[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl.
B01J 19/00 (2006.01)
G01N 35/00 (2006.01)

[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200680035723.9

[43] 公开日 2008 年 10 月 1 日

[11] 公开号 CN 101277758A

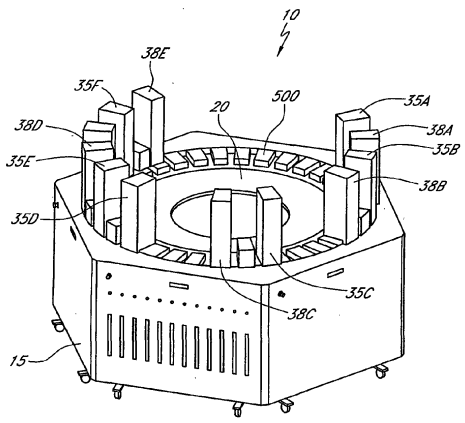
[22] 申请日 2006.9.11
[21] 申请号 200680035723.9
[30] 优先权
[32] 2005. 9.14 [33] US [31] 60/717,376
[86] 国际申请 PCT/US2006/035491 2006.9.11
[87] 国际公布 WO2007/033176 英 2007.3.22
[85] 进入国家阶段日期 2008.3.27
[71] 申请人 ILLUMINA 公司
地址 美国加利福尼亚州
[72] 发明人 大卫·L·海纳 亚伦·C·琼斯
史蒂文·P·法泊若
马克·J·尼比
史蒂文·R·伯格特
布莱特·M·艾尔曼
迈克尔·莱布尔
[74] 专利代理机构 北京英赛嘉华知识产权代理有限责任公司
代理人 王达佐 韩克飞
权利要求书 7 页 说明书 35 页 附图 14 页

[54] 发明名称

连续聚合物合成器

[57] 摘要

本发明描述了用于合成诸如寡核苷酸和多肽等聚合分子的系统和方法。所述系统通过提供进行合成操作的反应位点阵列和站点阵列能够连续合成分子。能够以固定的次序和彼此间固定的间隔设置前一阵列的反应位点。同样，也能够以固定的次序和彼此间固定的间隔设置所述站点。所述两组阵列能够彼此相对移动，使得所述站点在每一反应位点进行反应方案所期望的步骤。所述站点的相对位置以及相对移动的进度能够与反应方案中反应步骤的次序和持续时间相关联，使得反应位点一旦完成与全部站点阵列相互作用的循环，则反应方案完成。



1. 用于连续合成分子的系统，所述系统通过进行反应的连续步骤合成所述分子，所述系统包括:

(a)被配置为接受多个反应位点的工作台;

(b)被配置为向每一所述反应位点输送试剂的多个分配站点；以及

(c)被配置为移动所述工作台或所述站点阵列，使得所述反应位点连续接收来自所述分配站点的所述试剂的控制系统，并且其中所述控制系统被进一步配置，以便当所述系统在其它反应位点连续合成分子时，允许用第二反应位点替代第一反应位点。

2. 如权利要求 1 所述的系统，其中所述分配站点被配置为独立且连续地向多个所述反应位点提供合成反应溶液。

3. 如权利要求 1 所述的系统，其中所述工作台包括圆台。

4. 如权利要求 1 所述的系统，其中所述分子包括聚合物。

5. 如权利要求 4 所述的系统，所述系统通过重复所述连续接收所述试剂向所述聚合物中加入单体。

6. 如权利要求 1 所述的系统，其中所述分子包括 DNA。

7. 如权利要求 1 所述的系统，其中所述分子包括氨基酸。

8. 如权利要求 1 所述的系统,其中所述反应位点包括多孔板的孔。

9. 如权利要求 1 所述的系统，还包括至少一个溶液去除装置，所述溶剂去除装置被配置为从所述反应位点除去所述试剂。

10. 如权利要求 1 所述的系统，其中所述系统还包括被配置为获得至少一张所述多个反应位点的图像的成像站点。

11. 如权利要求 10 所述的系统，其中所述控制系统被配置为分析来自所述成像站点的所述图像并且确定所述试剂是否被分配至所述反应位点。

12. 如权利要求 1 所述的系统，其中至少一个所述多个分配站点包括多个分配装置。

13. 如权利要求 12 所述的系统，其中所述多个分配装置包括被配置为分配腺苷合成试剂溶液的第一试剂分配装置，被配置为分配胸苷合成试剂溶液的第二分配装置，被配置为分配胞啶合成试剂溶液的第三试剂分配装置，以及被配置为分配鸟苷合成试剂溶液的第四试剂分配装置。

14. 如权利要求 1 所述的系统，其中所述多个分配站点包括:

i)解封试剂分配站点;

ii)单体试剂分配站点，以及

iii)封端试剂分配站点。

15. 连续合成分子的方法，所述方法通过进行反应的连续步骤合成所述分子，所述方法包括:

(a)提供被配置为接受多个反应位点的工作台;

(b)通过连续移动所述工作台向多个所述反应位点连续提供合成反应溶液，使得所述反应位点连续接收来自至少一个分配站点的反应溶液; 以及

(d)当所述系统在其它反应位点连续合成分子时，用第二反应位点替代第一反应位点。

16. 如权利要求 15 所述的方法，其中所述工作台包括圆台，并且连续移动所述工作台包括旋转所述圆台。

17. 如权利要求 15 所述的方法，其中所述分子包括聚合物。

18. 如权利要求 17 所述的方法，所述方法通过重复所述连续接收所述试剂溶液向所述聚合物中加入单体。

19. 如权利要求 15 所述的方法，其中所述分子包括 DNA。

20. 如权利要求 15 所述的方法，其中所述分子包括氨基酸。

21. 如权利要求 15 所述的方法，其中所述反应位点包括多孔板的孔。

22. 如权利要求 15 所述的方法，其还包括在移动所述工作台前除去所述反应溶液。

23. 如权利要求 15 所述的方法，其还包括对至少一个所述反应位点成像以提供反应位点图像。

24. 如权利要求 23 所述的方法，其还包括分析所述图像以确定所述反应溶液是否被分配至所述反应位点。

25. 用于连续合成分子的系统，所述系统通过进行反应的连续步骤合成所述分子，所述系统包括:

(a)被配置为接受多个反应位点的工作台;

(b)被配置为向每一所述反应位点输送试剂的多个分配站点;

(c)移动所述工作台或所述站点阵列，使得反应位点连续接收来自所述分配站点的所述试剂的装置；以及

(d)当所述系统在其它反应位点连续合成分子时，用第二反应位点替代第一反应位点的装置。

26. 如权利要求 25 所述的系统，其中所述用于移动的装置包括与所述工作台通信的控制系统。

27. 如权利要求 26 所述的系统，其中所述控制系统包括计算机系统。

28. 如权利要求 25 所述的系统，其中所述用于替代的装置包括被配置为用第二反应位点替代第一反应位点的控制系统。

29. 如权利要求 25 所述的系统，其中所述用于替代的装置包括用第二反应位点替代第一反应位点的机械臂。

30. 用于连续合成分子的系统，其包括:

(a)包括固定次序和彼此间固定距离的多个反应位点的工作台，

(b)被配置为向所述反应位点输送试剂以开始反应的多个分配站点，其中所述分配站点沿所述工作台以彼此间固定的距离配置；以及

(c)被配置为按照预定进度将所述试剂连续分配至所述反应位点，使得反应位点的第一反应完成后开始所述反应位点的第二反应的控制系统，并且其中所述距离和所述进度与完成所述反应所需步骤的所述次序和所述持续时间相关联。

31. 如权利要求 30 所述的系统，其中所述分子包括聚合物。

32. 如权利要求 31 所述的系统，所述系统通过重复所述反应向所述聚合物中加入单体。

33. 如权利要求 30 所述的系统，其中所述工作台包括圆台。

34. 如权利要求 33 所述的系统，其中所述分配站点沿所述圆台的外周配置。

35. 如权利要求 34 所述的系统，其中所述圆台按照预定进度旋转，使得所述反应位点在预定时刻移动到所述分配站点下方。

36. 如权利要求 35 所述的系统，其中所述反应位点从第一分配站点移动到第二分配站点，并且计算所述预定时刻使得在所述反应完成后，所述第二分配站点向所述反应位点分配试剂。

37. 如权利要求 30 所述的系统，其中所述系统还包括至少一个成像站点。

38. 如权利要求 30 所述的系统，其中所述控制系统被配置为分析来自所述成像位点的所述图像并确定所述合成反应溶液是否被分配到所述反应位点中或从所述反应位点中除去。

39. 如权利要求 30 所述的系统，其中所述分子包括核酸。.

40. 如权利要求 30 所述的系统，其中所述分子包括蛋白质。

41. 如权利要求 30 所述的系统，其中所述反应位点是多孔板的孔。

42. 如权利要求 41 所述的系统，其中所述分配站点包括多个分配嘴，所述分配嘴被配置为向所述多孔板输送所述溶液。

43. 如权利要求 30 所述的系统，其中当所述反应位点沿所述工作台移动时，至少一个所述分配站点被配置为向所述反应位点分配所述试剂。

44. 用于连续合成分子的系统，其包括:

(a)包括固定次序和彼此间固定距离的多个反应位点的工作台;

(b)被配置为向所述反应位点输送试剂以开始反应的多个分配站点，其中所述分配位点沿所述工作台以彼此固定的距离配置，并且其中所述距离与完成所述反应所需的时间相关联; 以及

(c)将所述试剂按照预定进度连续分配到所述反应位点中的装置，使得反应位点的第一反应完成后开始所述反应位点的第二反应，以及其中所述距离和所述进度与完成所述反应所需的所述次序和所述持续时间相关联。

45. 如权利要求 44 所述的系统，其中所述工作台包括圆台。

46. 如权利要求 45 所述的系统，其中所述分配站点沿所述圆台的外周配置。

47. 如权利要求 46 所述的系统，其中所述圆台以预定速度旋转，使得所述反应位点在预定时刻在所述分配站点的下方移动。

48. 如权利要求 47 所述的系统，其中所述反应位点从第一分配站点移动到第二分配站点，并且计算所述预定时刻使得在所述反应完成后，将所述反应位点置于所述第二分配站点的下方。

49. 如权利要求 44 所述的系统，其中所述用于连续分配所述试剂的装置包括控制系统。

50. 连续合成分子的方法，其包括:

(a)提供包括固定次序和彼此间固定距离的多个反应位点的工作台;

(b)提供被配置为向所述反应位点输送试剂以开始反应的多个分

配站点，其中所述分配位点沿所述工作台以彼此间固定的距离配置，并且其中所述距离与完成所述反应所需的时间相关联；以及

(c)将所述试剂按照预定进度连续分配到所述反应位点中，使得反应位点的第一反应完成后开始所述反应位点的第二反应，并且其中所述距离和所述进度与完成所述反应所需步骤的所述次序和所述持续时间相关联。

51. 如权利要求 50 所述的方法，其中所述分子包括聚合物。

52. 如权利要求 51 所述的方法，其中连续分配所述试剂包括向所述聚合物连续分配单体。

53. 如权利要求 50 所述的方法，其中所述工作台包括圆台。

54. 如权利要求 53 所述的方法，其中所述分配站点沿所述圆台的外周配置。

55. 如权利要求 54 所述的方法，其中所述圆台以预定速度旋转，使得所述反应位点在预定时刻在所述分配站点的下方移动。

56. 如权利要求 55 所述的方法，其中所述反应位点从第一分配站点移动到第二分配站点，并且计算所述预定时刻使得在所述反应完成后，将所述反应位点置于所述第二分配站点的下方。

57. 如权利要求 50 所述的方法，其中所述用于连续分配所述试剂的装置包括控制系统。

连续聚合物合成器

相关申请的交叉引用

[0001]根据 35 U.S.C. § 119(e)，本申请要求 2005 年 9 月 14 日提交的第 60/717,376 号美国临时专利申请的优先权，本文将其全部内容引入作为参考。

发明背景

发明领域

[0002]本发明涉及合成诸如聚合物等的分子的机械装置。更具体地，本发明涉及连续合成诸如多肽和寡核苷酸等的生物聚合物的装置。

相关技术描述

[0003]寡核苷酸是从事研究、诊断和治疗的生物技术实验室中所用的最重要且最普遍的试剂之一。对寡核苷酸的高需求源于其对得自生物样品的 DNA 或 RNA 中互补核苷酸序列的灵敏的特异性。这种特异性使得寡核苷酸可用作探针，该探针特异性地连接到存在于复杂的生物环境中、小于十亿分之一丰度的独特序列上。能够使用这种特异性以便对有患特殊疾病风险的个体提供诊断，所述风险基于与该疾病相关的已知基因序列的存在或不存在。此外，这种特异性还形成了将寡核苷酸用作合成具有令人感兴趣的特殊核苷酸序列的 DNA 或 RNA 分子的试剂的基础。例如，通过将一个或多个寡核苷酸连接至基因序列，然后在结合的配合物上进行扩增反应以制备该序列的多个副本，能够克隆与特殊疾病相关的基因序列。随后，被克隆的基因序列能够用于研究所述疾病，或者甚至能够用于治疗患有所述疾病的个体。

[0004]寡核苷酸合成是装配核苷酸链的循环过程。通过化学反应的循环将核苷酸一个接一个地加入，其中将特定的分子(如核苷酸)加入至生长的 DNA 分子(如生长的 DNA 链)，这有时是通过催化作用，

直至完成预期的链。通常，化学反应的每一循环包括脱三苯甲基化作用、偶联、封端和氧化等步骤。在脱三苯甲基化作用或“脱保护”步骤中，从生长的 DNA 链的最后一个核苷酸中除去二甲氧基三苯甲基(DMT)基团，以允许下一个核苷酸的加入。监测每一循环释放的 DMT 量以测定偶联效率。由于释放 DMT 时放出亮橙色，因此 DMT 的释放是很明显的。

[0005]能够使用相似的合成方法产生各种产量的寡核苷酸，以满足从小实验室至大规模生产工厂的需求。这些方法本身相对强大，能够处理从每分子仅少数核苷酸至每分子 100 以上核苷酸的不同长度的寡核苷酸。此外，所述方法能够产生具有无数不同序列的寡核苷酸，其复杂性通过以下事实说明：使用仅 4 个普通的 DNA 核苷酸(A、T、C 和 G)能够制备的不同十倍体(具有 10 个核苷酸的分子)的数目是 4^{10} = 1,048,576。

[0006]通常，大规模生产工厂通过使用大量与较小实验室所用的相似的合成器获得高产量。通常将这些合成器配置为连续进行单一步骤的单体加入循环；并且能够平行进行若干不同的寡核苷酸的合成操作。因此，对于多种寡核苷酸，反应按照这样的顺序进行：对每一寡核苷酸进行脱三苯甲基化作用，然后对每一寡核苷酸进行偶联，接着是每一寡核苷酸的封端，然后是每一寡核苷酸的氧化。然后重复所述循环直至获得全长的寡核苷酸。

[0007]尽管能够使用很多这样的合成器来获得相对高的产量，但是这种按比例扩大的方法能够导致不必要的低效率。这种低效率的实例是时间，在输送下一试剂至任何反应前，当等待单一孵育步骤完成时，每一合成器处于闲置状态。此外，当再度装载新的反应容器或试剂时，装置可经历合成反应间实质上的停机时间。

[0008]需要使寡核苷酸和其它分子平行合成，以便能够不间断地进行和监测多个反应的合成方法和装置。本发明满足了该需要并且还提供了其它有利因素。

发明概述

[0009]本发明的一实施方案提供用于连续合成分子的系统，该系统通过进行连续步骤的反应合成所述分子。所述系统能够包括(a)被配置为接受反应位点(reaction site)阵列的工作台；(b)站点(station)阵列，其包括：(i)被配置为单独且连续地向多个反应位点提供用于所述连续步骤的合成反应溶液，以及(ii)被配置为获得所述多个反应位点中至少一个位点的图像的成像站点；以及(c)被配置为移动工作台或站点阵列的控制系统，其使得多个反应位点相继与至少一个分配站点和至少一个成像站点连通，并且其中控制系统被进一步配置，以便当系统在多个反应位点的其它反应位点连续合成分子时，允许用第二反应位点替代反应位点阵列中的第一反应位点。

[0010]本发明的另一实施方案还提供了用于连续合成分子的方法，该方法通过进行反应的连续步骤合成所述分子。所述方法能够包括以下步骤：(a)提供包括反应位点阵列的工作台；(b)从试剂分配站点向多个反应位点连续提供合成反应溶液，所述试剂分配站点被配置为独立且连续地向反应位点提供用于所述连续步骤的合成反应溶液；(c)在成像站点连续获得所述多个反应站点中至少一个位点的图像；以及(d)当所述系统在所述多个反应位点的其它反应位点连续合成分子时，用第二反应位点替代反应位点阵列中的第一反应位点。

[0011]本发明还提供了用于连续合成聚合物的系统，该系统通过重复反应的连续步骤将单体加入至生长的聚合物。所述系统能够包括：(a)包括组件阵列的工作台，所述组件被配置为接受处于固定次序且固定间隔的反应位点阵列；(b)用于进行连续步骤的站点阵列，包括(i)被配置为向多个反应位点提供用于所述连续步骤的合成反应溶液的分配站点，以及(ii)被配置为获得所述多个反应位点中至少一个位点的图像的成像站点；(c)至少一个溶液去除装置，其被配置为从多个反应位点除去合成反应溶液，其中所述站点的相对位置相对于站点阵列是固定的；以及(d)被配置为按照多个反应位点与所述站点连续连通并通过至少一个溶液去除装置除去溶液的进度而移动组件阵列或站点阵列的控制系统，其中所述站点的相对位置和进度与反应连续步骤的次序和持续时间相关联。

[0012]本发明还提供了用于连续合成聚合物的方法，该方法通过重复反应的连续步骤将单体加入至生长的聚合物。所述方法能够包括以下步骤：(a)提供包括反应位点阵列的工作台，其中以固定次序和固定间隔设置所述反应位点；(b)提供用于进行连续步骤的站点阵列，其包括：(i)被配置为向多个反应位点提供用于所述连续步骤的合成反应溶液的分配站点；以及(ii)被配置为获得所述多个反应位点中至少一个位点的图像的成像站点；(c)提供至少一个溶液去除装置，其被配置为从多个反应位点除去合成反应溶液，其中所述站点的相对位置相对于站点阵列是固定的；以及(d)按照多个反应位点与所述站点连续连通并通过至少一个溶液去除装置除去溶液的进度而移动反应位点阵列或站点阵列，其中所述站点的相对位置和进度与反应连续步骤的次序和持续时间相关联。

[0013]本发明的实施方案还提供了用于连续合成聚合物的方法，该方法通过重复反应的连续步骤将单体加入至生长的聚合物。所述方法能够包括以下步骤：(a)提供包括组件阵列的圆台(circular table)，所述组件被配置为接受沿环形路径处于固定次序且固定间隔的多孔板阵列；(b)使圆台旋转使得多孔板阵列的每一多孔板与站点阵列按照以下顺序连续连通：(i)向处于解封试剂分配站点的多孔板提供解封试剂，(ii)在加入解封试剂的预定时间间隔后，从处于解封试剂去除站点的多孔板中除去解封试剂，(iii)向处于单体试剂分配站点的多孔板提供单体试剂，(iv)在加入单体试剂的预定时间间隔后，从处于碱基试剂去除站点的多孔板中除去单体试剂，(vii)向处于封端试剂分配站点的多孔板提供封端试剂，以及(viii)在加入封端试剂的预定时间间隔后，从处于封端试剂去除站点的多孔板中除去封端试剂，其中将分配站点配置为对应于反应的连续步骤的次序、处于固定空间关系的站点阵列；对第一多孔板、第二多孔板和第三多孔板均进行步骤(b)的循环，其中当系统在第一多孔板连续合成聚合物时，将第二多孔板从第一组件中卸载并将第三多孔板装载在该第一组件中，其中第一多孔板的至少一次循环与第二多孔板的至少一次循环同时发生，并且其中第一多孔板的至少一次循环与第三多孔板的至少一次循环同时发生。

[0014]本发明还提供了用于连续合成聚合物的系统，该系统通过重复反应的连续步骤将单体加入至生长的聚合物。所述系统能够包括：包括多孔板阵列的工作台，其中将所述多孔板沿环形路径以固定次序和固定间隔设置；被配置为向多孔板提供用于所述步骤的合成反应溶液的分配站点阵列，其中对应于连续步骤的次序，该分配站点的相对位置处于固定的空间关系；以及被配置为移动分配站点阵列或多孔板阵列并启动该分配站点的控制系统，其中当分配站点阵列或多孔板阵列移动时，该分配站点向多孔板分配溶液。

[0015]本发明还提供了用于连续合成聚合物的方法，该方法通过重复反应的连续步骤将单体加入至生长的聚合物。所述方法能够包括以下步骤：提供包括多孔板阵列的工作台，其中将所述多孔板沿环形路径以固定次序和固定间隔设置；提供分配站点阵列，该分配站点阵列被配置为向所述多孔板提供所述步骤的合成反应溶液，其中该分配站点的相对位置对应于连续步骤的次序处于固定的空间关系；移动所述分配站点阵列或所述多孔板阵列；以及当分配站点阵列或多孔板阵列移动时，从分配站点分配用于所述反应的连续步骤的反应溶液。

[0016]另一实施方案是用于连续合成分子的系统，该系统通过进行连续反应步骤合成所述分子。所述系统包括：被配置为接受多个反应位点的工作台；被配置为向每一反应位点输送试剂的多个分配站点；以及被配置为移动所述工作台或所述站点阵列以使得反应位点连续接受来自分配站点的试剂的控制系统，并且其中该控制系统被进一步配置为当所述系统在其它反应位点连续合成分子时，允许用第二反应位点替代第一反应位点。

[0017]另一实施方案是连续合成分子的方法，该方法通过进行反应的连续步骤合成所述分子。所述方法包括：提供被配置为接受多个反应位点的工作台；通过使工作台连续移动向多个反应位点连续提供合成反应溶液，使得该反应位点连续接受来自至少一个分配站点的反应溶液；以及当所述系统在其它反应位点连续合成分子时，用第二反应位点替代第一反应位点。

[0018]另一实施方案是用于连续合成分子的系统，该系统通过进

行反应的连续步骤合成所述分子。所述系统包括：被配置为接受多个反应位点的工作台；被配置为向每一反应位点输送试剂的多个分配站点；使所述工作台或所述站点阵列移动的装置，使得反应位点连续接受来自所述分配站点的试剂；以及当所述系统在其它反应位点连续合成分子时，用第二反应位点替代第一反应位点的装置。

[0019]另一实施方案是用于连续合成分子的系统，其包括：包括彼此处于固定次序和固定距离的多个反应位点的工作台；被配置为向所述反应位点输送试剂以开始反应的多个分配站点，其中沿所述工作台以彼此固定的距离配置所述分配站点；被配置为按照预定进度将试剂连续分配至反应位点使得反应位点的第一反应完成后开始该反应位点的第二反应的控制系统，并且其中所述距离和所述进度与完成反应所需步骤的次序和持续时间相关联。

[0020]另一实施方案是用于连续合成分子的系统。该实施方案包括：包括彼此处于固定次序和固定距离的多个反应位点的工作台；被配置为向所述反应位点输送试剂以开始反应的多个分配站点，其中沿所述工作台以彼此固定的距离配置所述分配站点，并且其中所述距离与完成反应所需的时间有关；以及按照预定进度将试剂连续分配至反应位点使得反应位点的第一反应完成后开始该反应位点的第二反应的装置，并且其中所述距离和所述进度与完成反应所需步骤的次序和持续时间相关联。

[0021]另一实施方案是用于连续合成分子的方法，其包括：提供包括彼此处于固定次序和固定距离的多个反应位点的工作台；提供被配置为向所述反应位点输送试剂以开始反应的多个分配站点，其中沿所述工作台以彼此固定的距离配置所述分配站点，并且其中所述距离与完成反应所需的时间有关；以及按照预定进度将试剂连续分配至反应位点，使得反应位点的第一反应完成后开始该反应位点的第二反应，并且其中所述距离和所述进度与完成反应所需步骤的次序和持续时间相关联。

附图的简要描述

[0022]图 1 是连续寡核苷酸合成器的一实施方案的立体视图。

[0023]图 2 是图 1 的连续寡核苷酸合成器内的站点阵列示意图。

[0024]图 3 是用于连续合成聚合分子的系统的一实施方案的框图。

[0025]图 4 是用于合成寡核苷酸的方法的一实施方案的流程图。

[0026]图 5A 是被配置用于图 1 的连续寡核苷酸合成器内的板组件(plate module)及与其相关联的板座的一实施方案的立体视图。

[0027]图 5B 是图 5A 中所示板座的一实施方案的立体视图。

[0028]图 5C 是图 5B 中所示板座的底部的立体视图。

[0029]图 5D 是图 5A 中所示板组件的立体视图。

[0030]图 5E 是安装在板组件上的板座沿图 5A 的 5E-5E 线的横截面图。

[0031]图 6 是用于图 5B 的板座内的微孔板的俯视图。

[0032]图 7 是在连续聚合物合成器内用于分配反应溶液的系统的一实施方案的示意图。

[0033]图 8 是在将反应溶液输送至微孔板中的分配嘴下方通过的微孔板轨迹的一实施方案的示意图。

[0034]图 9 是在连续聚合物合成器内用于将试剂分配至微孔板的方法的一实施方案的流程图。

[0035]图 10 显示了用于构建和修改射表(firing table)的用户界面的屏幕截图。

[0036]图 11 显示了用于控制流体分配器的硬件抽象层(hardware abstraction layer)的电路图。

详细描述

[0037]本发明的实施方案涉及用于连续合成多个不同分子，如聚合分子的系统。本发明的系统能够被配置为包括反应位点阵列和用于进行合成操作的站点阵列。阵列中的反应位点能够以固定顺序和彼此间固定的间隔设置。例如，能够沿着圆台的外边缘配置微孔板阵列。能够对每一反应位点(即孔)指定与阵列中其它反应位点所合成的产物不同的目标产物。类似地，所述站点能够以固定顺序和彼此间固定的

间隔设置。例如，能够将站点设置在具有与微孔板阵列布局相应的周界的环形阵列中。每一所述站点能够被配置为进行与阵列中其它站点不同的操作。两组阵列能够彼此相对移动，使得所述站点在每一反应位点进行反应方案的预期步骤。所述站点的相对位置以及相对移动的进度可与反应方案中反应步骤的次序和持续时间相关联，使得反应位点一旦完成与全部站点阵列的反应循环，则反应方案完成。例如，若所述站点的次序、所述站点的间距以及每板的通过速率对应于试剂输送的次序以及完整的单体加成反应循环的反应时间，则圆台上的微孔板中的每一寡核苷酸能够通过加入单独的核苷而伸长。

[0038]根据上文所提出的以及在下文中进一步描述的构造，通过单个反应位点完成的每一圈(或在使用圆台的实施方案中的整个旋转)能够对应于向生长的寡核苷酸链中加入单独的核苷。此外，存在于反应位点阵列中的若干反应位点沿着相似、重复的圈同时移动通过所述系统，从而导致通过该系统的连续合成。使用本发明的系统或方法，当在第二反应位点发生孵育或某些其它反应步骤时，根据第一反应步骤能够将试剂有效地输送至第一反应位点或将试剂从第一反应位点有效除去(贯穿本公开使用标识符“第一”和“第二”是为了区别两名词的目的，并且除非另外指明，不意味着表示空间或时间顺序)。因此，能够按照与反应位点阵列的空间关系和时间关系配置站点阵列，使得反应在多个反应位点同时发生，甚至当反应位点在任意给定时刻进行所述反应的不同步骤时也是如此，因此允许进行连续且同步的反应。

[0039]本发明的实施方案提供了被配置为当该系统在第三反应位点连续合成分子时，允许用第二反应位点替代第一反应位点的系统。因此，能够单独加入该系统或从该系统中单独取出第一反应位点(或反应位点矩阵，例如微孔板)，而不干扰另一反应位点(或反应位点矩阵)发生的合成反应，从而提供使反应位点阵列连续反应的优点。另一优点在于能够在反应位点阵列中连续且同步合成不同长度的聚合物，这是由于每一不同聚合物的反应位点能够通过系统完成不同数目的圈，并且所述反应位点能够以独立的方式从该系统中取出或加入该系统，从而不干扰其它部位发生的反应。

[0040]在一实施方案中，所述系统包括被配置为沿其外边缘容纳多个反应位点的圆盘。围绕所述圆盘的外边缘还分布有一系列站点，其中每一站点被配置为进行与聚合物合成过程相关的具体动作。当所述圆盘旋转时，反应位点沿着所述盘的外边缘以圆形轨迹移动。设置位于环绕外周界的站点，使得当反应板通过所述站点下方时，每一站点能够对该板起作用。在一实施方案中，所述反应位点通过被配置为向该反应位点分配反应溶液的站点下方。对计算机控制系统编程以确定向每一反应位点内分配的适当溶液，并根据所述站点的位置调整圆盘的移动。所述装置内的其它站点被配置为采集反应位点的图像或增加或除去反应位点。

[0041]本发明的合成器能够被配置用于校准的溶液输送。反应位点阵列，例如多孔板阵列，能够被连接于诸如圆台或其它工作台等刚性承载部件。所述承载部件通常足够坚硬，使得每一反应位点相对于阵列中其它位点的位置在通常的合成器操作过程中基本上不改变。在每一分配站点处能够设置光学传感器，以允许为每一分配器确定刚性承载部件上的多孔板的位置。这允许对分配计时进行对多孔板具有特异性的优化，从而补偿分配器相对于反应位点的位置公差。例如，能够确定圆台上每一多孔板的位置，以使得分配器喷射的定时能够与该板的旋转相互关联以向单个的孔精确输送试剂。只要反应位点的相对位置基本上不改变，仅需要在装配所述合成器、一个或多个其分配站点或刚性承载部件后进行校准。此外，能够将得到的位置数据保存在文件中并不需要被改动，除非发生机械装置的某些拆卸。

[0042]如下文中所详细描述的，当反应位点阵列移动时，所述系统的实施方案提供分配反应溶液。例如，当反应位点接近反应站点时，计算机控制系统确定分配反应溶液的合适时间，然后指示分配站点在反应位点通过分配站点内的分配阀下方的合适时刻分配溶液。当然，应当理解，分配站点可被配置为向多个移动的反应位点分配来自分离阀的多种溶液。例如，反应位点可以是传统的微孔板的孔，并且分配站点可被配置为同时或快速接续地向微孔板的整行或整列孔中分配反应溶液。在具体实施方案中，计算机控制系统能够指示线性排列的阀

连续地并以与微孔板弓形轨迹一致的方式分配试剂。

[0043]本发明的合成器还能够包括具有局部贮液器的分配嘴。用于合成反应的试剂能够被保存在大储存箱中，该储存箱与适当的分配嘴以流体形式接触。局部贮液器在连续合成过程中允许试剂的快速输送以及大储存箱中批试剂的替代。

[0044]本发明的另一实施方案涉及成像系统，其被配置为在分配或除去反应溶液后拍摄反应位点的数码图像，然后处理该图像以确定反应溶液是否被分配到适当的位点中或是否被从适当的位点中除去。若系统内的质量控制模块确定具体的位点没有适当地接受或抽空反应溶液，则该位点能够被标记错误标志以表明在该位点应当停止进一步反应，或者应当将该反应位点从系统中取出。成像站点的优点在于其能够对上游分配器的功能性和所述板抽空的成功性提供实时确认，使得有能力中止合成循环并进行维护而不损失下游反应。

[0045]在一实施方案中，所述系统包括环绕在所述装置圆周的一系列分配站点，最接近一个或多个分配站点的是数码照相机，其被配置为在将反应溶液分配到反应容器后拍摄该反应位点的图像。

[0046]应当理解，不是每一反应位点都需要在每一反应站点接受反应溶液。因此，优选对成像系统编程以确定具体的反应位点是否被认为已接受反应溶液，若是，则确定所述反应位点在所述容器内是否具有这样的溶液。

[0047]本发明的系统还能够包括连续可用的溶液去除装置。因此，反应溶液的去除不必限于仅发生在具体的站点。相反，反应溶液的去除能够发生在合成反应序列中的任意时刻或发生在沿着本发明系统中反应位点所经过路径的任意位置。在具体的实施方案中，由阀削弱的抽真空装置在合成反应期间的任意时刻可用于多孔板阵列中单个的多孔板。

[0048]本发明系统还能够包括在反应位点上方提供惰性气体气流的气刀。在具体实施方案中，在合成反应期间的任意时刻能够将气刀维持在每一位点上方。一装置能够用于供给层状或湍流的惰性气体的矩形喷射，在多孔板或其它反应位点的上表面上方成切线吹出该气体。

能够进一步配置该装置，使得当该多孔板沿着合成路径移动时，所述气刀与每一多孔板一起行进。气刀能够通过除去进入蒸汽相的挥发性试剂或溶剂而提供降低反应位点间污染的优点。该气刀还能够保护每一反应位点不受分配站点所产生的不必要的蒸汽的影响。

[0049]在一实施方案中，本发明所提供的系统包括具有环形反应位点阵列的寡核苷酸合成器。在该实施方案中，反应位点阵列每完成一圈旋转，将一核苷碱基加入到每一位点的寡核苷酸中。在该实施方案中，可有多个反应溶液分配站点，其中第一站点分配腺苷、第二站点分配胸苷、第三站点分配胞啶以及第四站点分配鸟苷。此外，沿环形阵列外周设置的其它分配站点能够被配置为分配其它必要的反应溶液以合成寡核苷酸。例如，分配站点能够根据合成寡核苷酸链的步骤分配用于脱三苯甲基化作用、偶联、封端和氧化的反应溶液。

[0050]本发明的其它实施方案提供了合成其它聚合分子的系统。例如，所述合成器能够被配置为分配合成多肽的反应溶液。在固体载体上的肽合成过程通常涉及由羧基末端构建肽。所述肽经由其羧基末端氨基酸连接于固体载体并且该肽还包括氨基末端α氨基基团上的保护基团。然后使保护基团由肽裂解以形成脱保护肽。然后，使也含有α氨基保护基团的单体氨基酸与脱保护肽在适当的条件下接触，以便在脱保护肽的α氨基基团与单体氨基酸的α羧基基团之间形成肽键。单体氨基酸能够以活化形式提供，或者能够将活化剂加入至氨基酸和生长的肽中。在步骤之间进行洗涤以除去试剂。能够重复对前一氨基酸脱保护以及与另一氨基酸偶联的循环直至合成期望长度的肽。氨基酸的任何活性侧链通常被能够抵抗偶联和α氨基脱保护操作的化学基团所保护。然而，在合成结束时能够除去这些侧链保护基团。因此，本发明合成器的每一分配器能够被配置为分配洗液、脱保护试剂、氨基酸或活化剂。根据本文的教导和已知的肽合成反应方案，包括例如，在 Goodman et al. (Eds.). *Synthesis of Peptides and Peptidomimetics* (肽和肽模拟物的合成), Vol. E22a. Georg Thieme Verlag, Stuttgart (2002)中所描述的，站点阵列的相对布置、反应位点的相对布置以及所述阵列彼此连通的进度能够相互关联。

具体合成器实施方案的概述

[0051]图 1 是连续聚合物合成器 10 的一实施方案的图示。如图所示，合成器 10 包括支持转盘 20 的六边形基座 15。转盘 20 放置在所述基座 10 内，使得其能够被启动围绕中心轴旋转。将一系列板组件 500 设置在环绕转盘 20 的外边缘，每一板组件 500 被配置为装配到板座(未显示)上，该板座被设计为支持多孔板。在下文中对该构造进行更详细的解释。

[0052]当然，应当理解，本发明的实施方案不限于板座或多孔板的任何具体构造。例如，用于连续聚合物合成器内的任何类型的反应位点均在本发明的范围内。这种反应位点包括，例如，诸如微孔板或底滤板(filter bottom plate)等多孔板的孔、Eppendorf 试管、诸如硅片或载玻片等微阵列的衬底、以及任何用于容纳反应溶液的已知衬底或容器中。本领域技术人员会理解，本文关于微孔板的示例性实施方案能够容易地适用于其它反应位点。

[0053]出于说明的目的，对于将转盘用作支持沿环形路径移动的反应位点阵列的工作台，在此对本发明进行了示例性的说明。然而，只要其能够进行如本发明在此提出的连续合成，其它工作台或构造也是可使用的。例如，工作台能够使反应位点按照对应于圆、椭圆或其它形状的全部或部分的直线形状或曲线形状的路径移动。通常，本发明所用的工作台被配置为接受反应位点阵列，使得将所述位点以固定的顺序和彼此间固定的间隔配置。因此，能够移动反应位点阵列，使得阵列中反应位点的相对位置不改变。然而，若需要，本发明所用的工作台能够被配置为允许单个反应位点的移动，使得阵列中的位点的相对位置能够被改变。此外，工作台不必移动，可以是静态的，例如，在实施方案中用移动站点阵列来代替。

[0054]当用于涉及多个分子的合成时，本文所用的术语“连续的”意指用于每一分子合成的步骤的顺序和步骤间的时间间隔按照反应进度发生，并且所述进度不因对其它分子进行的操作而改变。所述操作能够包括按照反应进度而发生的步骤；用于引发或终止合成反应的步

骤，例如将反应容器放入合成装置中或将反应容器从合成装置中取出；消极步骤(passive steps)，例如在孵育步骤中将试剂维持在反应位点；或不同于反应进度的步骤，例如对于失败的合成反应将反应容器提前取出。因此，即使存在需要替换反应容器的错误，连续合成多个分子的系统仍能够以不受干扰的方式进行其它分子的反应。连续合成不应被解释为需要本发明系统的任意部件连续移动。连续合成器可以，例如当转盘改变方向时停止移动并且可以当在转盘上的多孔板处发生连续合成时停止移动。

[0055]因此，本发明的实施方案提供了这样的系统和方法，其中反应位点阵列或站点阵列按照反应位点与站点的顺序连通的进度移动，其中站点的相对位置和进度与具体反应的连续步骤的次序和持续时间相关联。本文所用的术语“反应步骤”意指对于化学转化或改变被实施或被允许发生的操作。术语“反应进度”意指对于化学转化或改变所实施的操作的预定次序和持续时间。

[0056]回到图 1 的示例性合成器，当转盘 20 在基座 15 内转动时，包括可拆卸地安装在转盘 20 上的板座(未显示)在内的板组件 500 也沿着转盘 20 的外周转动。将一系列分配器 35A-F 和照相机 38A-E 固定位置，并安装在合成器 10 的顶部。参照图 2 对其进行更完善地描述。应当注意，当转盘 20 围绕其中心轴移动时，每一板组件 500 逐渐在分配器，也被称为“分配站点”下移动，使得反应溶液能够被分配至微孔板中。在一实施方案中，当转盘 20 移动时，所述反应溶液通过分配阀分配至微孔板中。分配阀也被称为“分配嘴”，其通常是静态的，由此在合成循环中的试剂输送期间，其相对于分配器不移动。

[0057]在图 1 所示的实施方案中，能够使用反馈机制来测定转盘相对于分配阀的位置。这样的测定能够整个操作过程中连续进行，或在特定的时间执行，例如在对系统进行调整后。在一实施方案中，使用传感器来测定微孔板或其它反应位点上的基准点。一旦传感器确定了转盘的位置，该位置信息被反馈回控制转子和对分配嘴中的阀进行的定时的系统。在一实施方案中，基准点是微孔板中的塑料构造，如孔的圆拱或边缘。此外或可选择地，能够临时使用可检测的装置或材

料来代替反应位点，例如，在校准步骤中临时置于转盘20上的板组件中的可检测的装置或材料。

[0058]在一实施方案中，转盘20被配置为具有足够大的直径，使得当沿所述盘的外周配置的板组件经过每一分散器下方时遵循几乎线性轨迹。例如，图2所示的转盘可具有约77”的直径，使得位于该盘外边缘的微孔板遵循近似于该盘圆周的环形路径。当所述盘的直径增加时，随着周长的增加，沿所述盘边缘的板的路径变为更明显的线性。因此，本发明所用的转盘的直径能够选自包括至少约77”、80”、85”、90”、100”或更大的尺寸。应当理解，也能够使用较小的直径，例如，在使用较少反应位点的实例中，转盘的直径能够是至少约60”、54”、48”、42”或36”或更小。在反应位点没有被置于转盘外边缘的实施方案中，本领域技术人员会理解，上述示例性的直径以及相应的周长能够适用于反应位点的环形路径的尺寸。

[0059]图1和图2所示的示例性系统总体上以顺时针方向移动。然而，系统也能被配置为以逆时针方向移动。例如，当转盘以顺时针方向移动时，能够将反应溶液从特定的分配站点分配至微孔板中。然后能够将转盘的移动方向从顺时针方向变为逆时针方向。所述盘逆时针行进的距离能够使得微孔板被置于使其通过成像站点38A-E之一成像的位置。能够再次改变转盘的方向，由此使被成像的微孔板按顺时针方向经过特定的分配站点移向下一分配站点。尽管若干次改变方向，但转盘的移动使得总体上的移动仍是顺时针方向。此外，连续合成发生在每一微孔板处(在图2中从1至36编号)，这是由于所述盘的移动和所述站点的布置允许所有的微孔板按照图4所示的反应方案接受反应物并且孵育该反应物。

[0060]应当理解，不管使用转盘或其它工作台来接受反应位点阵列，本发明的系统能够以上文所例示的双方向移动或者以期望适于系统的特定应用的单方向移动。因此，能够设置成像站点，使得其在系统移动的总体路径中位于特定分配站点之前或之后。能够相对于一个或多个分配站点的位置以及相对于系统的移动来设置成像站点，使得能够在分配一份或多份反应溶液后获取每一反应位点的图像。用于本

发明的成像站点的具体实施方案会在下文中进行更详细的描述。

[0061]应当理解，在图像处理系统上运行的图像处理软件能够被配置为接收图像的副本，其后确定是否已将合适的溶液实际上分配到每一反应容器中。在一实施方案中，所述图像处理系统确定微孔板中的一孔或多孔是满的还是空的。在另一实施方案中，所述图像处理系统能够确定每一孔内反应溶液的吸光性质，如所吸收的光的波长或在一个或多个波长处的光密度。使用本文其它地方提出的方法或如所描述的本领域已知的方法，例如在美国专利申请公开第 2004/0219063 号中所描述的方法，能够利用孔中反应溶液的吸光性质来确定比色反应的收率。若图像处理软件确定分配器没有适当地将反应溶液加入至微孔板的特定孔中，或者未呈现期望的颜色水平，则该孔或包括该孔的板在监测连续合成器 10 内发生的合成反应进程的实验室信息管理系统(LIMS)内可标记为损坏。

[0062]本领域技术人员会理解，用于本发明的成像站点能够被配置为检测反应位点的任何可检测特性，例如光学性质，其包括但不限于吸光度、荧光、化学发光、偏振化、圆二色谱、荧光能量共振转移(FRET)、光散射等等。此外，本领域技术人员容易理解，能够改良或用适于监测这些光学性能的任何已知检测装置来代替诸如本文所提出的光学检测装置。此外，本发明能够用于检测在一个或多个电磁波频谱范围内存在的光学性质的变化，所述电磁波频谱包括但不限于红外线；可见光；紫外线；X 射线；微波；其亚区，例如可见光区的红、蓝或黄亚区；这些区或亚区的结合或该谱图的其它区。

[0063]用于本发明的成像站点能够包括照相机装置，例如电荷藕合器件(CCD)型照相机，其包括但不限于瑞典 Lund 的 AXIS Communications, Inc 提供的 AXIS 2100 网络照相机。应当理解，根据本发明，可使用其它类型的照相机。用于本发明的照相机可以是任何将可检测光学性质以位置依赖性方式转换成信号的装置。因此，用于本发明的示例性照相机包括，例如互补金属氧化物半导体(CMOS)照相机、摄像机、网络照相机或能够将图片转化为数码图像的其它成像装置。也可以使用本领域已知的其它成像装置，例如美国专利申请公开

第 2004/0219063 号中所描述的那些。

[0064]如上所述，本发明的实施方案包括能够在多孔板内连续合成聚合物的合成器，即使该板的一个孔被确定为坏孔。例如，若成像系统确定多孔板的一个孔没有被加入其中的反应溶液，则不必将整个多孔板标注为坏板。相反，可将具体的孔标明为失败的合成。因此，该系统能够继续向多孔板的其它孔输送溶液以在其中合成聚合物，而中断向失败孔输送溶液以避免试剂的浪费。此外，应当理解，即使在板的阵列内一块板被标明为失败板，合成器也能够继续在其它多孔板内合成聚合物，这是由于失败板处的合成能够被选择性地中断，或者能够将坏板选择性地从转盘中取出而不干扰其它板处试剂的输送或孵育。

[0065]图 2 是用于本发明的转盘 20、分配站点 35A-F 和成像站点 38A-F 的示意图。如图所示，存在装载站点 45，其被配置为允许板座装载在合成器 10 的板组件 500 上。装载站点能够被配置用于多孔板或其它反应位点的装载和卸载，或者，可选择地，能够使用单独的站点来进行反应位点的装载和从系统中卸载。参照图 5A-D 来更具体地解释板组件及其相关联的板座。应当理解，每一板座支撑一块微孔板，能够手动或使用自动化操纵装置如机械臂将板座装载在合成器 10 上。此外，可为每块微孔板分配唯一的条形码，使得每一块板能够从其被放置在合成器 10 上直至其被取出的时间内被自动跟踪。当每一微孔板在移动至转盘上或离开转盘时，如下文所描述的计算机控制系统能够监测其进程，从而对合成器在任一时刻所进行的反应保持控制。在一实施方案中，条形码扫描仪与自动化操纵装置相关联，以便在 LIMS 中扫描并跟踪装载的或从合成器 10 卸载的每一块板。

[0066]如图 2 所示，合成器 10 能够被配置为在微孔板或其它多反应位点衬底内产生寡核苷酸。基于预定的需要，为微孔板的每一孔分配要合成的不同寡核苷酸。基于该分配，如下文所述的 LEVIS 指示每一分配器向适当的孔中输出适当的反应溶液。每一分配器包括一个或多个阀，每一个阀被配置为将反应溶液精确地分配至微孔中。

[0067]一旦将板座装载在转盘 20 的板组件 500 上时，则板组件进

入洗涤站点分配器 35A 下方。当板组件进入分配器 35A 下方时，分配器 35A 内的阀输出洗液进入微孔。在一实施方案中，所述分配器包括 24 个独立控制的阀，其被配置为将洗液分配至微孔板的 24 个孔中。如图 8 所示，分配嘴能够被配置为与 384 孔微孔板 515 的一行或多行或者一列或多列的孔的图案相匹配。当微孔板经过洗涤分配器 35A 下方时，每一阀定时释放预定量的洗液至微孔板的每一孔中。在一实施方案中，所述洗液是乙腈(ACN)洗液。在洗涤站点或者其它溶液分配站点使用的分配嘴的数目可小于反应位点的数目。出于说明的目的，若 24 个阀中的每一阀喷射 16 次，从而填充了微孔板的全部 16 行，则具有 24 个阀的上述示例性的系统能够将溶液输送至 384 孔微孔板的所有孔中。因此，分配站点能够具有例如对应于微孔板的单行或单列的单线性排列的阀，或者能够具有多线性排列、形成对应于微孔板全部或部分孔的行和列的矩阵的阀。

[0068]在将洗液分配至每一孔后，允许其孵育预期的时间，能够使用诸如真空源等的溶液去除装置除去溶液。在一实施方案中，当转盘旋转时，真空源处于与板组件持续连通的状态。能够在真空源和板之间设置阀，以削弱真空源和板之间的连通。所述真空用作溶液去除装置以从微孔板除去溶液。在该实施方案中，微孔板是“底滤”式板，其中微孔板的底部是液体可渗透的。底滤式微孔板可得自例如 Innovative Microplate (Chicopee, MA- innovativemicroplate.com)。通常，生长的寡核苷酸共价连接于所述孔或连接于固体衬底，使得其不会穿过过滤器。因此，当施加真空时，生长的寡核苷酸保留在孔中。本领域技术人员会理解，具有能够抽真空的反应位点的其它衬底，例如滤盘或滤片，能够类似地用于本发明中。

[0069]在上述实施方案中，能够将单独的真空源与多孔板相连。例如，能够将真空泵放置在远离转盘的位置，并通过具有电滑环的旋转接头与所述板相连通。如图 2 所示，一系列真空线 48A-G 能够自转盘 20 的中央口 50 运转并与每一板组件 500 相连。出于说明的目的，仅一部分真空线显示在图 2 中，但是应当理解，阵列的每一多孔板能够通过真空线与真空源连通。旋转接头允许真空线与每一多孔板连通

并且当转子移动且所述真空源保持在固定位置时，允许该真空线与每一多孔板一起运动。

[0070]在具体的实施方案中，能够通过独立的阀控制每一多孔板的真空补给。例如，旋转接头的电滑环能够含有一系列电路，当装置旋转时，所述电路的接触彼此相对移动但保持连续，从而允许操作螺线管与每一多孔板一起运动。通过将电磁阀与每一转动的板连接，每一板的真空能够在合成循环过程中任何时刻通过该系统打开或关闭。该构造提供的优点是保持装置紧凑、使机械复杂性最小化以及有助于高安全性。板组件的进一步描述和与真空源和多孔板相互作用相关的板组件的构造在下文中进行阐述。

[0071]应当理解，在将 CAN 洗液抽空前，能够通过数码照相机装置之一拍摄多孔板的图像，随后将其传送至图像处理系统进行处理。图像处理系统能够如下文所讨论分析图像，以确定微孔板的每一孔进行是否被洗液适当地处理。若未发现孔中有洗液，则能够将该孔标记为坏孔，或者能够将其标记为在下一循环中再加洗液进行处理。图像处理系统能够以相同的方式用于根据抽空步骤后获得的图像确定是否已将溶液从多孔板中充分除去。

[0072]在洗涤步骤后，板组件能够移动到解封分配器 35B 下的位置。该分配器被配置为分配解封溶液，在一实施方案中，该解封溶液含有三氯乙酸，其与生长的寡核苷酸反应以从最后的核苷上除去二甲氧基三苯甲基(DMT)基团。将 DMT 基团从寡核苷酸上除去允许后续的核苷加入到生长的聚合物链上。可以通过能够被系统的照相机之一成像的亮橙色很容易地识别 DMT 的释放。因此，一旦发生解封步骤，板组件能够在使反应位点成像的另一照相机下转动，由此通过测定每一反应溶液是否具有亮橙色来确定解封步骤是否成功。在每一反应位点处的橙色的光密度能够从图像中测定并用于评价每一单独合成反应的偶联效率、收率或其它特性。然后能够抽空板组件以除去解封溶液。

[0073]然后能够将板组件移动到被配置为从每一孔中清洗任何额外的解封溶液的洗涤分配器 35D 下方。在加入洗液后，系统能够拍摄图像以确定每一孔是否接受洗液，然后该洗液可从每一孔中被抽空。

惰性溶剂乙腈(ACN)被用作该洗液以及在一实施方案草案中的其它洗液。

[0074]在分配器 35D 处清洗后，板组件在偶联分配器 35E 下方运动，其中向每一孔中加入适当的核苷。可以想象，若寡核苷酸中下一核苷为“A”，则分配器 35E 将腺苷溶液分配至孔中。分配器 35E 被配置为将适当的核苷分配至板组件内微孔板的每一孔中。当然，能够将系统配置为具有多个分配器，其中每一分配器被配置为向每一孔中提供不同的核苷。此外，本发明系统能够包括被配置为输送被修饰的核苷的一个或多个分配站点。能够使用单独的站点或分配嘴以专用方式输送被修饰的核苷。或者，站点或分配嘴能够被配置为输送多个不同的核苷，2 个或多个具有天然存在的 A、T、C、G 或 U 碱基的核苷，或这些或其它核苷的被修饰的形式。

[0075]在来自偶联分配器 35D 的输送后，板组件能够经过拍摄微孔板图像的另一照相机下方，以确保将核苷溶液给予至适当的孔。然后能够抽空所述板的液体内容物，从而将核苷溶液从生长的聚合物中除去。

[0076]然后将板组件移至氧化分配器 35G。该分配器将含有碘的氧化反应溶液分配至合适的孔，作为反应过程的下一步骤。然后能够将该溶液成像并抽空，并将板组件移动至寡核苷酸合成反应最后阶段的封端分配器 35H。一旦将含有与 N-甲基咪唑起反应的乙酸酐的封端溶液分配至适当的孔中，所述板可继续其环形路径。若反应完成，则能够在就位于封端分配器 35H 之后的装载/卸载站点 45 处除去板组件。若所述板中寡核苷酸的合成未完成，则板组件能够在分配站点阵列的下方再进行一圈操作，以向多孔板内生长的寡核苷酸加入另一核苷。

[0077]本领域技术人员会理解，提供微孔板与上文提出的不同站点相连通的次序是出于说明的目的。能够选择反应位点与独立的站点相连通的次序、反应位点和站点阵列间相对移动的方向以及反应站点处理之间的持续时间，以适合本发明的具体反应或应用，并且因此其能够不同于上文所例示。

[0078]因此，本发明的一实施方案是用于连续合成分子的系统，

该系统通过进行反应的连续步骤合成所述分子。在一实施方案中，所述分子是寡核苷酸或多肽。在该实施方案中，所述系统包括配置为接受反应位点阵列的工作台。反应位点可以是例如底滤式微孔板、试管、或任何用于容纳反应溶液的其它方式。所述系统还包括不同站点的阵列。一组站点是试剂分配站点，例如分配器 35。这些站点被配置为单独地和连续地向用于进行连续反应步骤的反应位点提供合成反应溶液。此外，能够对应于反应的连续步骤次序以固定的空间关系配置站点阵列。

[0079]能够被包括在站点阵列内的另一组站点包括被配置为在分配反应溶液后，或抽空所述溶液后，获得反应位点图像的成像站点。如下文所讨论的，所述系统还能够包括控制系统，该控制系统被配置为移动工作台或站点阵列，使得反应位点顺序地与分配站点和成像站点连通。这允许分配站点向所述位点分配反应溶液，并允许成像站点使所述位点成像。在一实施方案中，所述控制系统被进一步配置为当系统在反应位点阵列的其它反应位点连续合成分子时，允许用第二反应位点替代反应位点阵列的第一反应位点，例如微孔板。

[0080]还应当理解，所述系统还能够监测合成反应的质量或收率，而不仅仅是反应是否发生。例如连续合成器能够被配置为监测平行化学反应并尤其适用于诸如寡核苷酸合成或肽合成的聚合物合成的实时监测。该合成器还尤其适用于提供寡核苷酸、肽或其它聚合物生产的质量控制(QC)测量。在一实施方案中，化学反应监测器是用于跟踪任一时刻合成的寡核苷酸的收率、质量和整体状态的自动 DMT 监测系统。尽管本发明以寡核苷酸合成为背景进行示例性地说明，但应当理解，本发明的化学反应监测器不限于寡核苷酸合成并可用于检测其它类型的化学反应。在 WO 04/065000 和美国专利申请公开第 2004/0219063 号中能够发现检测合成反应质量的方法的其它实例，在此将其全部内容引入作为参考。

[0081]本发明的方法或系统能够用于大量反应的同时合成。例如，图 2 所例示的系统包括 36 块板，每一板具有 96 孔或 384 孔，从而能够在任何给定的时刻同时分别进行 3,456 或 13,828 个单独反应。本领

域技术人员会理解，所述系统能够被配置为进行更大量的同步反应，例如通过增加所用多孔板的数目和/或增加每一板中的孔数目。类似地，本发明系统能够被配置为进行更少量的同步反应，例如通过使用较少的多孔板或每一板使用较少的孔。因此，能够配置本发明的系统或方法以同时连续进行至少约 100、1×10^3、1×10^4、1×10^5、1×10^6 个反应。

[0082]使用本发明系统或方法的连续合成提供了期望产品的高产量生产。例如，图 2 中所例示的系统能够在允许每一 384 孔板在 9 分钟内完成一圈的速率下运行。然而，由于系统在 36 块板中连续进行核苷加成反应，因此系统在 9 分钟内会完成 13,824 (= 384×36)个核苷加成反应。这就计算出每小时完成 92,160 个核苷加成反应。取决于所选择的反应条件，本发明能够用于在至少约 1 分钟、5 分钟、7 分钟、8 分钟、9 分钟、10 分钟、11 分钟、12 分钟、15 分钟、20 分钟、30 分钟或 60 分钟内完成诸如向生长的聚合物中加入单体单元的反应循环。该合成速率能够应用于大量反应位点的任一个，如上文所示的那些反应位点。通常，取决于所选择的反应条件，使用本发明得到的生产量可以是例如每小时完成至少约 100、500、1×10^3、5×10^3、1×10^4、5×10^4、1×10^5、5×10^5 或 1×10^6 个反应或反应循环。

示例性的连续聚合物合成系统

[0083]图 3 是示例性的连续聚合物合成系统 100 的框图，该连续聚合物合成系统包括通过电连接 105 与伺服控制器系统 110 连接的连续合成器 10。伺服控制器系统 110 控制安装在转盘 20 下方的伺服装置 108 并且控制转盘 20 相对于分配器和照相机的精确位置。

[0084]反馈线 112 使伺服控制器系统 110 与合成器 10 保持持续连通，使得合成器实时维持转盘的位置。当微孔板绕转盘移动时，位置传感器 115 检测微孔板的位置并向伺服控制器系统 100 提供电反馈。伺服控制器系统 110 向伺服装置 108 提供指令以使转盘 20 向具体位置移动。在一实施方案中，所述传感器是单光束传感器，如 Keyence LV-21A、LV-H35F 传感器。位置传感器 115 被配置为读取微孔板或转

盘的其它部分上的标记，以便确定所述盘向其预期位置移动。此外，位置传感器 115 能够提供反馈，该反馈随后被伺服控制系统 110 用于标记相对于转盘位置的所述板的位置，使得微孔板被适当地置于每一分配器下方。本领域技术人员会理解，类似的反馈系统能够用于校准本发明系统中其它反应位点的位置，并且能够容易地适应于其中反应位点阵列和/或站点阵列能够移动的实施方案。此外，反馈系统能够在本发明系统的操作期间连续使用或在诸如合成器装配或维护后的具体时刻使用。

[0085]图 6提供了微孔板 120 的图像并显示了一组校准横条 122A、B 和 C。这些横条是微孔板 120 内的标准结构，因而其相对于系统中每一微孔板内的微量滴定孔 124 处于相同的位置。因此，基于校准横条的位置，当微孔板围绕合成器旋转时，传感器 115A、B 能够用于测定微孔板的位置，从而测定孔的位置。每一传感器 115A、B 能够被配置为当微孔板 120 在转盘上移动时，检测一横条何时通过该传感器。该信息能够用于通过图 3 的反馈线 112 发送反馈信号。在校准不正确的情况下，系统能够向试剂输送站点或向使用人员发送适当的指令以改进微孔板和分配嘴间的校准。这类校准能够包括物理位置的改变或从一个或多个分配嘴输送溶液的时间的调整。

[0086]再返回参照图 3，控制器 110 连接于嵌入控制层(TwinCat 130)，该控制层包括在与 Windows XP 兼容的 PC 体系上运行的可编程软件 PLC。该系统通过 DeviceNet 模块 120 和 LightBus 控制网络对合成器硬件提供确定性的控制。软件 PLC 通过 DeviceNet 网络与伺服控制器通信并控制该伺服控制器。

[0087]控制系统 150 包括软件程序块，该程序块与合成器 10 通信并提供关于向哪个孔中加入特定的核苷，以及应当向哪个孔中提供修饰的碱基的指令。正如所能够理解的，控制系统 150 包括表示要由合成器 10 生产的适当的寡核苷酸的数据。向合成器 10 提供这些指令使得当微孔板的每孔经过分配器下方时，该合成器能够在适当的时间适当地启动分配器。这允许系统在微孔板的每孔内制备不同的寡核苷酸。

[0088]如上所述，控制系统 150 包括存储寡核苷酸次序的存储装

置，所述寡核苷酸次序规定了待制备的寡核苷酸顺序。当在合成器 10 上装载新板时，控制系统记录该板的条码数字，然后使该条码与控制系统内存储的具体次序相关联。然后为所选板分配在每孔内待合成的寡核苷酸顺序。控制系统跟踪合成器上的每一微孔板，并控制合成过程中放入到每孔内的核苷碱基。因此，在围绕合成器 10 的一次循环过程中，取决于每孔内待合成的寡核苷酸顺序，某些孔可接收“C”碱基，而其它孔可接收“A”、“T”、“G”或特殊修饰的碱基。

[0089]控制系统 150 能够通过 TwinCat 控制层以射表的形式向分配站点 35A-F 提供指令，所述射表源于期望的核苷顺序与合成器协议的相互关系。能够将核苷顺序以列出每孔中待合成的寡核苷酸顺序的批处理文件的形式输入控制系统。能够从各种来源获得批处理文件，该来源包括例如由使用者通过图形用户界面或通过由客户命令系统导入而直接输入，所述客户命令系统例如美国临时申请第 60/634,164 号中所描述的寡核苷酸排序系统，在此将其全部内容引入作为参考。

[0090]能够根据具体板的条码以及根据该板中孔的位置(即行和列)识别批处理文件中的每一个孔。使用图 1 至图 4 所示系统的实例，合成器协议包括转盘 20 上每一多孔板 30 的定位、分配站点 35A-F 的定位以及转盘 20 的旋转进度。出于说明的目的，所述进度能够被表示为一系列“通道转换(tic)”，由此每一通道转换表示转盘 20 移动不连续的距离。因此，在每一通道转换过程中不同组的孔通过分配站点的下方。对于每一通道转换，基于对孔的识别以及孔中待合成的寡核苷酸顺序，控制系统提供不同的射表。

[0091]参照图 10 提供的截图进一步详细地描述射表。所述截图表示创建或修改射表的用户界面。在截图中以及在传递参数(Delivery Parameters)窗口下方，将每孔可用的输入选项按纵向列出。所列出的输入选项包括活化的核苷(A、C、T 和 G)，修饰试剂(AmC6、HMDA 和 Phos)、洗液(CAN、ACN Em、初洗(Initial Wa_)以及 prebase)和其它不同的反应溶液(封端、解封(Deblock)和氧化剂(Oxidizer))。在传递参数窗口下方横向列出输出试剂。表中的数字对应于要通过输出装置传递以满足所选的输入选项的每一试剂的体积。

[0092]某些输入选项具有多个输出选项并因此用别名表示。别名起到代表若干不同组指令的占位符的作用，其中对于具体合成循环，每组是以待加入的具体试剂为基础。例如，在对于不同修饰步骤使用不同初洗处理的情况下，初洗步骤的别名能够表示当使用第一修饰试剂时在合成循环中所使用的第一组指令，以及当使用第二修饰试剂时所使用的另一组指令。因此，基于对具体孔的识别以及对分配到孔中的寡核苷酸所进行的修饰的识别，适当的初洗指令能够包括在射表内。在有待于对寡核苷酸进行修饰的循环中，响应于使具体孔与分配器35A连通的通道转换，可将射表发送至初洗分配器35A。

[0093]能够将两个或多个输入选项建立成组。图10中的截图的左下窗口中列出了若干个组，包括活化剂和修饰剂(Activator and Mods)、碱基(Bases)和CAN体积(Bulk CAN)。如截图所示，选择活化剂和修饰剂组，其包括AmC6、HMDA和Phos输入选项。将输入选项建立成组提供的优点是方便建立或修改射表。例如当将输入选项建立成组时，能够很容易地操作和/或显现对若干输入选项待做的全部改变。

[0094]基于上述示例性的控制系统，本领域技术人员会知道或能够确定适于任何反应的指令。例如，使用列出了适于具体所关注反应的反应溶液的射表能够合成重复反应循环的任何聚合物或其它产品。然而尽管实施方案描述了合成聚合物，但是本发明的其它方面还包括诸如测定聚合物顺序的分析。在一实例中，能够测定DNA或蛋白质的顺序。此外，对基于转盘的装置的示例性的控制系统能够容易地适合于其它装置，如本文其它地方所述的那些装置。此外，除了射表以外，能够以其它格式提供指令，包括例如电子数据表(例如，Microsoft的EXCEL™数据表)、数据库表格或任何能够表示电子文档中正文的格式。

[0095]如图所示，控制系统150还与图像服务器160A、B连接，该图像服务器被配置为处理通过安装在合成器10周围的照相机38所捕获的全部图像。在一实施方案中，每一照相机装置是电荷藕合器件(CCD)型照相机，包括但不限于瑞典Lund的AXIS Communications, Inc提供的AXIS 2100网络照相机。应当理解，根据本发明，也可使用其

它类型的照相机。用于本发明的照相机可以是任何将可检测的光学性质以位置依赖性方式转换成信号的装置。因此，用于本发明的示例性照相机包括，例如互补金属氧化物半导体(CMOS)照相机、摄像机、网络照相机或其它能够将图片转化为数码图像的成像装置，如本文前述的那些以及在美国专利申请公开第 2004/0219063 号中所描述的那些。

[0096]如前所述，每一照相机能够置于合成器 10 上多孔板或其它多个孔的上方，使得其能够获得包括多孔板的全部孔或微孔板在内的图像。多孔板通常包括 96 孔或 384 孔，然而，应当理解，所述多孔板可包括其它数目的孔，如多于 384 孔。有利地，照相机装置不仅允许整体观察多孔板，而且允许个别地观察每个孔。在一实施方案中，照相机结合光学过滤台组合，使得检测器能够进行光学测量并可进行调节以适应在谱图中显示特定吸收率的具体化学物质。用于本发明的光学滤波器能够是任何以波长、偏振或频率依赖性方式使辐射选择性地通过或拒绝其通过的装置。

[0097]如图 3 所示，照相机能够将图像以电子方式传递至存储单元，如图像服务器 160A、B。在图 3 所示的示例性实施方案中，控制系统 150 被配置为控制每一照相机。例如，图像控制软件被配置为在拍摄寡核苷酸合成器 10 的多孔板图像时，通过中央网络向照相机装置发信号。该图像可以以 JPEG、TIFF、BMP 文件的形式或其它合适的文件格式被传送至图像处理服务器 160A、B。图 6 显示了微孔板图像的示例性实例。

[0098]在具体的实施方案中，图像文件根据拍摄图像时合成方法所处的合成草案内的批号、板号或循环号来命名。在这方面，术语“循环”指向生长的 DNA 链加入每一碱基的步骤的完整循环，包括但不限于脱保护、偶联、封端和氧化步骤。应当理解，在同一循环内操作可进行一次或多次。本文或其它地方所提出的用于本发明的任何步骤能够作为具体步骤的一次或多次重复被实施。例如，在同一循环内，脱保护步骤可重复两次或三次，由此重复指定能够用于在该循环内区分具体的脱保护操作。

[0099]图 9 是显示连续合成分子的方法 1000 的一实施方案的流程

图。方法 1000 始于开始状态 1002，然后移向状态 1004，其中当板在转盘上旋转时，试剂由分配阀分配至微孔板。在微孔板的全部孔通过分配阀下方后，微孔板移动至照相机的下方以便在状态 1006 拍摄图像。能够使用诸如 LED 阵列的光源照亮微孔板。照相机能够置于转盘正上方并能够设置 LED 阵列在朝向板和照相机之间光路的方向投射光，以使两光路交叉。在构造中，能够将分束器置于照相机和板之间的交叉点上，由此从 LED 射出的光被分束器的反射面反射到所述板上，并且照相机通过所述透射镜面获得被照亮的板的图像。参照图 6 能够找到一示例性图像。在美国专利申请公开第 2004/0219063 号中进一步描述了用于本发明的成像系统以及适当的构造。

[0100]一旦拍摄到微孔板的图像，将其在状态 1010 与序列数据的数据库进行比较以确定应该接收到试剂的微孔板的每孔是否确定被填充。被包含在数据库中并用于比较的文件能够包括基于具体体积的液体存在或不存在的预期性质。例如该文件能够提供从任意黑值(例如 4096)至任意白值(例如 0)的数值范围。基于一张或多张对已抽空溶液的板所获得的校准图像能够对孔分配所述数值，其包括光学上透明溶液和/或其包括光学上不透光的溶液(dense solution)。对于 0 至 4096 数值范围的实例，被抽空的孔可具有 4096 附近的值或数值范围(range of values)，含有三苯甲基的孔可具有 0 附近的值或值域，以及含有光学上透明溶液的孔可具有在空孔与装有三苯甲基的孔之间的值或值域。所述值域可以是不间断的，或可选择地，所述值域在其间可具有间隙。在合成期间能够测定板的光密度，并将其光密度与数值范围进行比较以确定其是否处于空孔、满孔或含有三苯甲基的孔的范围。若所述比较获得期望的范围，例如，被抽空的孔的光密度在 4096 附近的范围，则允许继续该孔的合成。若所述对照获得的范围在期望范围以外，例如，存在间隙或处于 0 附近的范围，则显示错误并且停止所述孔的合成。

[0101]对于上述图像，能够测定孔中央或孔的具体位置，如所述孔的中部，的光密度。通常，记录孔的位置使得用于测定光密度的任何图像排除孔的边缘。此外，通常校准单个孔并按照单独基准来比较，

以补偿板的不同部分的不同照明效果。虽然在上文中描述了关于光密度的图像比较，但应当理解，其它值也能够代替光密度用在比较中，例如孔区域中测定的光密度分布的标准偏差或该分布的斜度。

[0102]然后过程 1000 移向判定状态 1012，其中将所述图像与数据库比较后确定是否发生任何错误。这类错误可以是发现在应该接收试剂的孔内没有试剂。另一错误可以是发现在应该为空的孔中装有试剂溶液。若发现错误，则过程 1000 移向将错误报告回主系统以进一步处理的状态 1016。所述进一步处理可以是，例如将该孔标记为坏孔，因此当微孔板中其余的孔完成操作时，该孔不再接收反应溶液。此外，能够将整块微孔板标记为坏板，然后系统指示将新的微孔板装载在连续合成器上以进行要在坏的微孔板中发生的反应。可选择地或此外，还能够对系统的用户产生书面报告或屏幕显示报告，以告知用户发生了这样的错误。一旦在状态 1016 报告了错误，则过程 1000 在结束状态 1020 终止。

[0103]然而，若在判定状态 1012 未发生错误，则过程 1000 在状态 1024 处对微孔板抽空，然后在状态 1026 处拍摄另一图像，以确定每孔是否被适当地抽空。在状态 1028 处将对被抽空的多孔板拍摄的图像与数据库进行比较。

[0104]然后过程 1000 在判定状态 1030 确定是否发生任何错误，若确实发生错误，则该过程回到错误报告状态 1016。然而，若没有发生错误，则该过程移至判定状态 1032 以确定所述板内的合成反应是否已完成。若该合成反应已完成，则过程在结束状态 1020 终止。然而若所述板内的合成反应在判定状态 1032 仍未完成，则过程 1000 回到状态 1004，将另外的试剂分配至所述板内以便继续合成反应。

示例性的寡核苷酸合成实施方案

[0105]图 4 是说明合成寡核苷酸的示例性方法 400 的流程图。该方法开始于状态 410，在其中提供万用支座(universal support)，将其用作寡核苷酸的锚。在一实施方案中，万用支座是被配置为初始锚定任何核苷的万用可控孔度玻璃(CPG)衬底。一个这样的万用 CPG 得自

Proligo Reagents (Boulder, CO)。通常在底滤式微孔板的孔内，一旦提供了万用支座，过程 400 移向状态 412，其中使用乙腈(ACN)洗涤万用支座。然后在状态 414 对每孔抽空，以使得在除去洗液的同时万用支座仍留在所述孔内。然后在状态 418 处将含有三氯乙酸的解封溶液输送至每一孔中。

[0106]然后在判定状态 420 处确定正在合成的寡核苷酸中是否加入了 AmC6 修饰。若加入了 AmC6 修饰，则过程 400 对解封溶液孵育 180 秒。若没有 AmC6 修饰，则过程 400 对解封溶液孵育 45 秒。然后在状态 428 抽空解封溶液，过程 400 回到状态 418 通过加入解封溶液再进行 1 次循环。一旦过程 400 进行再次循环，在状态 430 进行另一 ACN 洗涤，然后在状态 432 处抽空，再重复进行 ACN 洗涤。

[0107]然后在判定状态 436 处确定寡核苷酸合成是否完成。若完成寡核苷酸的合成，则在状态 437 标明其完成并终止过程 400。然而，若寡核苷酸合成未完成，则在状态 438 处确定寡核苷酸是否包含通过亚磷酰胺(phosphoroamidite)型化学品或另一可选择的方法加入的对 5’末端的修饰。

[0108]若确定寡核苷酸在其 5’末端使用亚磷酰胺型化学品进行修饰，则过程 400 在状态 440 处加载任意核苷修饰，然后在状态 442 将这些核苷碱基输送至反应位点。例如，若修饰寡核苷酸以在 5’末端包含氨基基团，则能够加载并输送单甲氧基三苯甲基氨基己基亚磷酰胺(得自 Trilink, San Diego CA 的 MMT 5' C6 氨基连接剂，cat. # C-1001)。然后在判定状态 446 确定任何特定的修饰是否必要，其中若修饰是不必要的，则合成器对寡核苷酸孵育 60 秒钟；而若已输送了特定的修饰，则在状态 440 处基于引入的修饰类型对所述反应孵育适当的时间。

[0109]然后在状态 448 处对微孔板抽空并在状态 450 处输送氧化剂溶液。然后对寡核苷酸孵育 15 秒钟，并在状态 454 处对每孔抽空以除去氧化剂溶液。

[0110]在状态 456 处，过程 400 将封端溶液输送至每孔中，然后孵育约 15 秒钟。然后在状态 458 处抽空封端溶液，并且过程 400 回到状态 412，其中将乙腈洗液引入每孔中。

[0111]应当理解，若在判定状态 438 处确定 5'末端的修饰是通过不同于上文提出的亚磷酰胺方法的方法进行，则过程 400 移向实施另一方法的状态 460。另一方法完成后，在状态 437 处取出寡核苷酸。

[0112]当然，应当理解，合成过程 400 仅为使用连续合成器 10 合成寡核苷酸的一示例性方法。其它合成反应和条件也预计在本发明的范围内。本领域技术人员会理解，不同的反应溶液、反应时间或反应顺序能够适用于本发明，例如通过提供根据本文的教导相对于彼此移动的反应位点阵列和站点阵列间适合的空间和时间关系。

示例性的板组件

[0113]图 5A 说明了示例性的板组件系统 500，其包括配置为支持板座 510 的溢流盘(overflow tray) 505。如图所示，板座 510 被设计为支持微孔板 515，使得该微孔板能够易于装载和从合成器 10 上卸载。溢流盘 505 一般为矩形并包括前沿 512、后沿 514、左沿 516 和右沿 518。溢流盘 505 的中央表面 520 被配置为支持板座 510。在使用中，将溢流盘 505 安装在转盘 20 上并提供在合成器上装载和卸载板座 510 的方法。在一实施方案中，当转盘旋转时，放置或从板组件上取出板座。这允许合成器即使当正在装载板座以及正在从合成器上卸载板座时，仍能够连续合成。

[0114]正如可预想的，首先将底滤式微孔板固定在板座内。然后通过将板座放置在溢流盘内而将板座手动或自动地装载在合成器上。随后，被固定在转盘上的板组件在转盘旋转时绕合成器旋转。

[0115]如图所示，板座 510 设置于溢流盘 505 的中央表面 520。参照图 5B 来更完整地解释板座 510 的构造。如图所示，真空线 525 和氮气线 528 穿过后沿 514 进入溢流盘 505。真空线 525 在溢流盘 505 内部工作并与板组件的中央表面 520 中的真空界面 530 连通。当板座 510 被适当地放置在溢流盘 505 上时，真空界面 530 提供真空源以除去反应溶液，如洗液或含有从装在板座 510 内的底滤式微孔板所获得的溶液的试剂。

[0116]氮气线 528 与连接在溢流盘 505 的后沿 514 上的氮气刀 534

连通。如图所示，氮气刀 534 包括配置为输出通常为平片状氮气的纵向开口，该平片状氮气在板座 510 内的微孔板 515 上形成层。在一实施方案中，氮气起到将反应溶液从周围环境隔离的作用，并且还从最接近反应位点的区域除去任何蒸汽相物质。此外，当启动真空线 525 从微孔板 515 抽出液体时，可在微孔板上方提供氮气层。

[0117]在本发明的一实施方案中，在开启真空的同时，合成器输出氮气，因此在抽空过程中，将氮气拉入微孔板的每一孔中。这阻止了环境空气或诸如烟雾化试剂的污染物经过该孔的过滤底部并被迫与反应产物接触。因为氮气是惰性气体，因此其不太可能造成与反应产物的反应，所述反应产物例如在微孔板的每一孔内合成的聚合分子。当然，应当理解，本发明不限于仅使用氮气来覆盖微孔板。任何类型的气体，优选惰性气体，例如氩气或氦气，也在本发明的范围内。在另一实施方案中，与上述隔离装置相似的装置能够用于将活性气体输送至本发明系统中的反应位点。气体，无论是惰性还是活性，还可以通过一个或多个固定诸如分配站点或成像站点的站点提供，使得当对该板抽空时，它们优先于环境空气或污染物吸取该气体。例如，成像站点 38A-F 能够包括位于检测器的上窗口和下面的微孔板之间的高压间。能够用氮气吹扫该高压间，以使得气体沿基本上正交于微孔板的方向流动。氮气流能够提供的优点是除去来自窗口的水气和碎片以及置换有害蒸汽，有害蒸汽的置换使得当微孔板在成像站点被抽空时，减少这些蒸汽与反应产物的不必要接触。

[0118]现参照图 5B，板座 510 包括被配置为与板座 510 的下部件(lower portion)552 锁定的上框架 550。所述下部件 552 内是大小适于容纳微孔板 515 的凹口 556。因此，当框架 550 对所述下部件关闭时，微孔板 515 被适当地容纳在板座 510 内。一组锁 558A、B 可翻转地将框架 550 相对于所述下部件 552 锁定。如图所示，环形真空界面 560 位于凹口 556 中，并在板组件 505 内提供通向真空源的通孔。

[0119]现参照图 5C，通过板座 510 的下部件 552 的底部能够看到真空界面 560 的下部。此外，提供了三个一组的叠加引脚(stacking pins) 565A、B、C 以将板座 510 的下部件从溢流盘 505 的中央表面抬高。

此外提供了一组校正孔 568A、B，使得板组件 510 在溢流盘 505 的中央开口 520 内准确校正。

[0120]如图 5D 所示，一组校正插脚(pin) 570A、B 被标示在中央表面 520 中，其被配置为与板座 510 的校正孔 568A、B (图 5C)相匹配。此外，显示了从中央表面 520 突出的抽真空波纹管 575，其被配置为与溢流盘 505 的真空界面 560 可逆地相匹配。

[0121]如图 5E 所示，与溢流盘 505 匹配的板座 510 横截面图，抽真空波纹管 575 可逆地安装在真空界面 560 内，使得真空线 525 能够从微孔板 515 内抽空反应溶液。抽真空波纹管 575 优选为柔性聚合物材料，例如硅或橡胶，并且其被配置为提供与真空界面 560 迅速且有效的可逆密封。如图所示，抽真空波纹管 575 包括可压缩部件 580，当将板座 510 放置在所述波纹管 575 的顶部时，该可压缩部件适于压缩或展开。

[0122]应当理解，当将板座 510 放置在溢流盘 505 上时，波纹管 575 变为凹进板座的真空界面 560 内。所述波纹管的可压缩部件 580 允许板座的真空界面 560 下降至所述波纹管的顶部，然后使该可压缩部件 580 压缩并在板座 510 和溢流盘 505 之间产生真空紧密密封。

[0123]根据上文提出的实施方案，本发明的组件系统能够被配置为提供以下非限制性优点：(1)方便加入和取出第一反应位点，而不干扰第二反应位点发生的合成；(2)提供连续可用的溶液去除装置，例如阀削弱的真空源；和/或(3)提供连续可用的隔离装置，例如阀削弱的气刀。本领域技术人员应当理解，相似的组件系统能够用于容纳具有其它构造的反应位点的衬底，其包括例如具有不同于上文例示的微孔板的孔形状或孔数目的多孔板。此外，本发明的组件系统能够被配置为与本文其它地方所描述的那些其它反应位点衬底一起使用。在包括基于真空的溶液去除在内的实施方案中，基于过滤器的衬底尤其有用。

分配液体的示例性装置和方法

[0124]参照图 7，说明了向分配器 35A 提供反应溶液的示例性系统 700 的图。在分配器 35A 内有局部贮液器(local reservoir) 710，其容

纳要通过分配器 35A 分配的反应溶液。一套液面探测器 715 用于测量局部贮液器的液面并测定何时从储存箱(storage tank) 720 中用泵抽取更多的反应溶液。如图所示，储存箱 720 与用于向储存箱 720 加压的氦气源 722 连接。当液面探测器 715 显示局部贮液器 710 低于预定阀值时，能够例如在计算机控制下调节氦气压，以强制额外的反应溶液进入局部贮液器 710。

[0125]通过向局部贮液器提供反应溶液，所述系统能够提供更平稳和更可靠的分配，这是由于液体不必通过很长的线路行进到达每个阀。存在于任何这样的线路内的任何气泡或压力的其它小变化能够导致不期望的分配条件，尤其当待分配的体积极小时。特别地，水压连接的局部贮液器的使用能够提供的优点是消除当穿过与多个分配阀连接的歧管时通常发生的压力变化，例如由于在任意给定时间开着的阀的数目不同而出现的压力变化，以及由阀的打开和关闭造成的压力变化。使用例如水压连接的局部贮液器对这些影响的消除提供了单个分配嘴的交错喷射，其中在任意时刻能够启动任意数目的阀，如下文所述。

[0126]局部贮液器 710 与一系列电磁阀 720 流体连接，由控制系统 150 独立地控制所述电磁阀 720，以独立地控制从独立的分配嘴输送流体。当微孔板 730 的孔 725 在每一阀下正确对准时，控制系统 150 对所述阀 720 提供命令以从局部贮液器 710 分配反应溶液。

[0127]在具体的实施方案中，本发明系统能够被配置用于交错的分配器阀启动，使得由一组分配嘴产生交错的液体分配。当反应位点到达每一分配站点时，电磁阀能够控制试剂分配。每一试剂分配站点能够使用多个电磁阀，取决于所用电源的大小，该电磁阀能够一次一个喷射或成组喷射。若需要，能够限制每一试剂同时开启的阀的数目以限制电流需要量以及由此限制电源的大小。

[0128]若需要，分配站点能够被配置为从不同的分配嘴输送不同体积的流体。可选择地或此外，例如，如上所述，能够控制每一分配嘴以在不同的起始时间输送流体。通过在合成操作期间允许高水平控制试剂使用，分配不同体积流体的能力和在不同起始时间这样做的能

力提供了优于通常固定体积或容积式分配器的优点。

[0129]使用硬件抽象层(HAL)能够控制用于本发明的阀分配器，该硬件抽象层(HAL)使阀喷射并控制局部贮液器的填充和增压。例如，能够使用离散逻辑，通过复杂可编程逻辑器件(CPLD)执行有限状态机以进行局部贮液器填充以及产生控制所述阀的尖峰信号和保留信号。每一阀的每一尖峰电路和保留电路的离散逻辑通常是彼此分离并独立的。这允许同时、略微交错或选择性地使所有的阀喷射，以便在有限的时段内使一个或多个阀喷射，而使其它阀不喷射。使用硬件抽象层控制多个分配嘴所提供优于使用微处理器的优点，这是由于能够根据大量分配嘴的使用来调整 HAL 而无需如微处理器时那样增加成本和计算时间。然而，应当理解，若需要，微处理器可用于本发明中，例如，在要控制的分配嘴数目相对较少的情况下。

[0130]图 11 以电路图形式显示了用于控制本发明的分配站点中单个阀的 HAL 的示例性逻辑电路。该电路图对通过两种输出信号的控制进行举例说明，所述输出信号包括尖峰输出信号 915 和保留输出信号 914，尖峰输出信号提供瞬时以及持续相对短的离散时段激发的第一电压，保留输出信号提供在尖峰输出信号之后被激发并被维持较长的离散时段的第二电压。尖峰输出信号 915 是在足以打开所述阀的电压处，而保留输出信号是在足以维持所述阀处于打开状态的较低电压处。HAL 能够接收包括输入信号 901、902、903 和 904 在内的四种不同的输入信号。输入信号 901 被配置为接收来自 I/O 接口的逻辑“高”信号，并响应于射表所产生的信号以控制所述阀。按照通过 OR 门 905 和复用器 907 的其它输入信号的活动性来处理来自输入信号 901 的信号。通过从 OR 门 905 经 NAND 门 908，触发器 909、910 和 913，然后经 OR 门 912 回到 OR 门 908 的信号通路来控制输出信号的定时。选择时钟周期以控制尖峰输出信号和保留输出信号的持续时间。例如，在图 11 的 HAL 图中，尖峰输出信号 915 的持续时间为 1 毫秒，其对应于两个时钟周期。输入信号 902 被配置为允许阀的手动喷射，例如通过与分配器装置中全部阀连接的开关。输入信号 903 被配置为允许将信号传送到 HAL，以达到打开或关闭阀指示器 LED 以获得期望的

图案，例如向用户传达信息的目的。输入信号 904 接收来自时钟的信号。对于必要多的阀，诸如该图所示的电路能够被无限重复。

[0131]若对 HAL 出现同时使全部阀喷射的情况，则能够产生对相对大量能量的需求。在该情况下，能够局部储存足够的电流以获得全部阀的尖峰信号。本领域已知的任何电容器均能够用于储存该电流。电流的局部储存降低对用于分配器的电源电流的瞬时要求，因此提供了降低电源成本以及减少存放电源所需空间量的优点。因此，HAL 通常被配置为储存至少足以使全部阀同时喷射的能量。

[0132]图 8A 显示了当分配器 35A 随着微孔板 515 经由转盘 20 移动的同时向该微孔板输出溶液时，该分配器的一实施方案的图。如图所示，在分配器 35A 内是一系列线性阀排列 805、810、815、820、825、830 和 835。阀的每一线性排列流体连接于同一试剂溶液的贮液器，不同的贮液器向阀的每一线性排列输送溶液。例如所述阀列 805 与修饰的核苷连接。阀列 810 与腺苷溶液连接，列 815 与胞啶溶液连接，列 820 与鸟苷溶液连接并且列 825 与胸苷溶液连接。应当理解，所述核苷的糖部分通常为用于 DNA 合成的去氧核糖。然而，单体能够含有诸如用于合成 RNA 的核糖的其它部分或用于合成具有可选择的骨架，如核酸肽(PNA)的核酸的部分。取决于其在合成器中的位置，列 830 和 835 能够与例如 CAN 洗液、解封溶液或封端溶液连接。当然，应当理解，为适应具体的应用，用于本发明的阀-贮液器连接的数目和类型可以不同于上文所例示。例如，在不偏离本发明的精神下，每一分配器可仅具有一列阀，或任何其它数目的阀列。在一实施方案中，所述阀列是可移动的且可互换的，使得对特定的分配器能够配备任意数目的阀列以分配正确的溶液来合成聚合物。

等同范围

[0133]上文的书面描述被认为足以能使本领域技术人员实施本发明。上文的描述和实施例详述了本发明的某些优选实施方案并描述了发明人预期的最佳方式。然而，应当理解，无论前述在字面上看起来多么详细，本发明可以多种方式实施，并且本发明应当依据所附的权

利要求及其任意等同来解释。

[0134]本文中的术语“包含”意味着开放式范围，不仅包括所述的元素，而且还包含任何其它元素。

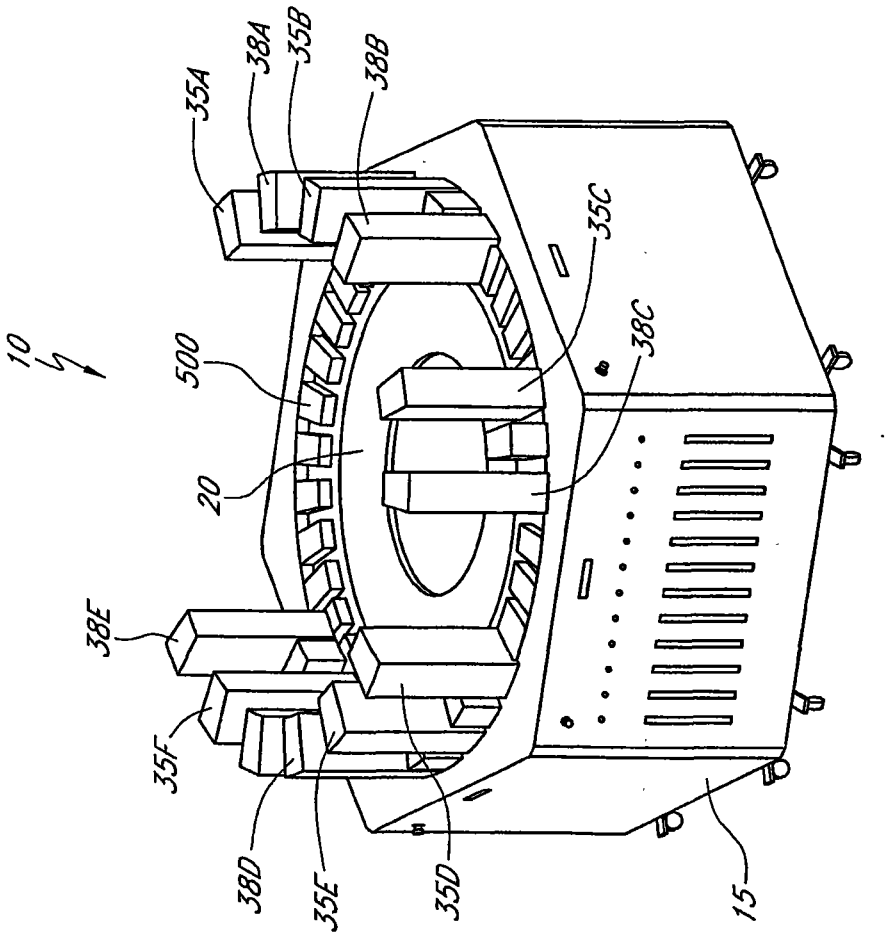


图 1

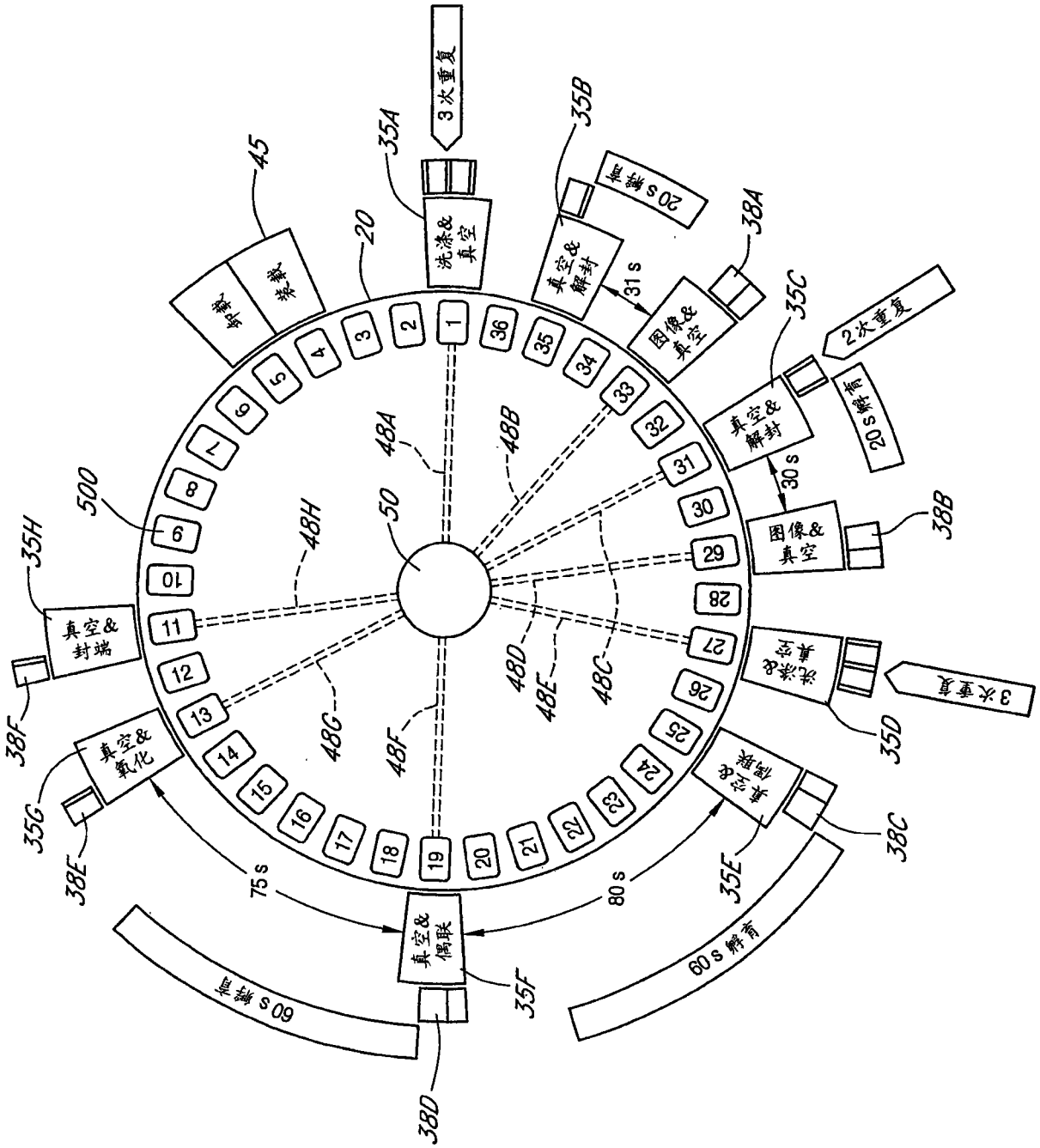

3次重复
35A
洗涤&真空
35B
20s等待
真空&解封
31 s
38A
图像&真空
35C
2次重复
20s解育
真空&解封
30 s
图像&真空
38B
洗涤&真空
3次重复
35D
真空&偶联
35E
38C
60s解育
75 s
80 s
真空&偶联
35F
60s解育
38D
真空&氧化
35G
38E
真空&封端
35H
38F
45
20
50
500
48A
48B
48C
48D
48E
48F
48G
48H

图 2

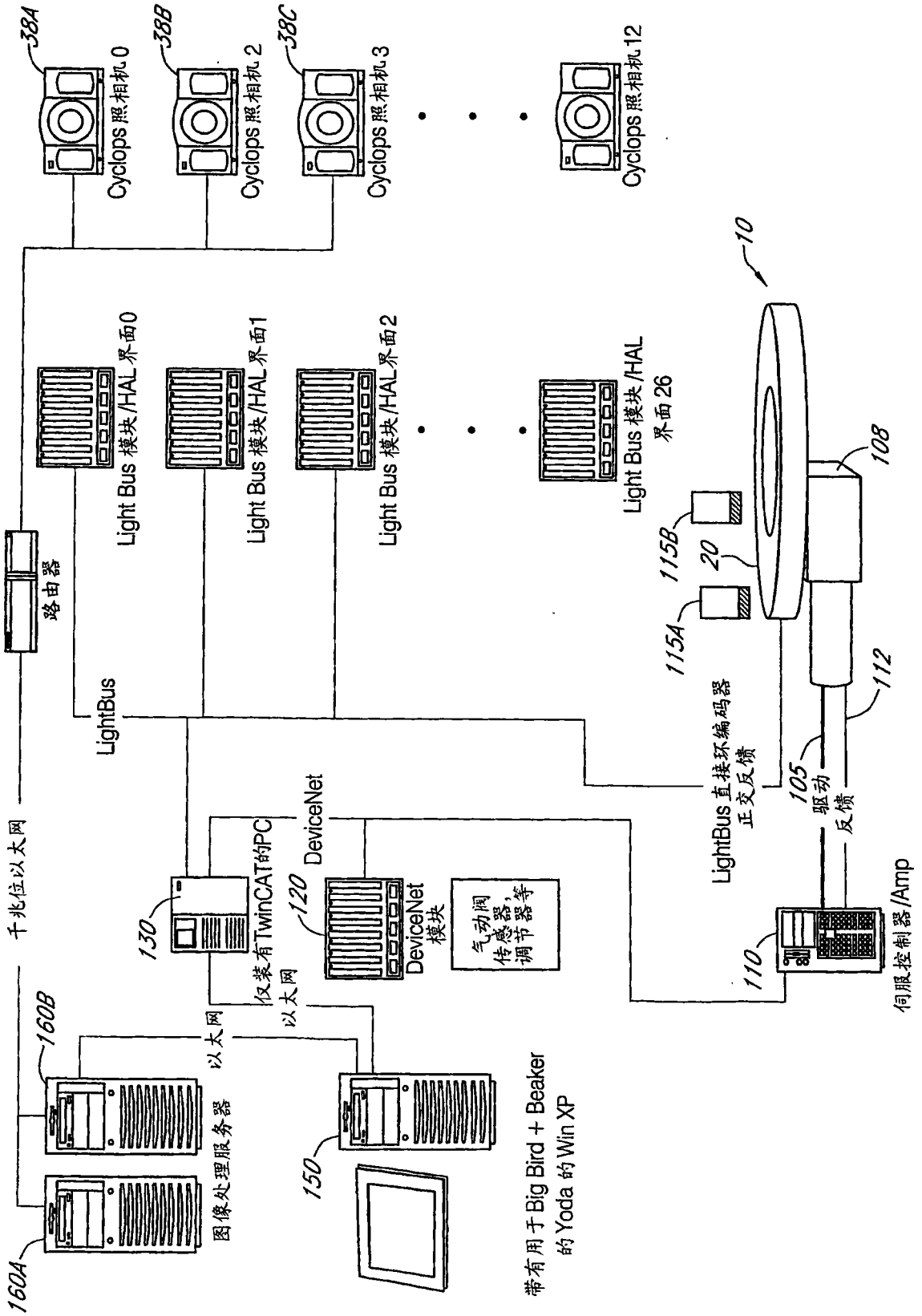

38A
Cyclops 照相机 0
38B
Cyclops 照相机 2
38C
Cyclops 照相机 3
Cyclops 照相机 12
Light Bus 模块/HAL 界面0
Light Bus 模块/HAL 界面1
Light Bus 模块/HAL 界面2
Light Bus 模块 /HAL 界面 26
路由器
千兆位以太网
LightBus
10
108
115B
20
115A
112
LightBus 直接环编码器 正交反馈
105
驱动
反馈
伺服控制器/Amp
110
130
仅装有TwinCAT的PC
以太网
120
DeviceNet
DeviceNet 模块
气动阀 传感器, 调节器等
160B
以太网
图像处理服务器
160A
150
带有用于 Big Bird + Beaker 的 Yoda 的 Win XP

图 3

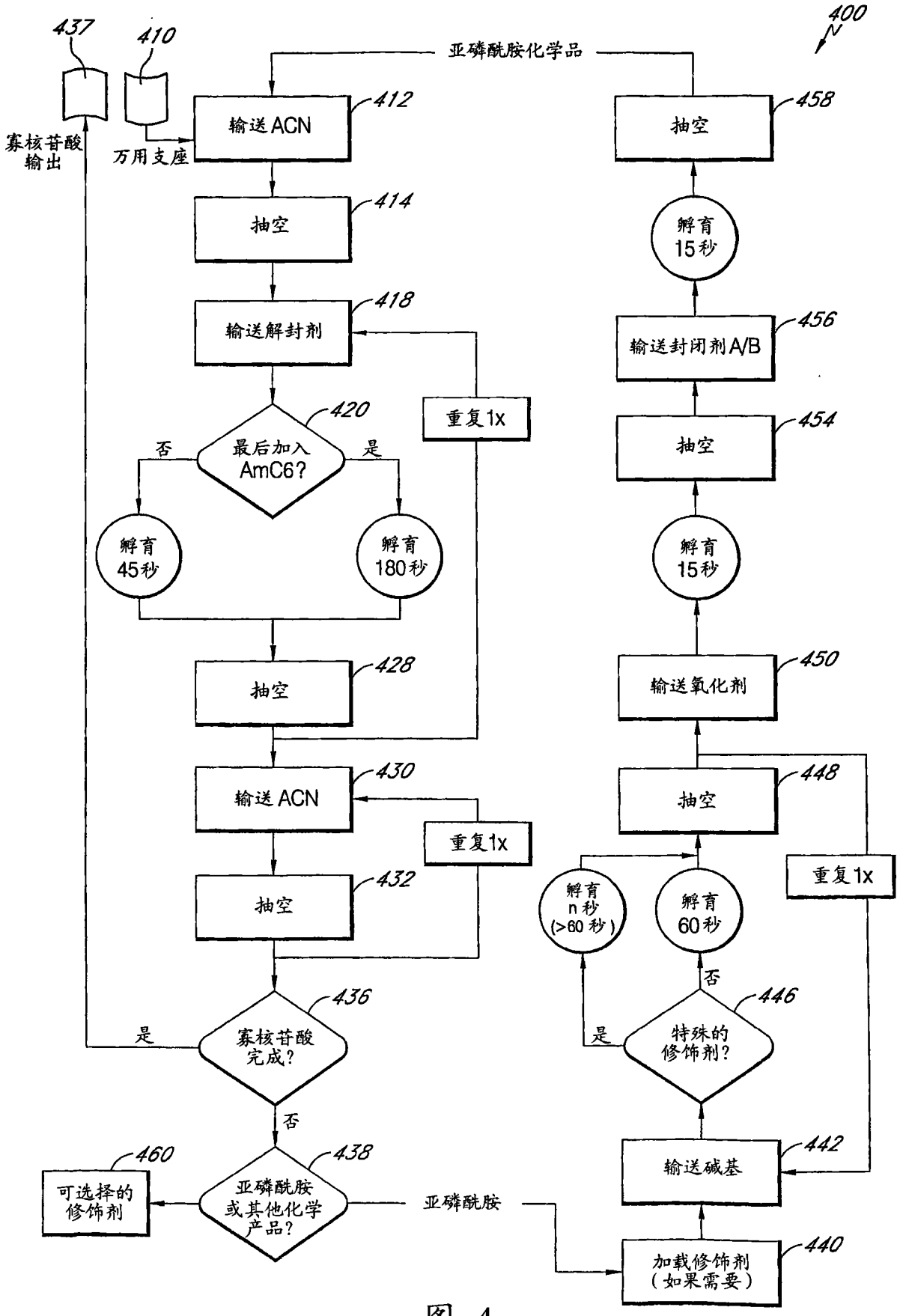

400
437
410
亚磷酰胺化学品
寡核苷酸输出
万用支座
412
输送ACN
458
抽空
414
抽空
孵育15秒
418
输送解封剂
456
输送封闭剂A/B
重复1x
420
最后加入AmC6?
否
是
454
抽空
孵育45秒
孵育180秒
孵育15秒
428
抽空
450
输送氧化剂
430
输送ACN
448
抽空
重复1x
重复1x
孵育n秒(>60秒)
孵育60秒
432
抽空
否
446
特殊的修饰剂?
436
寡核苷酸完成?
是
是
否
442
输送碱基
460
可选择的修饰剂
438
亚磷酰胺或其他化学产品?
亚磷酰胺
440
加载修饰剂(如果需要)

图 4

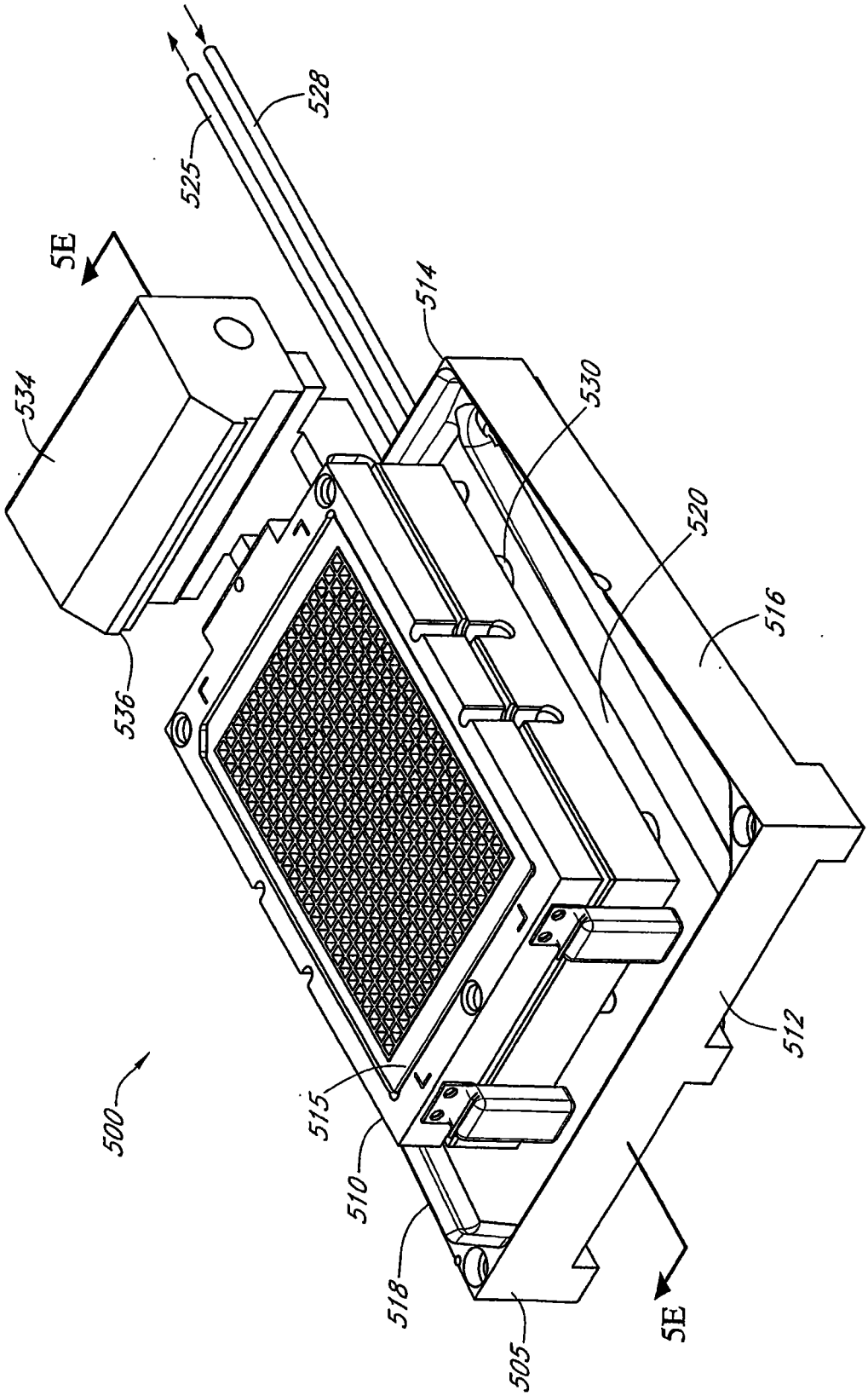


图 5A

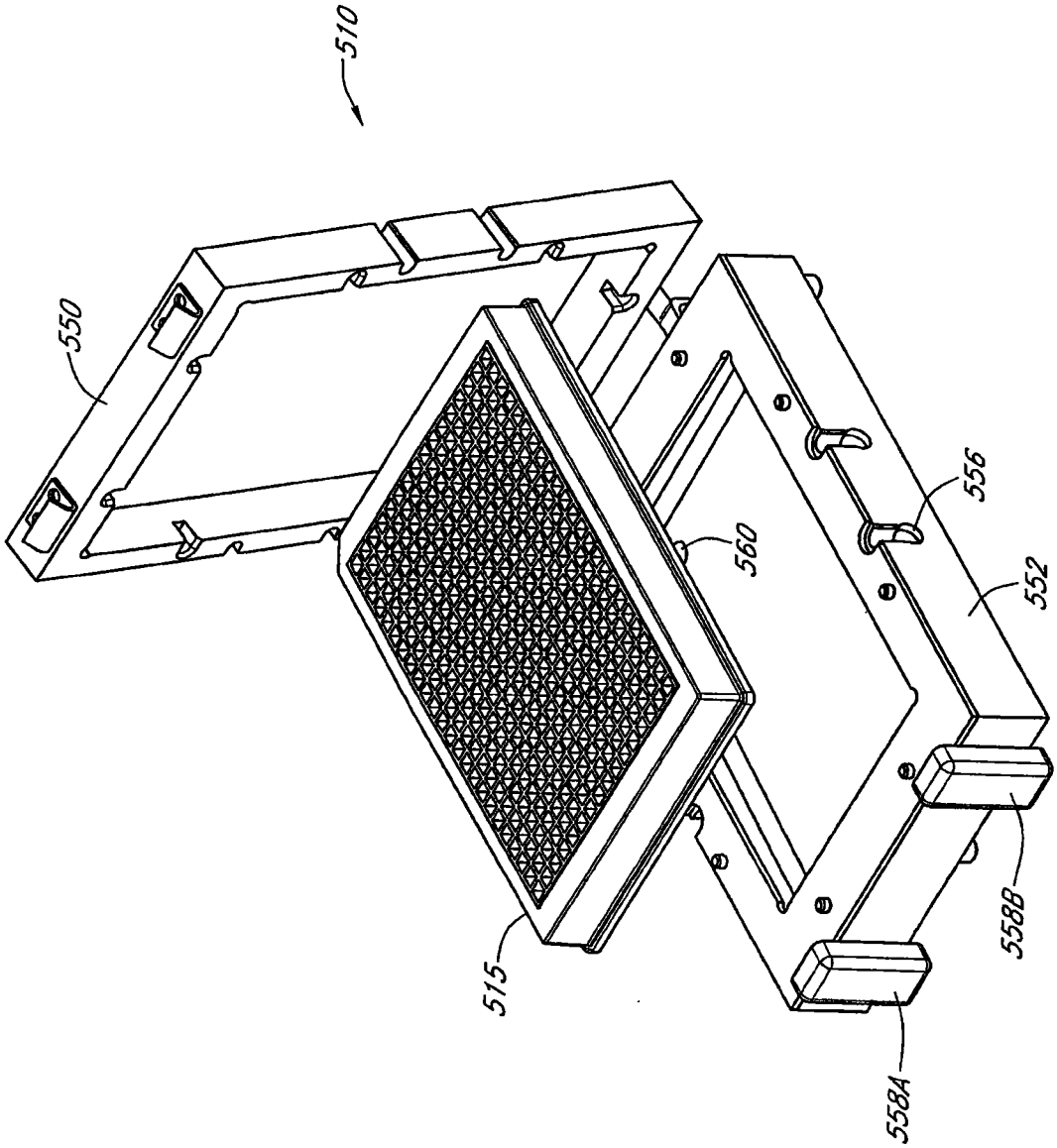


图 5B

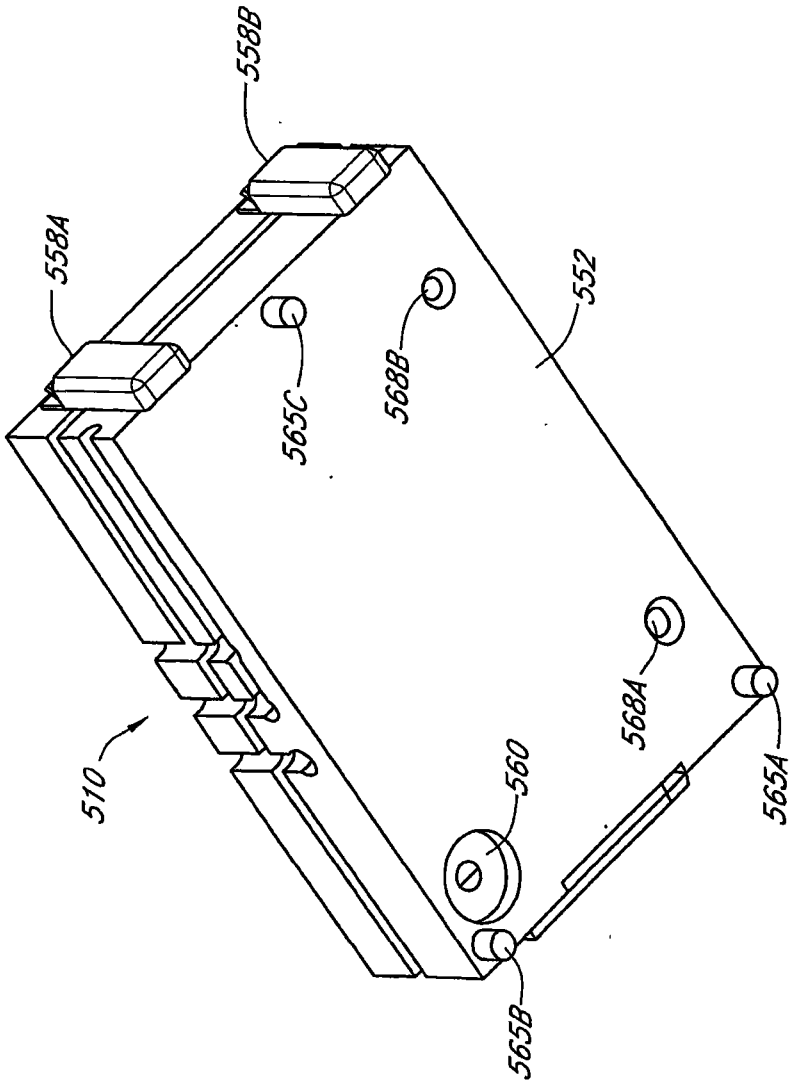


图 5C

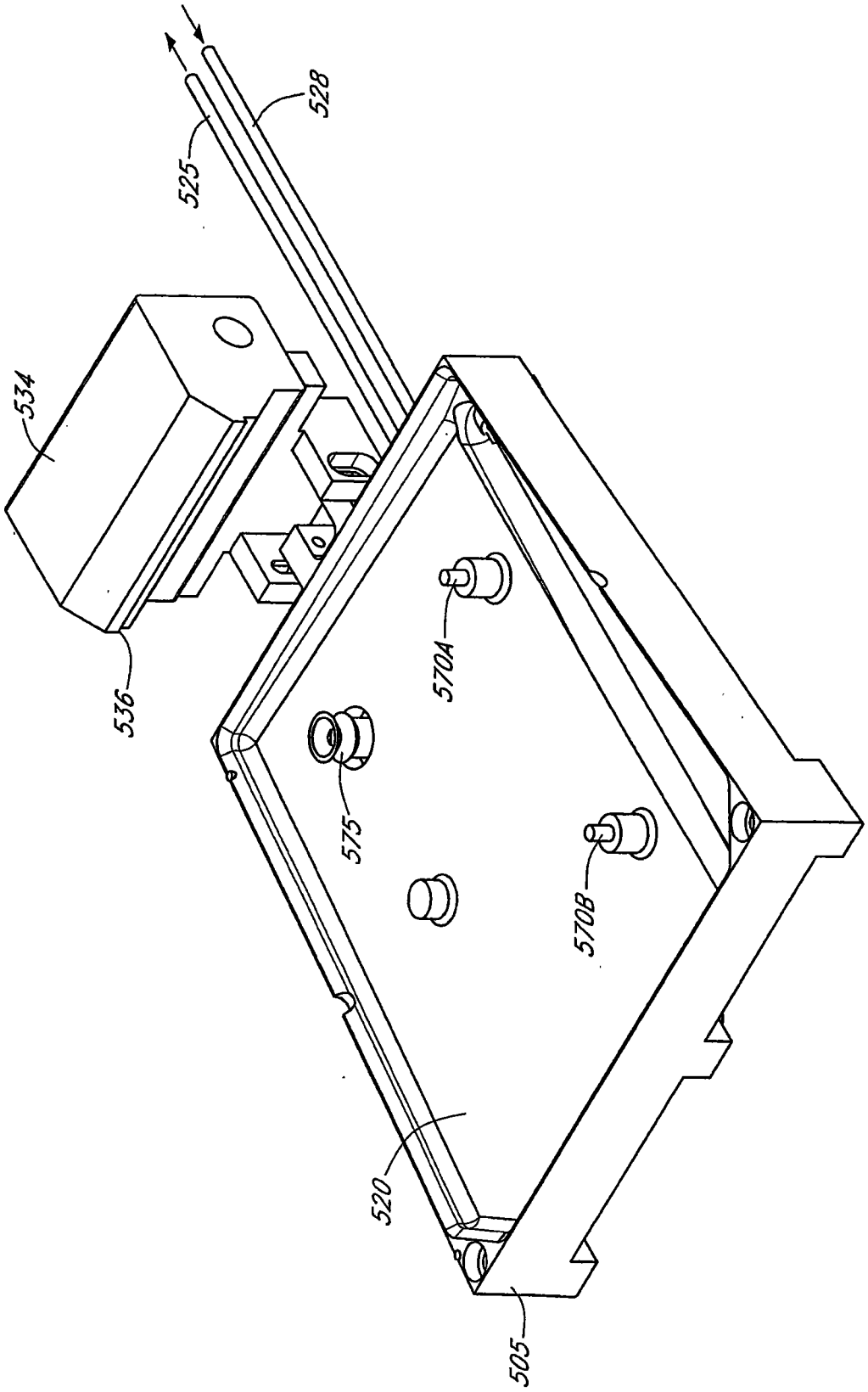


图 5D

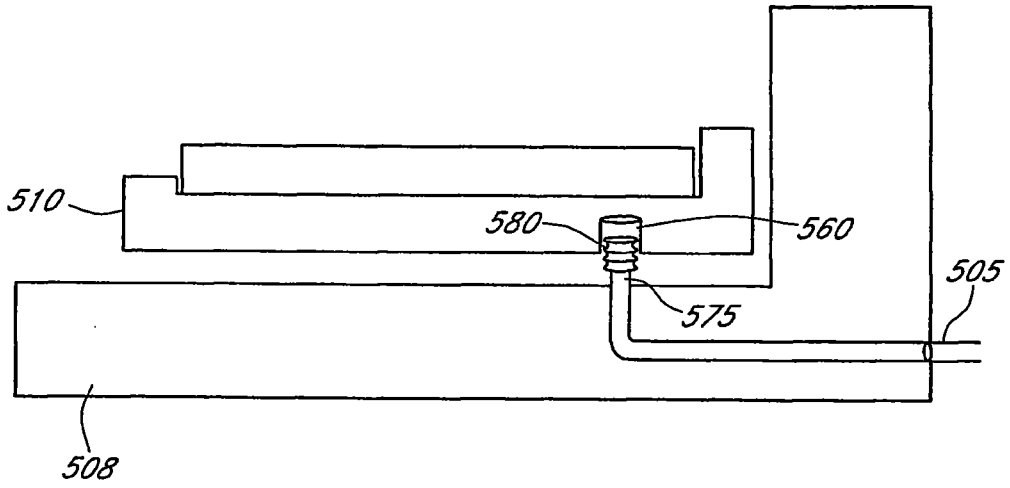

510
580
560
505
575
508

图 5E

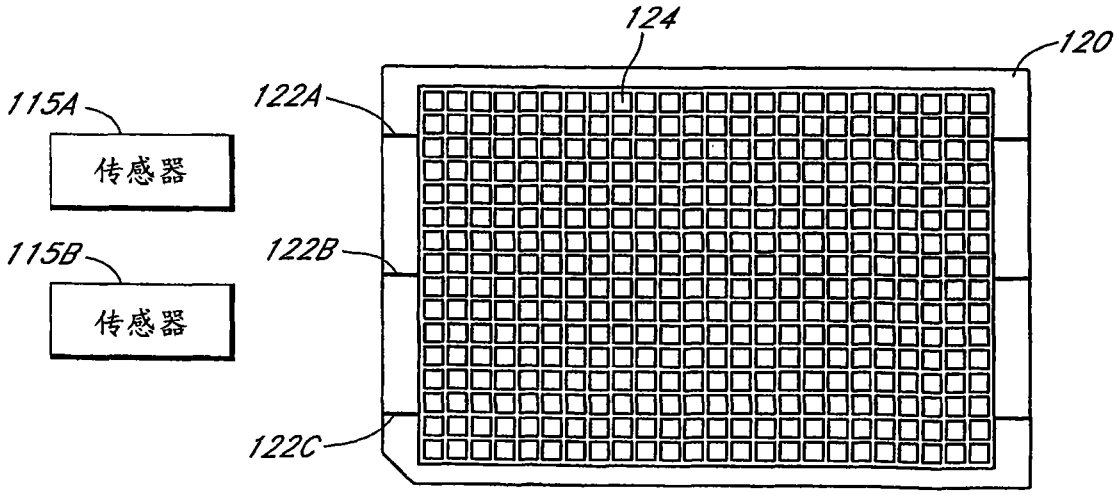

124
120
115A
传感器
122A
115B
传感器
122B
122C

图 6

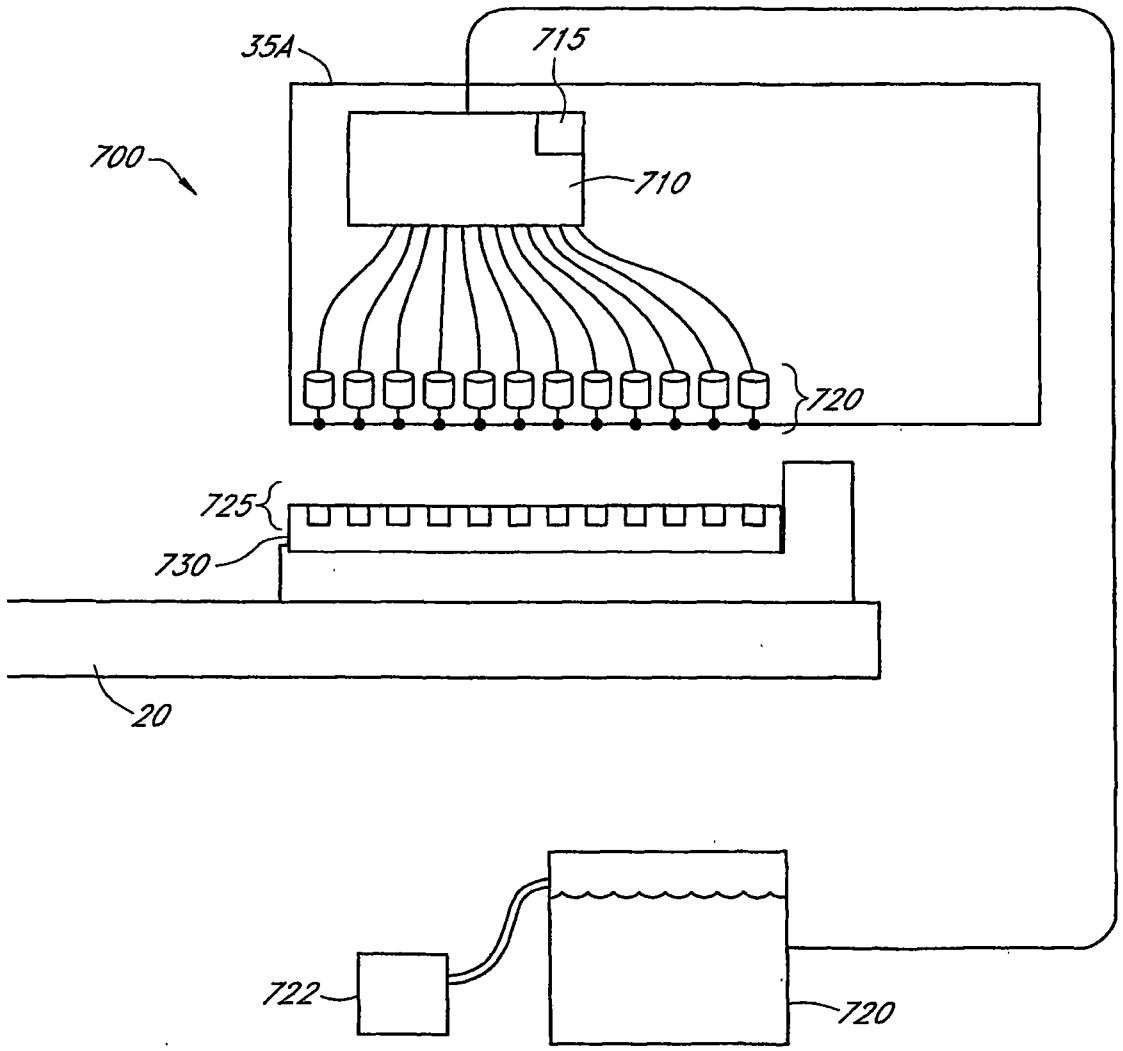


图 7

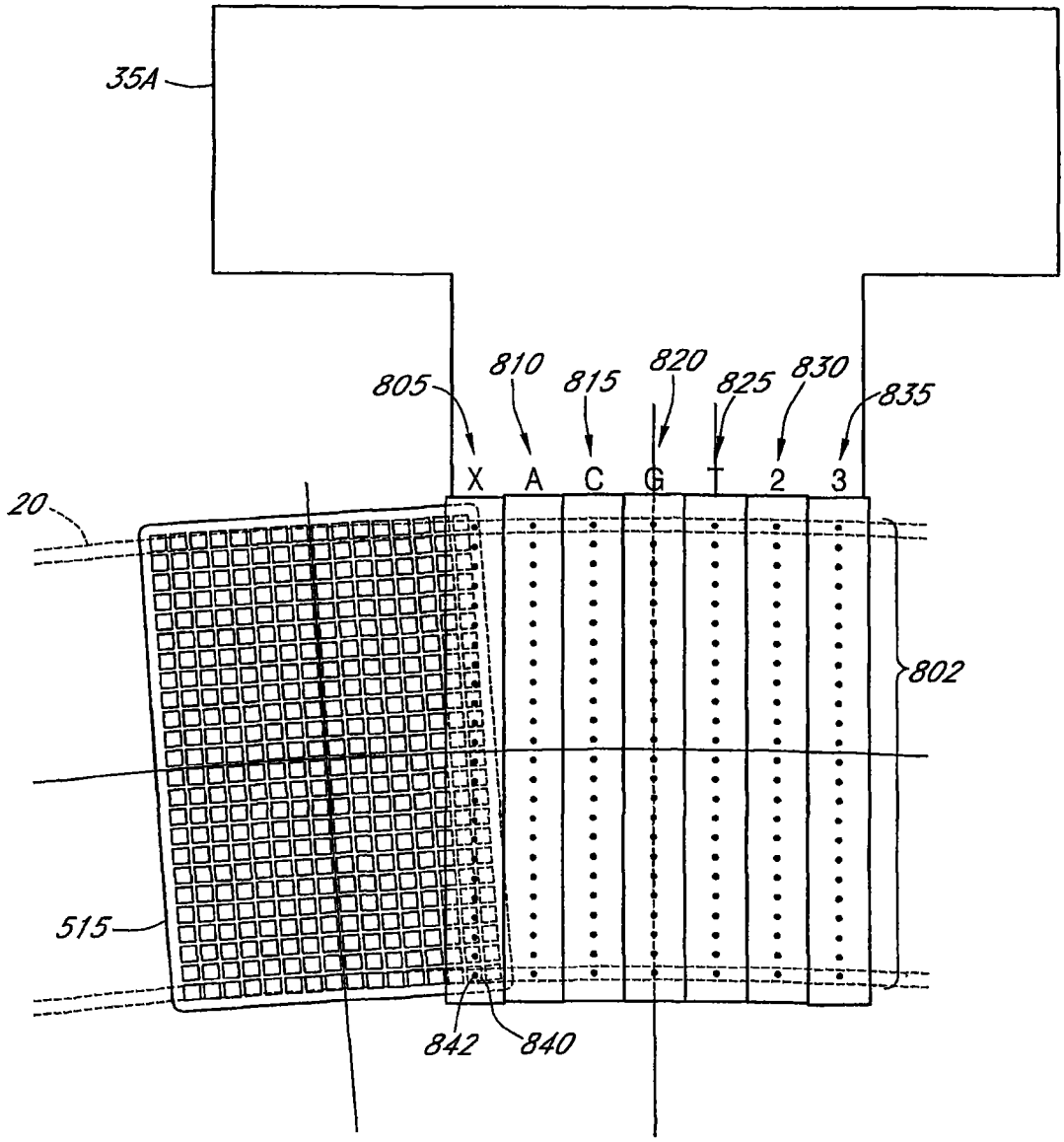


图 8

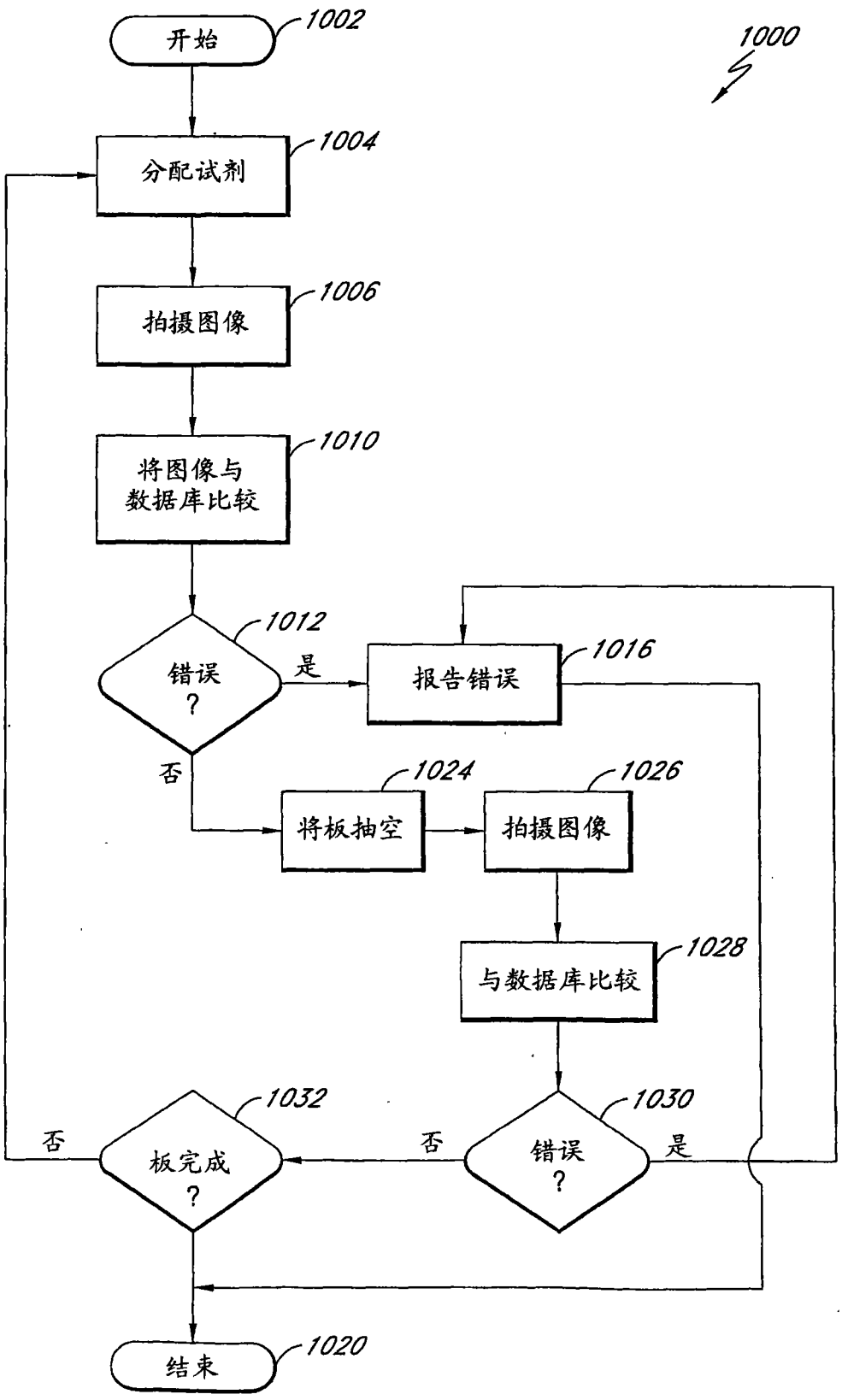

1000
开始
1002
分配试剂
1004
拍摄图像
1006
将图像与数据库比较
1010
错误？
1012
是
报告错误
1016
否
将板抽空
1024
拍摄图像
1026
与数据库比较
1028
错误？
1030
是
否
板完成？
1032
否
结束
1020

图 9

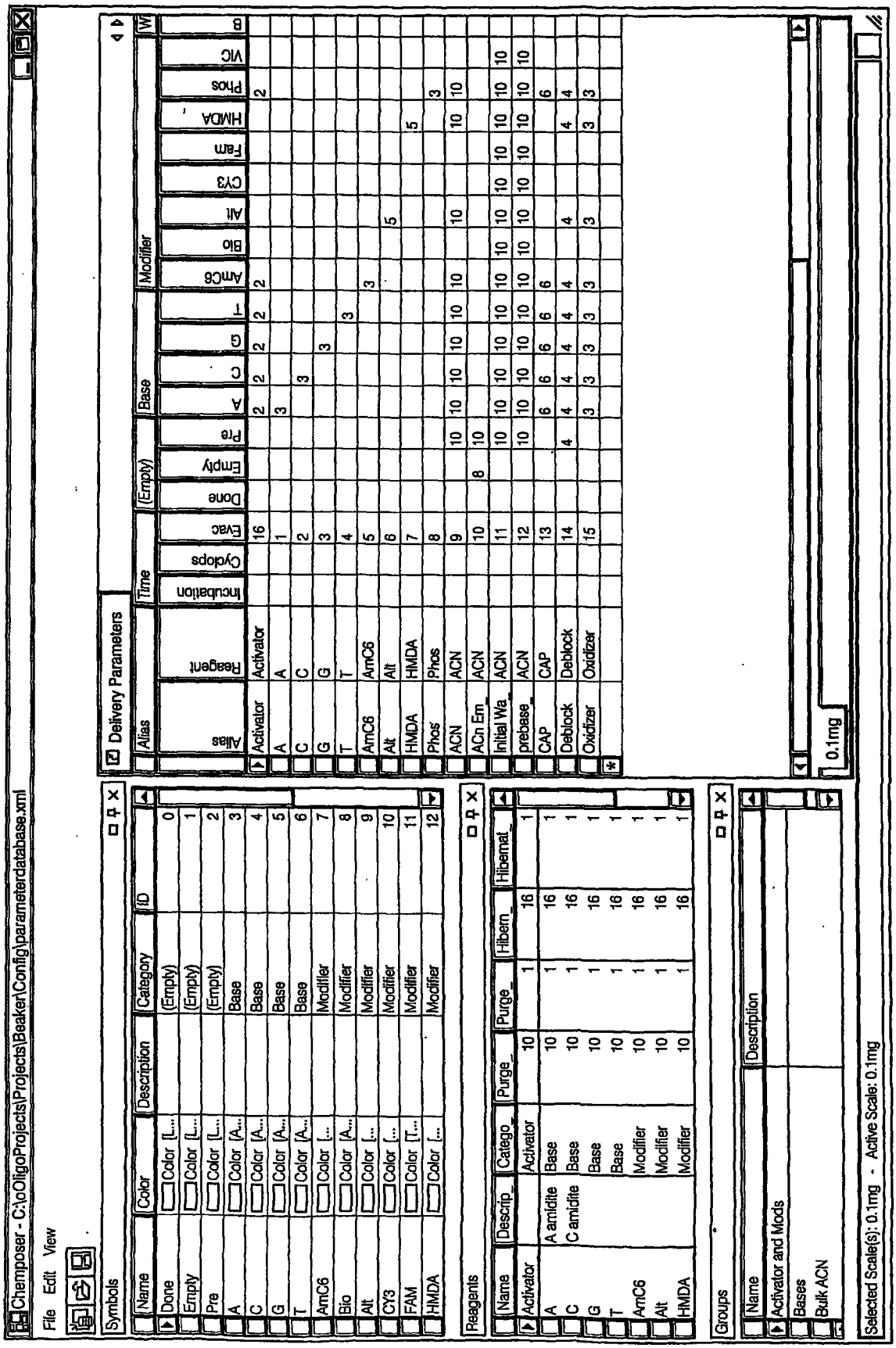

Chemposer - C:\oOligoProjects\Projects\Beaker\Config\parameterdatabase.xml
File Edit View
Symbols
Name Color Description Category ID
Done Color [L... (Empty) 0
Empty Color [L... (Empty) 1
Pre Color [L... (Empty) 2
A Color [A... Base 3
C Color [A... Base 4
G Color [A... Base 5
T Color [A... Base 6
AmC6 Color [... Modifier 7
Bio Color [A... Modifier 8
Alt Color [... Modifier 9
CY3 Color [... Modifier 10
FAM Color [T... Modifier 11
HMDA Color [... Modifier 12
Reagents
Name Descrip Catego Purge Purge Hiberm Hibernat
Activator Activator 10 1 16 1
A A amidite Base 10 1 16 1
C C amidite Base 10 1 16 1
G Base 10 1 16 1
T Base 10 1 16 1
AmC6 Modifier 10 1 16 1
Alt Modifier 10 1 16 1
HMDA Modifier 10 1 16 1
Groups
Name Description
Activator and Mods
Bases
Bulk ACN
Delivery Parameters
Alias Reagent Incubation Cyclops Evac Done Empty Pre A C G T AmC6 Bio Alt CY3 Fam HMDA Phos VIC B
Time (Empty) Base Modifier
Activator Activator 16 2 3 2 2 2 2 2
A A 1 3
C C 2 3
G G 3 3 3
T T 4 3
AmC6 AmC6 5 3
Alt Alt 6 5
HMDA HMDA 7 5
Phos Phos 8 3
ACN ACN 9 10 10 10 10 10 10 10
ACn Em ACN 10 8 10
Initial Wa ACN 11 10 10 10 10 10 10 10 10 10 10
prebase_ ACN 12 10 10 10 10 10 10 10 10 10 10
CAP CAP 13 6 6 6 6
Deblock Deblock 14 4 4 4 4 4 4 4 4
Oxidizer Oxidizer 15 3 3 3 3 3 3 3 3
0.1mg
Selected Scale(s): 0.1mg - Active Scale: 0.1mg

图 10

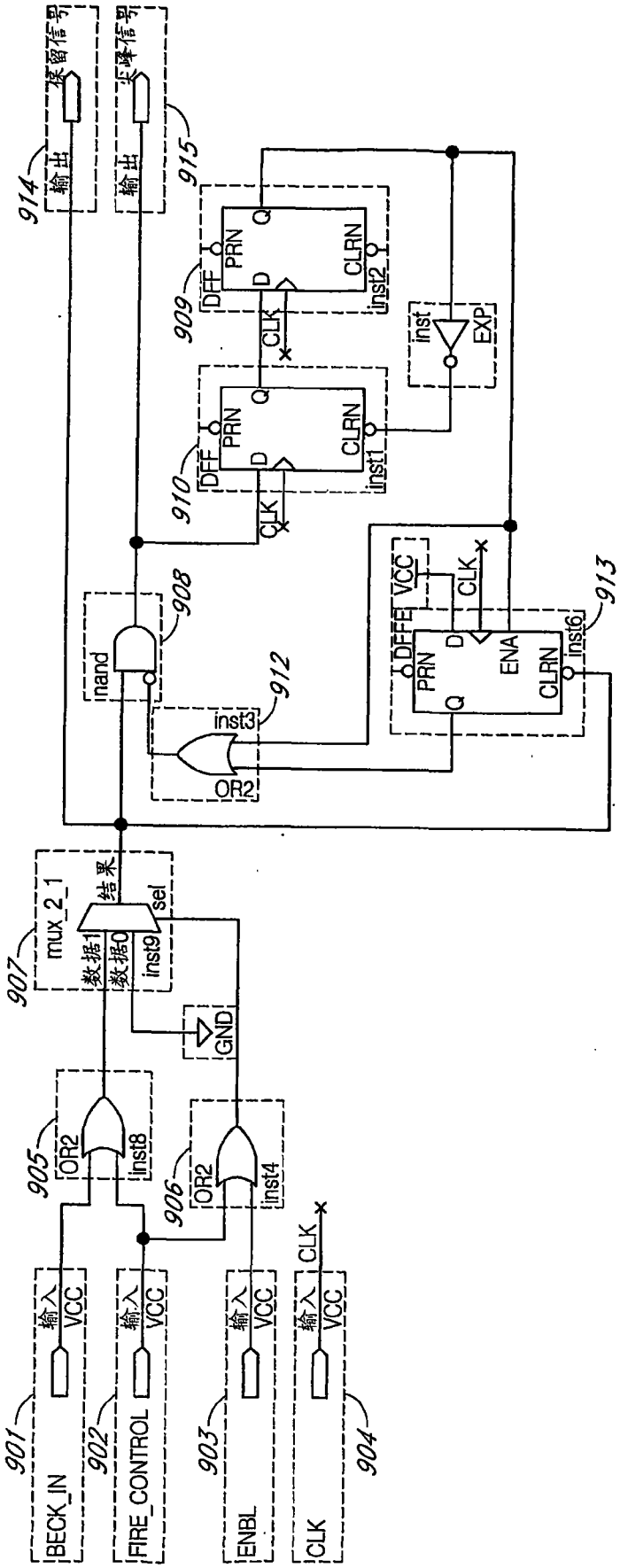

914
输出
915
输出
909
DFF
PRN
D
CLRN
inst2
CLK
Q
910
DFF
PRN
D
CLRN
inst1
CLK
Q
inst
EXP
908
nand
912
inst3
OR2
DFFE
VCC
CLK
PRN
D
ENA
CLRN
inst6
913
907
mux_2_1
结果
数据1
数据0
sel
inst9
GND
905
OR2
inst8
906
OR2
inst4
901
输入
VCC
BECK_IN
902
输入
VCC
FIRE_CONTROL
903
输入
VCC
ENBL
CLK
904
输入
VCC
CLK

图 11