015, vol. 2, no. 8, pp. 1-38 abstract	1-11
A	JP 2021-177130 A (GUNMA PREF.) 11 November 2021 (2021-11-11)	1-11

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.☒ 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

12 June 2023

Date of mailing of the international search report

20 June 2023

Name and mailing address of the ISA/JP

Japan Patent Office (ISA/JP)
 3-4-3 Kasumigaseki, Chiyoda-ku, Tokyo 100-8915
 Japan

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No.

PCT/JP2023/014606

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
US	2018/0059011	A1	01 March 2018	WO	2018/035592	A1	
				CA	3034957	A1	
JP	2021-177130	A	11 November 2021	(Family: none)			

A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（IPC）） G01N 21/3577(2014.01)i; G01N 21/65(2006.01)i FI: G01N21/3577; G01N21/65										
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）） G01N21/3577; G01N21/65										
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 - 2023年</td> </tr> <tr> <td>日本国実用新案登録公報</td> <td>1996 - 2023年</td> </tr> <tr> <td>日本国登録実用新案公報</td> <td>1994 - 2023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 - 2023年	日本国実用新案登録公報	1996 - 2023年	日本国登録実用新案公報	1994 - 2023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 - 2023年									
日本国実用新案登録公報	1996 - 2023年									
日本国登録実用新案公報	1994 - 2023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） JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamII)										
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 請求項の番号								
Y	US 2018/0059011 A1 (OPTIONLINE LLC) 01.03.2018 (2018 - 03 - 01) claims 1-7, [0002]	1-11								
Y	MCELDERRY et al., In-line Phosphoramidite Identification by FTIR to Support Real-Time Oligonucleotide Sequence Confirmation, ORGANIC PROCESS RESERACH & DEVELOPMENT, 2021, Vol.25/Iss.2, PP.262-270 ABSTRACT, P.262 Right Column L.10-P.264 Right Column L.8, Figure 1	1-11								
A	HE et al., Simultaneous Quantification of Nucleosides and Nucleotides from Biological Samples, Journal of the American Society for Mass Spectrometry, 2019, Vol.30/Iss.6, PP.987-1000 Abstract, P.989 Data Analysis	1-11								
A	GAUTAM et al., Review of multidimensional data processing approaches for Raman and infrared spectroscopy, EPJ Techniques and Instrumentation, 2015, Vol.2/No.8, PP.1-38 Abstract	1-11								
A	JP 2021-177130 A (群馬県) 11.11.2021 (2021 - 11 - 11)	1-11								
☐ 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。										
<table border="0"> <tr> <td> * 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の後に公表された文献 </td> <td> “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抵触するものではなく、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 </td> </tr> </table>			* 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の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抵触するものではなく、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						
* 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の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抵触するものではなく、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 12.06.2023	国際調査報告の発送日 20.06.2023									
名称及びあて先 日本国特許庁(ISA/JP) 〒100-8915 日本国 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	権限のある職員（特許庁審査官） 吉田 将志 2W 4636 電話番号 03-3581-1101 内線 3258									

国際調査報告
パテントファミリーに関する情報

国際出願番号

PCT/JP2023/014606

引用文献			公表日	パテントファミリー文献			公表日
US	2018/0059011	A1	01.03.2018	WO	2018/035592	A1	
				CA	3034957	A1	
JP	2021-177130	A	11.11.2021	(ファミリーなし)			