

(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
2017 年 8 月 3 日(03.08.2017)



(10) 国際公開番号
WO 2017/130349 A1

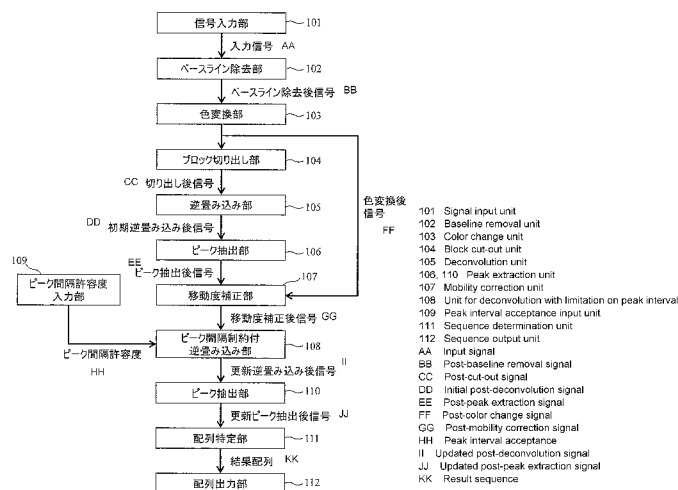
- (51) 国際特許分類:
C12M 1/00 (2006.01) *C12Q 1/68* (2006.01)
C12N 15/09 (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2016/052495
- (22) 国際出願日: 2016 年 1 月 28 日(28.01.2016)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (71) 出願人: 株式会社日立ハイテクノロジーズ(HITACHI HIGH-TECHNOLOGIES CORPORATION)
[JP/JP]; 〒1058717 東京都港区西新橋一丁目 2 4 番 1 4 号 Tokyo (JP).
- (72) 発明者: 川口 洋平(KAWAGUCHI Yohei); 〒1008280 東京都千代田区丸の内一丁目 6 番 6 号 株式会社日立製作所内 Tokyo (JP). 安田 知弘(YASUDA Tomohiro); 〒1008280 東京都千代田区丸の内一丁目 6 番 6 号 株式会社日立製作所内 Tokyo (JP). チャルキディス ジョージ(CHALKIDIS George); 〒1008280 東京都千代田区丸の内一丁目 6 番 6 号 株式会社日立製作所内 Tokyo (JP). 横井 崇秀(YOKOI Takahide); 〒1008280 東京都千代田区丸の内一丁目 6 番 6 号 株式会社日立製作所内 Tokyo (JP).

- (74) 代理人: 平木 祐輔, 外(HIRAKI Yusuke et al.); 〒1056232 東京都港区愛宕 2 丁目 5 番 1 号 愛宕グリーンヒルズMORIタワー 3 2 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, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, 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, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーロパ (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ユーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, 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).

[続葉有]

(54) Title: BASE SEQUENCER, CAPILLARY ARRAY ELECTROPHORESIS DEVICE, AND METHOD

(54) 発明の名称: 塩基配列決定装置、キャピラリアレイ電気泳動装置及び方法



(57) Abstract: This base sequencer comprises: (1) a mobility correction unit which outputs mobility correction signals obtained by mobility correction of a time-series signal of a wavelength spectrum corresponding to each base; (2) a deconvolution unit which executes processes of calculating a post-deconvolution signal of the mobility correction signal for a plurality of candidate parameters of point spread functions, calculating the dispersion of peak intervals of the calculated post-deconvolution signal, specifying a parameter of a point spread function using the calculated dispersion, and outputting a deconvolution signal corresponding to the point spread function having the specified parameter as an updated post-deconvolution signal; (3) a peak extraction unit which extracts a peak waveform from the updated post-deconvolution signal and outputs an updated post-peak extraction signal; and (4) a sequence determination unit which inputs the updated post-peak extraction signal and determines a base sequence.

(57) 要約:

[続葉有]

WO 2017/130349 A1



添付公開書類:

— 国際調査報告 (条約第 21 条(3))

塩基配列決定装置は、(1)各塩基に対応する波長スペクトルの時系列信号を移動度補正した移動度補正信号を出力する移動度補正部と、(2)点拡がり関数の複数のパラメータ候補について、前記移動度補正信号の逆畳み込み後信号をそれぞれ算出する処理と、算出された逆畳み込み後信号についてピーク間隔の分散を計算する処理と、計算された分散を用いて前記点拡がり関数のパラメータを特定する処理と、特定されたパラメータを有する前記点拡がり関数に対応する前記逆畳み込み後信号を更新逆畳み込み信号として出力する処理と、を実行する逆畳み込み部と、(3)前記更新逆畳み込み後信号からピーク波形を抽出し、更新ピーク抽出後信号を出力するピーク抽出部と、(4)前記更新ピーク抽出後信号を入力し、塩基配列を決定する配列特定部とを有する。

明 細 書

発明の名称：

塩基配列決定装置、キャピラリアレイ電気泳動装置及び方法

技術分野

[0001] 本発明は、塩基配列を自動的に決定する技術に関する。

背景技術

[0002] 核酸を構成する塩基配列を決定する装置は、一般に、DNA (deoxyribonucleic acid) シーケンサと呼ばれる。DNAシーケンサには様々な検出技術が存在するが、以下では、キャピラリ電気泳動型シーケンサについて説明する。キャピラリ電気泳動型シーケンサは、核酸試料を電気泳動させることにより塩基配列を決定する。キャピラリ電気泳動型シーケンサは、4種の塩基（A（アデニン）、G（グアニン）、C（シトシン）、T（チミン））に対応する色素から発せられる波長スペクトルを時系列の入力信号として観察し、塩基配列を決定する。このように時系列の入力信号から塩基配列を決定する処理を「ベースコール」と呼ぶ。

[0003] ベースコールでは、入力信号に色変換や移動度補正を施した信号の中から、各塩基に対応するピークを検出し、それらのピークの位置の順序に応じて配列を決定する。ただし、必ずしも急峻なピークが観測されとは限らず、ピーク同士が重なりを持つほどピークの幅が広がることがあり、重なった複数のピークが入力信号上は一つのピークとして観測されることがある。この場合、入力信号上の一つのピークを元の複数のピークに分解し、各ピークの正しい位置を決定しなければ解析が不正確となる。

[0004] このようなピークの重なりがあっても精度良く配列を決定する方法として、特許文献1に記載の方法がある。特許文献1の要約には、「（A）試料核酸を電気泳動分離して得られた4種類の塩基種別のピークを含む電気泳動データから基盤ピークを抽出する基盤ピーク抽出工程、（B）抽出された基盤ピークにより構成される時系列データにおいて、探索を開始する探索始点基

盤ピーク及びピーク間隔基準値を設定する条件設定工程、（C）前記時系列データにおいて、探索始点基盤ピークを始点として、隣接する基盤ピーク間を時系列の前方向及び後方向に順次走査し、基盤ピーク間の間隔を前記ピーク間隔基準値とを比較してピーク欠落区間に補間ピークを追加することにより塩基配列を決定する。」と記載されている。

先行技術文献

特許文献

[0005] 特許文献1：国際公開第2008/050426号

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0006] 前述の通り、特許文献1には、「基盤ピーク間の間隔を前記ピーク間隔基準値とを比較してピーク欠落区間に補間ピークを追加する」技術が記載されている。しかし、欠落区間にピークを追加する方法では、仮にピークを追加すべき区間を決定することができたとしても、どの塩基種別のピークを追加すべきかを決定することはできない。例えば図1のように、塩基種別Aと塩基種別Gの間で波形が時間的に重なっている場合を考える。塩基種別Aには微小なピークP1が存在するが、ノイズなど何らかの原因によりピークP1が検出できなかった場合、その時刻に、塩基種別Aと塩基種別GのいずれにピークP1を追加するかは明らかではない。

[0007] そこで、本発明は、ピークの分離度が低い場合でも高精度に塩基配列を決定できる技術を提供する。

課題を解決するための手段

[0008] 上記課題を解決するために、本発明は、例えば特許請求の範囲に記載の構成を採用する。本明細書は上記課題を解決する手段を複数含んでいるが、その一例には、「(1)各塩基に対応する波長スペクトルの時系列信号を移動度補正した移動度補正信号を出力する移動度補正部と、(2)点拡がり関数の複数のパラメータ候補について、前記移動度補正信号の逆畳み込み後信号をそれぞれ

れ算出する処理と、算出された逆畳み込み後信号についてピーク間隔の分散を計算する処理と、計算された分散を用いて前記点拡がり関数のパラメータを特定する処理と、特定されたパラメータを有する前記点拡がり関数に対応する前記逆畳み込み信号を更新逆畳み込み信号として出力する処理と、を実行する逆畳み込み部と、(3)前記更新逆畳み込み後信号からピーク波形を抽出し、更新ピーク抽出後信号を出力するピーク抽出部と、(4)前記更新ピーク抽出後信号を入力し、塩基配列を決定する配列特定部と、を有する塩基配列決定装置」がある。

発明の効果

[0009] 本発明によれば、ピークの分離度が低い場合でも高精度に塩基配列を決定することができる。前述した以外の課題、構成及び効果は、以下の実施の形態の説明により明らかにされる。

図面の簡単な説明

[0010] [図1]ピークの分離度が低い場合を説明する図。
[図2]実施例1に係るキャピラリ電気泳動装置の全体構成を示す図。
[図3]実施例1に係る蛍光検出装置の構成を説明する図。
[図4]信号処理部の機能構成を説明する図。
[図5]複数のブロックについて計算された標準偏差を用いた再計算機能（ブロック間再計算機能）を説明する図。
[図6]ユーザインタフェース画面の例を示す図。
[図7]ピーク間隔制約付逆畳み込み部の処理動作を説明するフローチャート。
[図8]キャピラリ電気泳動装置の他の構成例を示す図。

発明を実施するための形態

[0011] 以下、図面に基づいて、本発明の実施の形態を説明する。なお、本発明の実施の態様は、後述する形態例に限定されるものではなく、その技術思想の範囲において、種々の変形が可能である。

[0012] (1) 実施例1
(1-1) 全体構成

図2に、キャピラリアレイ電気泳動装置10の構成例を示す。キャピラリアレイ電気泳動装置10は、測定対象物であるDNAに蛍光標識を付加したサンプル（以下「サンプル」という。）が入った複数のサンプル容器11（各サンプル容器11には、異なるサンプルが入っている）収容するサンプルトレイ12と、サンプルトレイ12を搬送する搬送器20と、サンプル容器11内のサンプルの電気泳動路となるキャピラリアレイ30と、キャピラリアレイ30内に電気泳動媒体41を注入するポンプユニット42と、キャピラリアレイ30の両端に高電圧を印加する高圧電源21と、キャピラリアレイ30内を一定の温度に保つ恒温槽31と、サンプルが電気泳動する経路上に設けられる検出位置32と、蛍光検出装置50と、制御基板51とを有する。

[0013] キャピラリアレイ30は、複数のキャピラリ33の集合体である。個々のキャピラリ33は中空である。本実施例の場合、キャピラリ33の長さは30cm以下とする。もっとも、キャピラリ33の長さは30cm以上（例えば36cm以上）であってもよい。また、個々のキャピラリ33の一端は、サンプル容器11内のサンプルに挿入されている。サンプルは、サンプル容器11からキャピラリ33内へと移動し、その後、キャピラリ内を電気泳動する。ポンプユニット42は、個々のキャピラリ33内に電気泳動媒体41（例えばポリマー）を注入する。これにより、個々のキャピラリ33内は、電気泳動媒体41が充填される。

[0014] 高圧電源21は、電気泳動媒体41が充填された個々のキャピラリ33の両端に高電圧（例えば最大電圧が20kV）を印加する。高電圧の印加により、各サンプルは、各キャピラリ33内を通過して、サンプル容器11から検出位置32へ電気泳動する。検出位置32を通過した各サンプルは、排出位置34に向けて電気泳動する。サンプルは、その塩基長に応じて泳動速度が異なるため、塩基長の短いDNAから順番に検出位置32に到達する。

[0015] 蛍光検出装置50は、検出位置32に到達したサンプルから順番に励起光を照射し、蛍光標識が発する蛍光信号強度と波長を検出する。本実施例にお

ける蛍光検出装置 50 は、検出した蛍光信号の波長に基づき、DNA の塩基配列を決定し、制御基板 51 に出力する。また、蛍光検出装置 50 は、決定された塩基配列その他の情報を表示装置 52 の画面上に表示する。制御基板 51 は、蛍光検出装置 50 が解析した蛍光信号の塩基配列を外部端末（不図示）に転送する。ここでの外部端末は、解析結果の確認のため、表示装置を有することが望ましい。

[0016] 図 3 に、蛍光検出装置 50 の内部構成例を示す。蛍光検出装置 50 は、励起光源 61 と、シャッタ 62 と、励起光レンズ 63 と、光学フィルタ 66 と、蛍光レンズ 67 と、回析格子 68 と、CCD (Charge Coupled Device) 69 と、CCD 制御部 70 と、ADC (Analog to digital converter) 71 と、信号処理部 72 と、メモリ 73 とを有する。

[0017] 励起光源 61 は、継続して励起光 64 を照射する光源である。検出位置 32 に対応する全てのキャピラリ 33 は、励起光 64 によって照射される。シャッタ 62 は、所定間隔ごとに開閉を繰り返す。シャッタ 62 は、励起光源 61 から照射される励起光 64 を開放時に透過し、閉鎖時に遮断する。励起光レンズ 63 は、シャッタ 62 を透過する励起光 64 を集光する。励起光レンズ 63 によって集光された励起光 64 は検出位置 32 に向けて照射される。電気泳動により、個々のキャピラリ 33 の検出位置 32 を通過する DNA に付加されている蛍光標識は、励起光 64 が照射されることで励起され、蛍光信号 65 を発する。

[0018] 光学フィルタ 66（例えばカラーフィルタ）は、蛍光標識から発せられる蛍光信号 65 以外の光をカットする。蛍光レンズ 67 は、光学フィルタ 66 を通過する蛍光信号 65 を集光する。蛍光レンズ 67 により集光された蛍光信号 65 は、回析格子 68 にて波長ごとに分光され、受光素子（受光部）である CCD 69 の受光面へ照射される。波長ごとに分光された蛍光信号 65 が照射されると、CCD 69 の受光面には、信号電荷が発生する。CCD 69 の変換回路は、信号電荷を電圧（アナログ）に変換して ADC 71 に出力する。CCD 69 は、フレームトランスファ型、フルフレームトランスフ

ァー型、インターライントランスファァー型、フレイムインタートランスファァー型のいずれでもよい。

[0019] ADC 7 1 は、CCD 6 9 から出力されたアナログ信号をデジタル信号に変換する。ADC 7 1 は、変換後のデジタル信号を信号処理部 7 2 に出力する。信号処理部 7 2 は、出力されたデジタル信号から蛍光信号強度（疑似的に 1 画素として結合された受光面の蛍光信号強度が該当する）を取得する。本実施例の信号処理部 7 2 は、デジタル信号から得られる蛍光信号の波長に基づいて DNA の塩基配列を決定する信号処理を実行する。なお、信号処理部 7 2 は、出力されたデジタル信号から得られる蛍光信号強度と波長をメモリ 7 3 に記憶する。

[0020] (1 - 2) 信号処理部 7 2 の機能構成

図 4 に、信号処理部 7 2 の機能構成を示す。本実施例の場合、信号処理部 7 2 の機能は、コンピュータによるプログラムの実行を通じて実現される。信号入力部 1 0 1 は、ADC 7 1 からデジタル信号である入力信号を受け取る。前述したように、入力信号は、各塩基種別 A（アデニン）、G（グアニン）、C（シトシン）、T（チミン）の 4 種の各塩基に対応する色素から発せられる波長スペクトルの時系列である。各時刻の波長スペクトルは、各波長を離散化した実数値の配列であり、その配列長 N はたとえば 10 や 20 など 4 以上の整数である。そのため、入力信号は N チャンネル実数値信号である。

[0021] ベースライン除去部 1 0 2 は、ベースライン除去処理を実行し、入力信号（N チャンネル実数値信号）からベースライン除去後信号を得る。ベースライン除去処理は、各時刻の近傍区間の最小値を差し引くなどの公知の方法を用いればよい。色変換部 1 0 3 は、色変換処理を実行し、ベースライン除去後信号（N チャンネル実数値信号）から、各チャンネルが 4 種の各塩基に対応する 4 チャンネル信号である色変換後信号を計算する。色変換処理には、予めキャリブレーションされた色変換行列の擬似逆行列の乗算など、公知の方法を用いればよい。

[0022] ブロック切り出し部 1 0 4 は、強度が十分小さい時刻を境界として、色変

換後信号の各チャンネルの信号を小区間（以下「ブロック」ともいう。）に分割するブロック切り出し処理を実行し、各ブロックに対応する信号を切り出し後信号として出力する。図5に、ブロックの切り出し例を示す。図5に示すように、一つの切り出し信号は、一塊の波形から構成される。ブロックに分割することで、後段の逆畳み込み処理やピーク間隔制約付き逆畳み込み処理などの計算量を削減することができる。これにより、処理時間の短縮及び消費メモリの削減を実現できる。

[0023] 逆畳み込み部105は、切り出し後信号に対し、逆畳み込み（デコンボリューション）処理を実行し、初期逆畳み込み後信号を計算する。一般に、逆畳み込み処理は、点拡がり関数（PSF）が既知の場合と未知の場合とで困難さが異なる。PSFが既知の場合、逆畳み込み処理は、入力信号（切り出し後信号）とPSFを用いて逆畳み込み後信号を計算する処理である。この場合、ウィーナーフィルタを用いた方法などにより、比較的高精度に逆畳み込みが可能である。

[0024] ところで、キャピラリ電気泳動装置10では、PSFが変動することがある。従って、逆畳み込み部105は、PSFが未知の条件下で逆畳み込みを行う必要がある。この処理は、入力信号を用いて、PSFと逆畳み込み後信号の両方を計算する処理であり、「ブラインドデコンボリューション」と呼ばれる。例えば、Nonnegative Matrix Factorization (NMF) に基づいて、このような同時最適化を伴う逆畳み込みが実行可能である。しかし、一般に、PSFと逆畳み込み後信号の組の候補は無数に存在し、その局所解も無数に存在する。このため、高精度な解を得ることは一般的には困難である。NMFでは、L1正則化やL1/L2正則化などのスパース正則化のように局所解を避けて大局解を得る方策も存在するが、キャピラリ電気泳動装置10で使用しても十分な精度を得ることは困難である。

[0025] そこで、本実施例の逆畳み込み部105では、以下に説明する手法により解の候補を削減し、局所解を避ける。まず、逆畳み込み部105は、PSFをガウス関数に限定し、その未知パラメータを標準偏差 σ のみに限定する。この

ようにPSFの未知パラメータを限定することで、局所解を避けることができる。逆畳み込み部105は、離散化した有限個の標準偏差 σ ごとに、対応するガウス関数をPSFとして逆畳み込み処理を実行し、標準偏差 σ ごとの逆畳み込み後信号を得る。

[0026] 次に、逆畳み込み部105は、解の候補を、以下に示す(1)、(2)及び(3)の条件を満たすような標準偏差 σ と逆畳み込み後信号の組のみに絞る。

(1) 以下で計算される $e(\sigma)$ がある閾値以下であること

まず、逆畳み込み部105は、標準偏差 σ に対応するガウス関数とそれを用いた逆畳み込み信号とを用いて畳み込み処理を実行し、畳み込み後信号を計算する。次に、逆畳み込み部105は、標準偏差 σ ごとに畳み込み後信号と入力信号との誤差 $e(\sigma)$ を、平均二乗誤差やカルバック・ライブラーダイバージェンスに基づいて計算する。次に、誤差 $e(\sigma)$ が、ある閾値以下である標準偏差 σ のみを選択する。この条件により、畳み込み生成モデルに従う解のみをパラメータ候補に絞ることができる。

(2) 逆畳み込み後信号から抽出される各ピークの間隔について、ブロック内でのピーク間隔の最小値が、ある閾値以上であること

この条件に従って、ピーク間隔が短すぎる解の候補を除外すると、局所解を避けることができる。

(3) σ が、 $e(\sigma)$ の変曲点 σ_r の近傍であること

逆畳み込み部105は、例えば誤差 $e(\sigma)$ の σ に関する2次微分値 $e''(\sigma)$ の正のピークを変曲点として検出し、そのピークの位置を変曲点 σ_r に代入する。この条件により、ピークの個数が本来よりも多すぎるような解を除外することができる。これは以下の理由による。ピークの個数が本来よりも多すぎるような解に対応する $e(\sigma)$ は、本来の解に対応する $e(\sigma)$ と同程度に小さい値となる。また、ピークの個数が本来よりも小さい解に対応する $e(\sigma)$ は、本来の解に対応する $e(\sigma)$ より大きい値となる。そこで、 $e(\sigma)$ が急峻に変化する σ 、すなわち変曲点 σ_r に対応する解が本来の解に近いといえる。

[0027] 以上の処理の実行により、逆畳み込み部105は、ブロック毎に標準偏差

σ と逆畳み込み後信号を算出する。ここでは、図5に示すように、 i 番目のブロックの標準偏差を σ_i とする。標準偏差 σ は、短時間では大きく変動しないと仮定することができる。逆畳み込み部105には、この仮定の下、逆畳み込みの精度を更に高める機能（ブロック間再計算機能）も搭載されている。

[0028] この機能の実行時、逆畳み込み部105は、あるブロックの標準偏差 σ と、その前後に出現するブロックにおける標準偏差の平均値との差分が閾値 T を超えているか否かを判定する。

$$\left| \sigma_i - \text{median}\{\sigma_j\}_{j=i-K}^{j=i+K} \right| > T \quad \cdots \text{式1}$$

[0029] 式1が成立する場合、逆畳み込み部105は、式2で与えられる値を標準偏差とするPSFで再度逆畳み込みを実行し、新たな逆畳み込み後信号を算出する。ただし、 K は、ある自然数（1、2、3…）の定数である。

$$\text{median}\{\sigma_j\}_{j=i-K}^{j=i+K} \quad \cdots \text{式2}$$

[0030] 例えば図5の場合、 i 番目のブロックの標準偏差 σ_i は“1.2”であり、その前後のブロックの標準偏差の平均値“3.15”とは大きく異なっているため、逆畳み込み部105は、 i 番目のブロックについて逆畳み込み後信号を再計算する。なお、この複数ブロックを考慮した再計算機能は逆畳み込み部105が自動的に実行する仕組みとしてもよいし、後述するように作業者がユーザインタフェース画面上で機能の実行又は非実行を指定入力できるようにしてもよい。なお、図5に示す画面はインターフェース画面として作業者に提示されるようにしてもよい。

[0031] 図4の説明に戻る。ピーク抽出部106は、ピーク抽出処理を実行し、初期逆畳み込み後信号からピーク抽出後信号を得る。ピーク抽出処理には、一次微分の零交差を計算する計算法などの公知の方法を用いればよい。

[0032] 移動度補正部107は、移動度補正処理を実行し、ピーク抽出後信号と色変換後信号から移動度補正後信号を計算する。移動度補正処理は、以下の手順で実行される。

(1) 移動度補正部 107 は、ピーク抽出後信号を「移動度補正途中ピーク信号」に代入し、色変換後信号を「移動度補正途中信号」に代入する。

(2) 移動度補正部 107 は、移動度補正途中ピーク信号に対し、G（グアニン）のピーク P_Gのうち、その時間軸上の後方で隣接するピークがG（グアニン）以外の塩基に対応するピーク P_Gについて、ピーク P_Gとその時間軸上の後方で隣接する他の塩基のピークとの平均間隔d(G)を計算する。同様に、移動度補正部 107 は、A（アデニン）のピーク P_Aのうち、時間軸上の後方で隣接するピークがA（アデニン）以外の塩基に対応するピーク P_Aについて、ピーク P_Aとその時間軸上の後方で隣接する他の塩基のピークとの平均間隔d(A)を計算する。同様に、移動度補正部 107 は、T（チミン）のピーク P_Tのうち、その時間軸上の後方で隣接するピークがT（チミン）以外の塩基に対応するピーク P_Tについて、ピーク P_Tとその時間軸上の後方で隣接する他の塩基のピークとの平均間隔d(T)を計算する。同様に、移動度補正部 107 は、C（シトシン）のピーク P_Cのうち、その時間軸上の後方で隣接するピークがC（シトシン）以外の塩基に対応するピーク P_Cについて、ピーク P_Cとその時間軸上の後方で隣接する他の塩基のピークとの平均間隔d(C)を計算する。

(3) 移動度補正部 107 は、d(G)、d(A)、d(T)、d(C)の平均値d_{mean}を計算する。

(4) 移動度補正部 107 は、以下の式で与えられるd' (G)、d' (A)、d' (T)、d' (C)を計算する。

$$d' (G) = d(G) - d_{\text{mean}}$$

$$d' (A) = d(A) - d_{\text{mean}}$$

$$d' (T) = d(T) - d_{\text{mean}}$$

$$d' (C) = d(C) - d_{\text{mean}}$$

(5) 移動度補正部 107 は、移動度補正途中ピーク信号のG（グアニン）に対応するチャンネルをd' (G)だけ時間軸上後方にシフトし、A（アデニン）のチャンネルをd' (A)だけ時間軸上後方にシフトし、T（チミン）のチャン

ネルをd' (T)だけ時間軸上後方にシフトし、C (シトシン) のチャンネルをd' (C)だけ時間軸上後方にシフトし、シフト後の信号で移動度補正途中ピーク信号を上書きする。

(6) 移動度補正部107は、移動度補正途中信号のG (グアニン) に対応するチャンネルをd' (G)だけ時間軸上後方にシフトし、A (アデニン) に対応するチャンネルをd' (A)だけ時間軸上後方にシフトし、T (チミン) に対応するチャンネルをd' (T)だけ時間軸上後方にシフトし、C (シトシン) に対応するチャンネルをd' (C)だけ時間軸上後方にシフトし、シフト後の信号で移動度補正途中信号を上書きする。

(7) 移動度補正部107は、d' (G)、d' (A)、d' (T)、d' (C)のいずれもが十分に小さい場合 (各閾値より小さい場合)、上書きした移動度補正途中信号を移動度補正後信号に代入して終了し、そうでなければ(2)の処理に戻る。

[0033] ピーク間隔許容度入力部109は、表示装置52の画面に表示されたインターフェース画面を通じ、作業者によるピーク間隔の分散の許容度 α の入力を受け付ける処理を実行する。 α は、ピーク間隔の分散をどれくらい許容するかの許容値を意味する。作業者は、ピーク間隔許容度入力部109を通じて α を設定できることにより、ノイズの大きさに依存した最適な α を用いて高精度にベースコールを行うことができる。

[0034] 図6に、ピーク間隔許容度入力部109が表示するインターフェース画面200の例を示す。図6に示すインターフェース画面200には、塩基A (アデニン)、G (グアニン)、C (シトシン)、T (チミン) に対応する色素から発せられる各波長スペクトルの時系列を処理して得られる移動度補正後信号と更新逆畳み込み後信号の波形が表示されている。

[0035] インターフェース画面200には、ピーク間隔の分散の許容度 α の入力欄201が設けられている。インターフェース画面200には、入力された許容度 α を用いて計算された更新逆畳み込み後信号が表示される。従って、許容度 α の値が変更されると、表示される更新逆畳み込み後信号の波形も変化する。作業者は、許容度 α を用いて計算した更新逆畳み込み後信号を確認することに

より、入力した許容度 α が適切な値か否かを容易に判断することができる。

[0036] また、ピーク間隔許容度入力部109は、入力された許容度 α を用いて計算した更新逆畳み後信号を元に抽出したピーク位置202も表示する。図6では、ピーク位置202は一点鎖線で示されている。作業者は、ピーク位置202の間隔が一定か否かを確認することにより、入力した許容値 α が適切な値か否かを容易に判断することができる。ピーク位置202の間隔が一定に近いほど許容値 α が適正值に近い。また、作業者は、インターフェース画面200に表示された移動度補正後信号と更新逆畳み後信号を比較することにより、逆畳み込み処理が適切に実行されているか否かを容易に判断することができる。つまり、入力した許容値 α が適切な値であるか否かを容易に判断することができる。なお、インターフェース画面200には、逆畳み込み部105のブロック間再計算機能の実行の有無を選択するためのチェック欄203、ノイズが大きい場合の計算処理の実行を指示するためのチェック欄204、ノイズが小さい場合の計算処理の実行を指示するためのチェック欄205も設けられている。チェック欄203にチェックが入っている場合の処理内容は図5を用いて既に説明済である。チェック欄204又は205にチェックが入っている場合の処理内容については後述する。なお、図6はインターフェース画面200の一例であり、入力欄201とチェック欄203～205は表示されていなくてもよいし、一部だけが表示されていてもよい。

[0037] 図4の説明に戻る。ピーク間隔制約付逆畳み込み部108は、4チャンネルの移動度補正後信号に対し、逆畳み込み（デコンボリューション）処理を行い、4チャンネルの更新逆畳み込み後信号を計算する。前述したように、PSFが未知の場合、逆畳み込み処理で十分な精度を得ることは困難である。そこで、本実施例のピーク間隔制約付逆畳み込み処理部108では、以下のよう解の候補を削減することにより、局所解を避ける。

[0038] 図7に、ピーク間隔制約付逆畳み込み処理部108の処理動作を示す。まず、ピーク間隔制約付逆畳み込み処理部108は、PSFをガウス関数に限定し

、その未知パラメータを標準偏差 σ のみに限定する。このようにPSFの未知パラメータを限定することで、局所解を避けることができる。次に、ピーク間隔制約付逆畳み込み処理部108は、離散化した有限個の標準偏差 σ をパラメータ候補として列挙し（ステップS301）、個々のパラメータ候補について以下の処理を実行する（ステップS302）。まず、ピーク間隔制約付逆畳み込み処理部108は、処理対象の標準偏差に対応するガウス関数をPSFとして用いて逆畳み込み処理を実行し、4チャンネルの逆畳み込み後信号を得る（ステップS303）。

[0039] 次に、ピーク間隔制約付逆畳み込み処理部108は、処理対象のパラメータ候補（すなわち、標準偏差 σ ）について、以下に示す(1)及び(2)の手順で $e(\sigma)$ と $v(\sigma)$ を計算する。

(1) 前述の処理と同様、ピーク間隔制約付逆畳み込み処理部108は、標準偏差 σ に対応するガウス関数とそれを用いた逆畳み込み信号とを用いて畳み込み処理を実行し、4チャンネルの畳み込み後信号を計算する。次に、ピーク間隔制約付逆畳み込み処理部108は、算出された畳み込み後信号と入力信号との誤差 $e(\sigma)$ を、平均二乗誤差やカルバック・ライブラーダイバージェンスに基づいて計算する。

(2) ピーク間隔制約付逆畳み込み処理部108は、算出された4チャンネルの畳み込み後信号から抽出される各ピークについて、チャンネルの違いを無視して特定される隣接ピークとの間隔を計算する。詳細については図6を用いて既に説明した。次に、ピーク間隔制約付逆畳み込み処理部108は、それら間隔に対応する全てのピークについて分散値 $v(\sigma)$ を計算する。ただし、 $v(\sigma)$ は文字通りの分散値ではなく、標準偏差や平均値からの偏差の最大値やMedian Absolute Deviation (MAD)であってもよい。本明細書では、これらを総称する意味で「分散」の用語を用いる。

[0040] 次に、ピーク間隔制約付逆畳み込み処理部108は、例えば次式により評価値 c を計算する（ステップS304）。

$$c = e(\sigma) + \alpha \times v(\sigma) \quad \cdots \text{式3}$$

α は、前述したように、ピーク間隔の分散の許容度である。例えばノイズが大きい場合、ピーク間隔制約付逆畳み込み処理部108は、許容度 α を大きく設定することでピーク間隔の分散 $v(\sigma)$ を重視する。これにより、畳み込みの誤差 $e(\sigma)$ が大きくても許容した解が得られる。一方、ノイズが小さい場合、ピーク間隔制約付逆畳み込み処理部108は、許容度 α を小さく設定することで畳み込みの誤差 $e(\sigma)$ を重視し、ピーク間隔の分散 $v(\sigma)$ が大きくても許容した解が得られる。

[0041] 因みに、ノイズが大きいかな否かの判定は、ピーク間隔制約付逆畳み込み処理部108が自動的に実行しても良い。また、図6に示したように、作業者がインターフェース画面200のチェック欄204又は205のいずれかをチェックしていることをピーク間隔制約付逆畳み込み処理部108が検知し、チェック内容に応じて許容度 α の大きさを変更する仕組みを採用してもよい。

[0042] ピーク間隔制約付逆畳み込み処理部108は、評価値 c が最小となる標準偏差を探索し（ステップS305）、特定された標準偏差に対応する4チャンネルの畳み込み後信号を、4チャンネルの更新逆畳み込み後信号として出力する（ステップS306）。このようにして得られた更新逆畳み込み後信号は、ピーク間隔がほぼ一定であるという制約を満たしている。このような解は本来の解である可能性が高いため、十分な精度での逆畳み込み結果となる。なお、評価値 c の計算に用いる計算式によっては、最大値を採る標準偏差を探索してもよい。

[0043] 以上の処理は、ブロック毎（図5参照）に実行される。なお、ピーク間隔制約付逆畳み込み部108の処理は、前述の逆畳み込み部105と同様、複数のブロックについて計算された結果を用いて、より精度を高めることができる。ここでも、 i 番目のブロックの標準偏差 σ を σ_i とする。ここでも、標準偏差 σ は、短時間では大きく変動しないと仮定する。ピーク間隔制約付逆畳み込み部108は、あるブロックの標準偏差 σ と、その前後に出現するブロックにおける標準偏差の平均値との差分が閾値 T を超えているかな否かを判定

する。

$$\left| \sigma_i - \text{median}\{\sigma_j\}_{j=i-K}^{j=i+K} \right| > T \quad \cdots \text{式 4}$$

[0044] 式 4 が成立する場合、ピーク間隔制約付逆畳み込み部 108 は、式 5 で与えられる値を標準偏差とする PSF で再度逆畳み込みを実行し、新たな逆畳み込み後信号を算出する。ただし、K は、ある自然数（1、2、3…）の定数である。

$$\text{median}\{\sigma_j\}_{j=i-K}^{j=i+K} \quad \cdots \text{式 5}$$

[0045] 図 4 の説明に戻る。ピーク抽出部 110 は、ピーク波形を抽出する処理を実行し、4 チャンネルの更新逆畳み込み後信号から 4 チャンネルの更新ピーク抽出後信号を計算する。ピーク抽出処理には、更新逆畳み込み後信号の一次微分の零交差を計算し、零交差が存在する時刻の更新ピーク抽出後信号の信号値を更新逆畳み込み後信号の信号値で置き換えるなどの方法を用いればよい。更新逆畳み込み後信号の一次微分の計算には、更新逆畳み込み後信号に対してスプライン補間を行い、スプライン補間後の信号の一次微分値を計算する。これにより、雑音に対して頑健なピーク抽出が可能である。

[0046] ピーク抽出部 110 には、さらに精度を高める目的で、全てのピークに対して以下の判定ルールに基づく判定処理を実行し、判定の結果「削除」と判定されたピークを削除してもよい。

[0047] 判定ルール： $d < 0$ ならば削除する。

ただし、 d は、以下の x_1 と x_2 に依存する識別関数である。

・ x_1 = 注目ピークの強度 − 近傍ピークの強度の平均値

・ x_2 = 移動度補正後信号における注目ピークの時刻の注目ピークのチャンネルの強度 / 移動度補正後信号における注目ピークの時刻のチャンネルに亘る平均強度

例えば d には、線形識別関数 $d = w_1 * x_1 + w_2 * x_2 + w_3$ を用いてもよく、SVM (Support Vector Machine) を用いてもよく、決定木を用いても良い。

[0048] 配列特定部 111 は、配列特定処理を実行し、4 チャンネルの更新ピーク抽出後信号から結果配列を出力する。配列特定処理では、更新ピーク抽出後信号中の各ピークに対応する塩基種別のラベル G、A、T、C を時間順に並べることでラベル列を生成する。このラベル列を結果配列とする。配列出力部 112 は、結果配列をハードディスクや SSD (Solid State Drive) などの記憶装置に出力するか、又は、表示装置 52 を用いて提示する。

[0049] (1-3) まとめ

以上説明したように、本実施例のキャピラリアレイ電気泳動装置 10 には、ピーク間隔に制約を付けた上で逆畳み込み処理を実行する機能を搭載する。これにより、ピークの分離度が低い場合（特に、異なる塩基種別の波形が時間的に重なっている場合）でも、高精度に塩基配列を決定することができる。特に可搬型（小型）のシーケンサや測定時間が短いシーケンサではピークの分離度が低くなり易いと考えられるため、本実施例の手法はこれらのシーケンサに効果的である。

[0050] (2) 実施例 2

本実施例では、キャピラリアレイ電気泳動装置 10 に、各種のパラメータを機械学習する機能を採用する場合について説明する。なお、本実施例におけるキャピラリアレイ電気泳動装置 10 の基本的な装置は実施例 1 と同じである。以下では、同じ測定条件で既知の塩基配列の試料を測定した複数の入力信号が信号入力部 101 に入力されるものとする。

[0051] まず、学習工程 1 として、ピーク間隔の分散の許容度 α を自動的にチューニングする方法について説明する。信号処理部 72 は、ある範囲 $[\alpha_{\min}, \alpha_{\max}]$ 内で、許容度 α を、ある刻み $\Delta \alpha$ で変化させ、それぞれの α を用いて実施例 1 で説明した一連の処理を実行し、塩基配列を決定する。その後、信号処理部 72 は、個々の許容度 α を用いて決定された塩基配列と正しい配列との一致率 $p(\alpha)$ を計算し、一致率 $p(\alpha)$ が最大となるように許容度 α を設定する。この学習工程の実行により、ユーザインタフェース画面 200 を用いた許容度 α の入力を省略することができる。

[0052] 次に、学習工程 2 として、許容度 α 以外のパラメータをチューニングする方法について説明する。信号処理部 7 2 は、例えば実施例 1 で説明したピーク抽出部 1 1 0 の削除判定ルールのパラメータ w_1 、 w_2 、 w_3 をチューニングする。ここでは、塩基配列が既知の試料を測定しているため、本来存在するピークが正しく抽出されたか、又は、本来存在しないピークが誤って抽出されたか、又は、本来存在するピークが誤って除外抽出されなかったか、本来存在しないピークが正しく除外されたか、といった 1 ピーク毎の正否が分かる。この正否を教師信号とし、信号処理部 7 2 は、出力信号 d と合わせて教師あり学習を行う。

[0053] 出力信号 d が線形識別関数の場合、信号処理部 7 2 は、誤り訂正学習などのアルゴリズムを用いればよい。出力信号 d が SVM (Support Vector Machine) の場合、信号処理部 7 2 は、教師あり学習に SMO (Sequential Minimal Optimization) アルゴリズムを用いることができる。出力信号 d が決定木の場合、信号処理部 7 2 は、ID3 または C4.5 などのアルゴリズムで教師あり学習が可能である。

[0054] 学習工程 1 の結果と学習工程 2 の結果は互いに依存関係を有する。そこで、信号処理部 7 2 は、学習工程 1 と学習工程 2 を交互に行うことで、全体として最適なパラメータチューニングを実行する。

[0055] (3) 実施例 3

図 8 に、キャピラリアレイ電気泳動装置 1 0 A の他の構成例を示す。図 8 には、図 2 との対応部分に同一符号を付して示す。実施例 1 の場合、塩基配列の決定処理を蛍光検出装置 5 0 の信号処理部 7 2 で実行しているが、本実施例の蛍光検出装置 5 0 A では信号処理部 7 2 に塩基配列の解析機能を搭載せず、キャピラリアレイ電気泳動装置 1 0 A に対して外付けされるコンピュータ等の外部装置 5 3 で実行する。このため、図 8 に示すキャピラリアレイ電気泳動装置 1 0 A では、制御基板 5 1 に対して外部装置 5 3 が接続されている。外部装置 5 3 は、信号処理部 7 2 で実行される信号処理を実行するのに十分な計算資源を有するものとする。また、外部装置 5 3 には、処理結果

等の確認用に表示装置が設けられている。なお、制御基板 5 1 と外部装置 5 3 との通信は、有線方式でも無線方式でもよい。例えば外部装置 5 3 は、デスクトップ P C、ノート P C、スマートフォン、携帯情報端末である。

[0056] (4) 他の実施例

本発明には、上述した実施例に限定されるものではなく、様々な変形例が含まれる。例えば、上述した実施例は本発明を分かりやすく説明するために詳細に説明したものであり、必ずしも説明した全ての構成を備えるものに限定されるものではない。また、ある実施例の構成の一部を他の実施例の構成に置き換えることが可能であり、また、ある実施例の構成に他の実施例の構成を加えることも可能である。また、各実施例の構成の一部については、他の構成の追加、削除又は置換が可能である。

[0057] また、上述した各構成、機能、処理部、処理手段等は、それらの一部又は全部を、例えば集積回路で設計する等によりハードウェアで実現してもよい。また、上記の各構成、機能等は、プロセッサがそれぞれの機能を実現するプログラムを解釈し、実行することによりソフトウェアで実現してもよい。各機能を実現するプログラム、テーブル、ファイル等の情報は、メモリや、ハードディスク、SSD等の記録装置、または、IC (integrated circuit) カード、SDカード、DVD等の記録媒体に置くことができる。

[0058] また、制御線や情報線は説明上必要と考えられるものを示しており、製品上必ずしも全ての制御線や情報線を示しているとは限らない。実際には殆ど全ての構成が相互に接続されていると考えてもよい。

符号の説明

[0059] 1 0…キャピラリアレイ電気泳動装置、
1 1…サンプル容器、
1 2…サンプルトレイ、
2 0…搬送器、
2 1…高圧電源、
3 0…キャピラリアレイ、

3 1 …恒温槽、
3 2 …検出位置、
3 3 …キャピラリ、
3 4 …排出位置、
4 1 …電気泳動媒体、
4 2 …ポンプユニット、
5 0 …蛍光検出装置、
5 1 …制御基板、
5 2 …表示装置、
7 2 …信号処理部、
1 0 1 …信号入力部、
1 0 2 …ベースライン除去部、
1 0 3 …色変換部、
1 0 4 …ブロック切り出し部、
1 0 5 …逆畳み込み部、
1 0 6 …ピーク抽出部、
1 0 7 …移動度補正部、
1 0 8 …ピーク間隔制約付逆畳み込み部、
1 0 9 …ピーク間隔許容度入力部、
1 1 0 …ピーク抽出部、
1 1 1 …配列特定部、
1 1 2 …配列出力部、
2 0 0 …インターフェース画面、
2 0 1 …許容度 α の入力欄、
2 0 2 …ピーク位置、
2 0 3 …チェック欄、
2 0 4 …チェック欄、
2 0 5 …チェック欄。

請求の範囲

[請求項1] 各塩基に対応する波長スペクトルの時系列信号を移動度補正した移動度補正信号を出力する移動度補正部と、

点拡がり関数の複数のパラメータ候補について、前記移動度補正信号の逆畳み込み後信号をそれぞれ算出する処理と、算出された逆畳み込み後信号についてピーク間隔の分散を計算する処理と、計算された分散を用いて前記点拡がり関数のパラメータを特定する処理と、特定されたパラメータを有する前記点拡がり関数に対応する前記逆畳み込み信号を更新逆畳み込み信号として出力する処理と、を実行する逆畳み込み部と、

前記更新逆畳み込み後信号からピーク波形を抽出し、更新ピーク抽出後信号を出力するピーク抽出部と、

前記更新ピーク抽出後信号を入力し、塩基配列を決定する配列特定部と

を有する塩基配列決定装置。

[請求項2] 請求項1に記載の塩基配列決定装置において、

前記逆畳み込み部は、前記複数のパラメータ候補について算出された前記逆畳み込み後信号のそれぞれについて畳み込み誤差とピーク間隔の分散を計算し、前記畳み込み誤差と前記分散の大きさとによって計算される評価値に基づいて前記更新逆畳み込み信号の算出に使用する前記点拡がり関数のパラメータを特定する

ことを特徴とする塩基配列決定装置。

[請求項3] 請求項2に記載の塩基配列決定装置において、

前記評価値の計算時に使用する、前記分散に乘算する重み係数を与える許容度を、インターフェース画面に対する入力を通じて受け付ける入力部を更に有する

ことを特徴とする塩基配列決定装置。

[請求項4] 請求項3に記載の塩基配列決定装置において、

前記許容度の入力値の変更に応じて、前記インターフェース画面に表示される前記更新逆畳み込み後信号の波形が変化する

ことを特徴とする塩基配列決定装置。

[請求項5]

請求項1に記載の塩基配列決定装置において、

前記逆畳み込み部による前記逆畳み込み後信号のピーク間隔の前記分散の計算時に、複数の時間区間について計算される前記分散の計算結果を用いるか否かを、インターフェース画面に表示されるチェック欄へのチェックの有無を通じて受け付ける入力部を更に有する

ことを特徴とする塩基配列決定装置。

[請求項6]

請求項1に記載の塩基配列決定装置において、

前記逆畳み込み部は、前記逆畳み込み後信号のピーク間隔の前記分散の計算結果を、当該計算結果に対応する時間区間以外の複数の時間区間について計算される前記分散の計算結果を用いて修正し、修正後の前記分散を用いて前記点拡がり関数のパラメータを特定する

ことを特徴とする塩基配列決定装置。

[請求項7]

請求項1に記載の塩基配列決定装置において、

前記逆畳み込み部は、前記更新逆畳み込み後信号の算出に使用する前記点拡がり関数のパラメータを特定する処理の実行前に、以下の(1)～(3)を満たす逆畳み込み後信号が得られるパラメータ候補のみを抽出する

ことを特徴とする塩基配列決定装置。

(1)前記逆畳み込み後信号と前記移動度補正信号との間の畳み込み誤差が所定の閾値以下である。

(2)前記逆畳み込み後信号から抽出されるピークの間隔の最小値が閾値以上である。

(3)前記点拡がり関数のパラメータ候補が、前記畳み込み誤差の変曲点の近傍に存在する。

[請求項8]

サンプルが電気泳動されるキャピラリアレイと、

前記キャピラリアレイに泳動電圧を印加する高圧電源と、
前記キャピラリアレイからの蛍光を検出する受光部と、
前記受光部からの信号を処理して前記サンプルの塩基配列を決定する請求項 1 に記載の塩基配列決定装置と
を有するキャピラリアレイ電気泳動装置。

[請求項9] 信号処理部とメモリを有する塩基配列決定装置で実行される塩基配列決定方法において、

前記信号処理部が、各塩基に対応する波長スペクトルの時系列信号を移動度補正した移動度補正信号を出力する処理と、

前記信号処理部が、点拡がり関数の複数のパラメータ候補について、前記移動度補正信号の逆畳み込み後信号をそれぞれ算出する処理と、

前記信号処理部が、算出された逆畳み込み後信号のそれぞれについてピーク間隔の分散を計算する処理と、

前記信号処理部が、計算された分散を用いて前記点拡がり関数のパラメータを特定する処理と、特定されたパラメータを有する前記点拡がり関数に対応する前記逆畳み込み信号を更新逆畳み込み信号として出力する処理と、

前記信号処理部が、前記更新逆畳み込み後信号からピーク波形を抽出し、更新ピーク抽出後信号を出力する処理と、

前記信号処理部が、前記更新ピーク抽出後信号を入力し、塩基配列を決定する処理と

を有する塩基配列決定方法。

[請求項10] 請求項 9 に記載の塩基配列決定方法において、

前記信号処理部が、前記複数のパラメータ候補について算出された前記逆畳み込み後信号のそれぞれについて畳み込み誤差とピーク間隔の分散を計算し、前記畳み込み誤差と前記分散の大きさによって計算される評価値に基づいて前記更新逆畳み込み信号の算出に使用する

前記点拡がり関数のパラメータを特定する

ことを特徴とする塩基配列決定方法。

[請求項11]

請求項10に記載の塩基配列決定方法において、

前記信号処理部が、前記評価値の計算時に使用する、前記分散に乘算する重み係数を与える許容度の入力欄をインターフェース画面に表示する

ことを特徴とする塩基配列決定方法。

[請求項12]

請求項11に記載の塩基配列決定方法において、

前記信号処理部は、前記許容度の入力値の変更に応じて、前記インターフェース画面に表示する前記更新逆畳み込み後信号の波形を変化させる

ことを特徴とする塩基配列決定方法。

[請求項13]

請求項9に記載の塩基配列決定方法において、

前記信号処理部が、前記逆畳み込み部による前記逆畳み込み後信号のピーク間隔の前記分散の計算時に、複数の時間区間について計算される前記分散の計算結果を用いるか否かを指示するためのチェック欄をインターフェース画面に表示する

ことを特徴とする塩基配列決定方法。

[請求項14]

請求項9に記載の塩基配列決定方法において、

前記信号処理部が、前記逆畳み込み後信号のピーク間隔の前記分散の計算結果を、当該計算結果に対応する時間区間以外の複数の時間区間について計算される前記分散の計算結果を用いて修正し、修正後の前記分散を用いて前記点拡がり関数のパラメータを特定する

ことを特徴とする塩基配列決定方法。

[請求項15]

請求項9に記載の塩基配列決定方法において、

前記信号処理部が、前記更新逆畳み込み後信号の算出に使用する前記点拡がり関数のパラメータを特定する処理の実行前に、以下の(1)～(3)を満たす逆畳み込み後信号が得られるパラメータ候補のみを抽

出する

ことを特徴とする塩基配列決定方法。

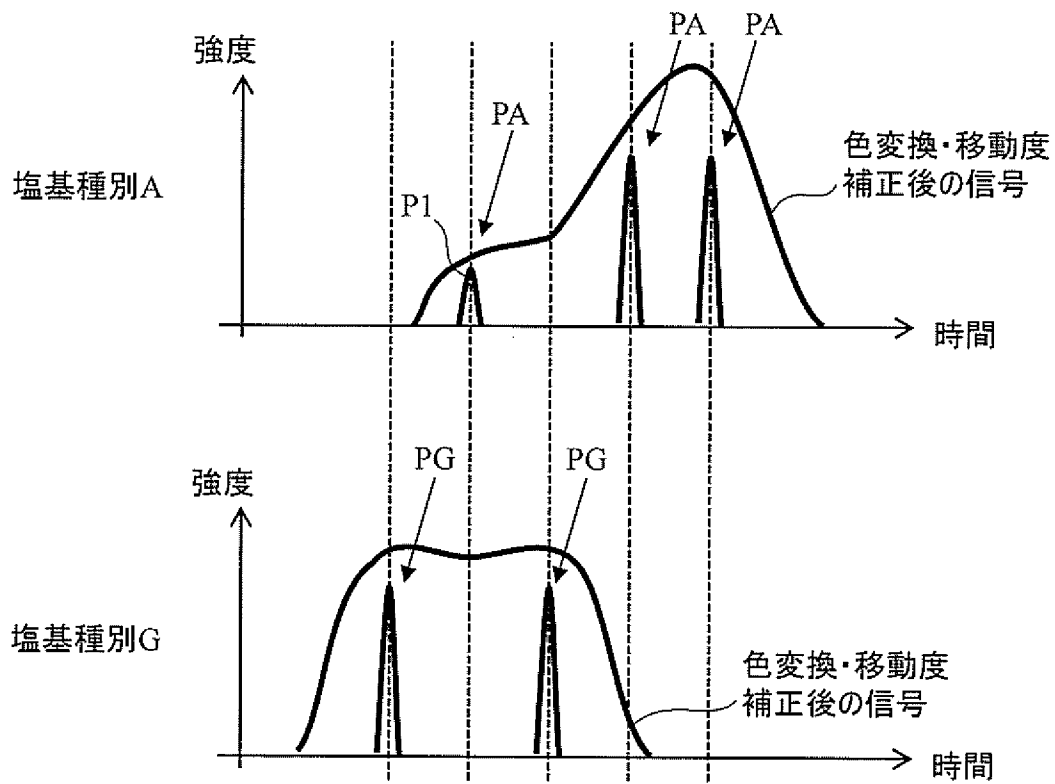
(1)前記逆畳み込み後信号と前記移動度補正信号との間の畳み込み誤差が所定の閾値以下である。

(2)前記逆畳み込み後信号から抽出されるピークの間隔の最小値が閾値以上である。

(3)前記点拡がり関数のパラメータ候補が、前記畳み込み誤差の変曲点の近傍に存在する。

[図1]

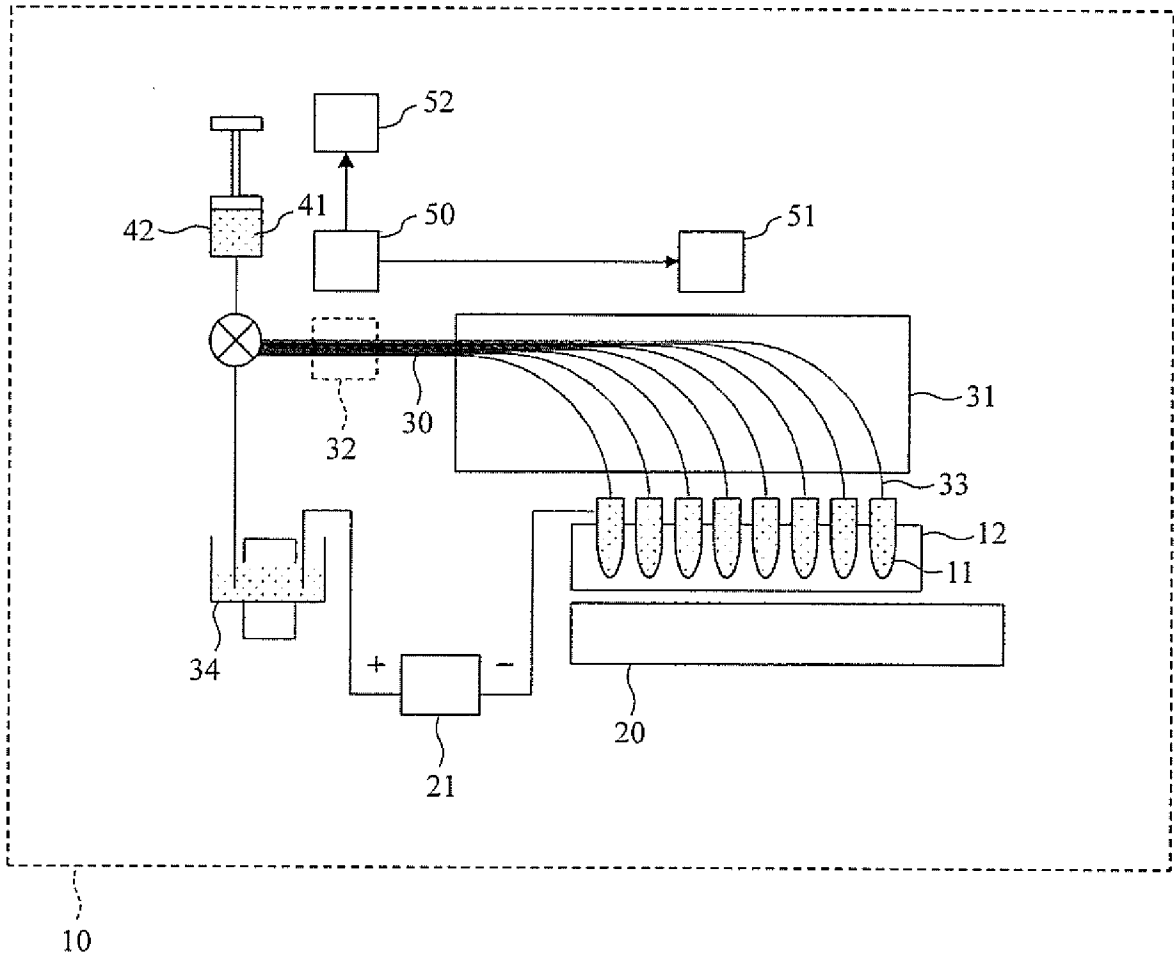
図 1



PA: 塩基種別Aの元のピーク信号
PG: 塩基種別Gの元のピーク信号

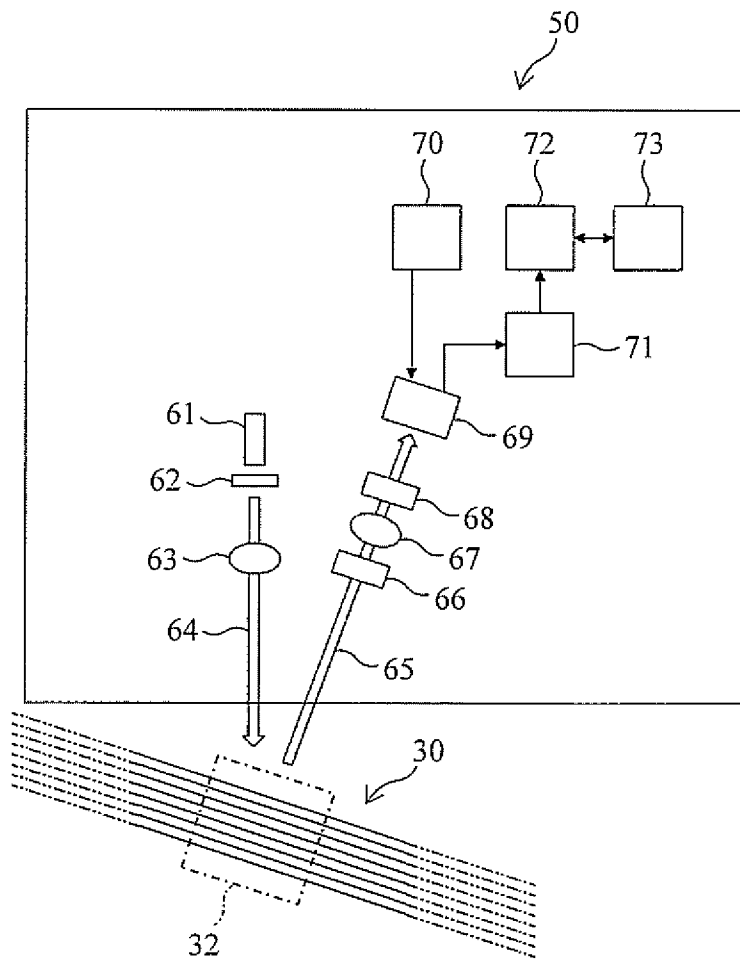
[図2]

図 2



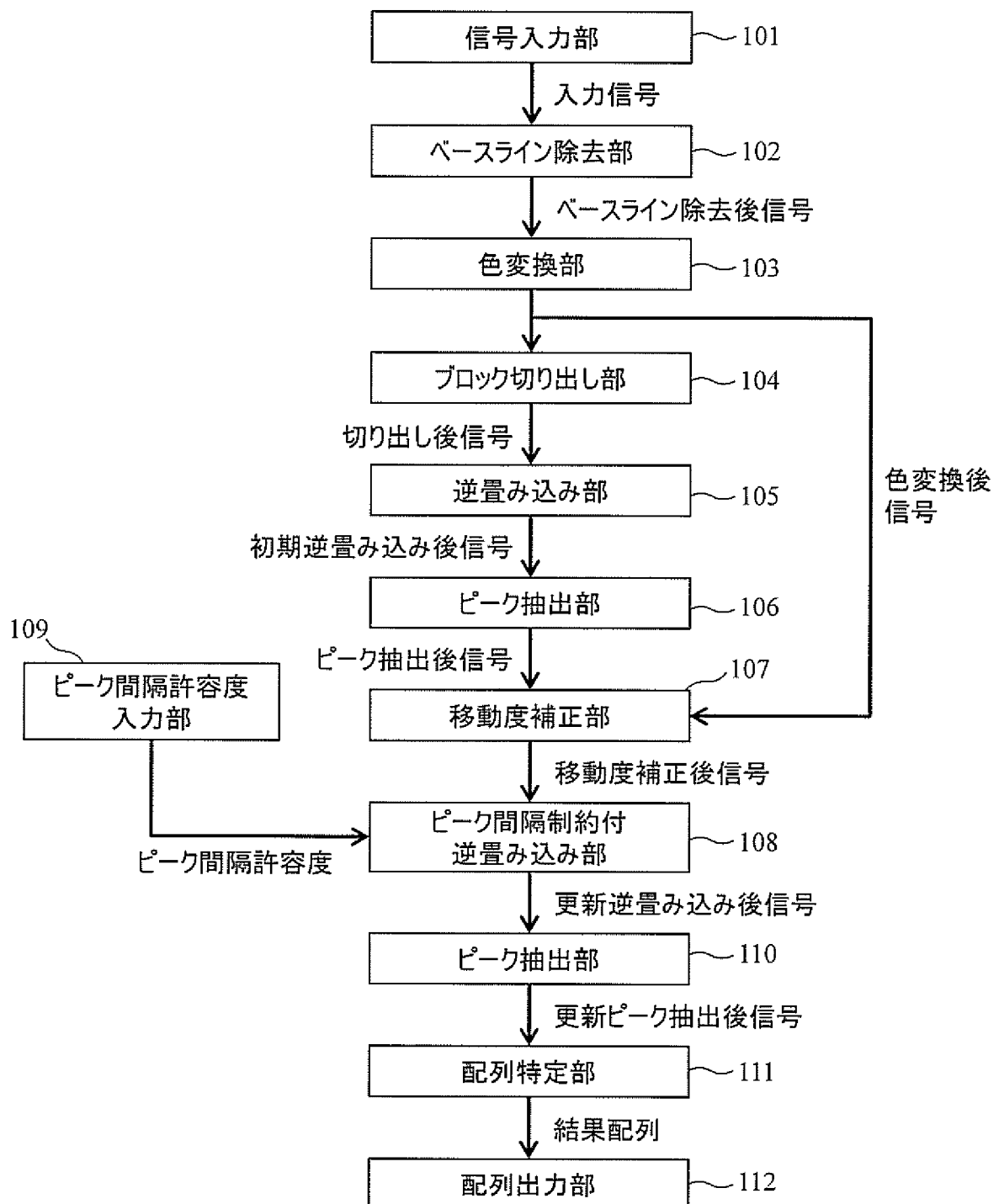
[図3]

図 3



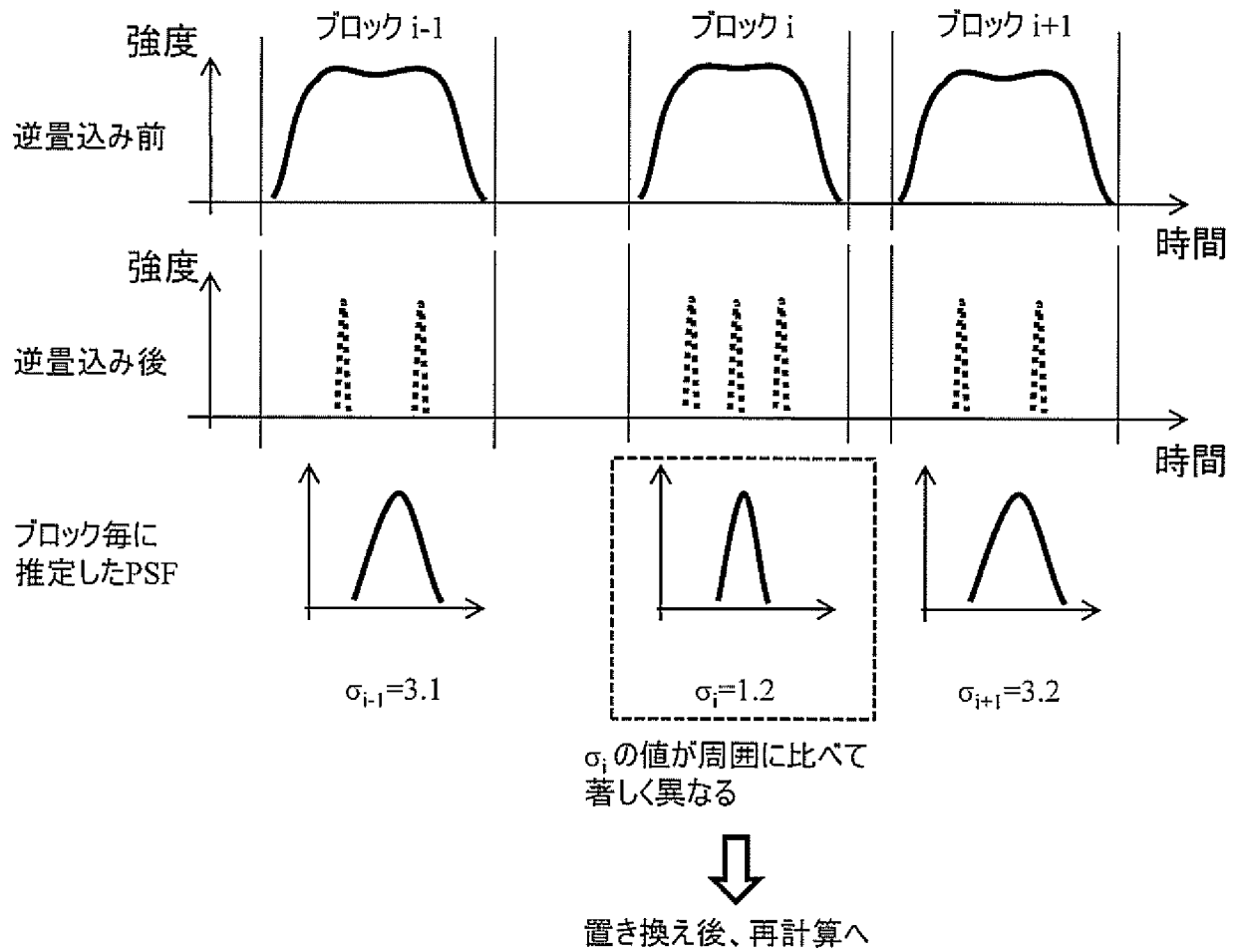
[図4]

図 4



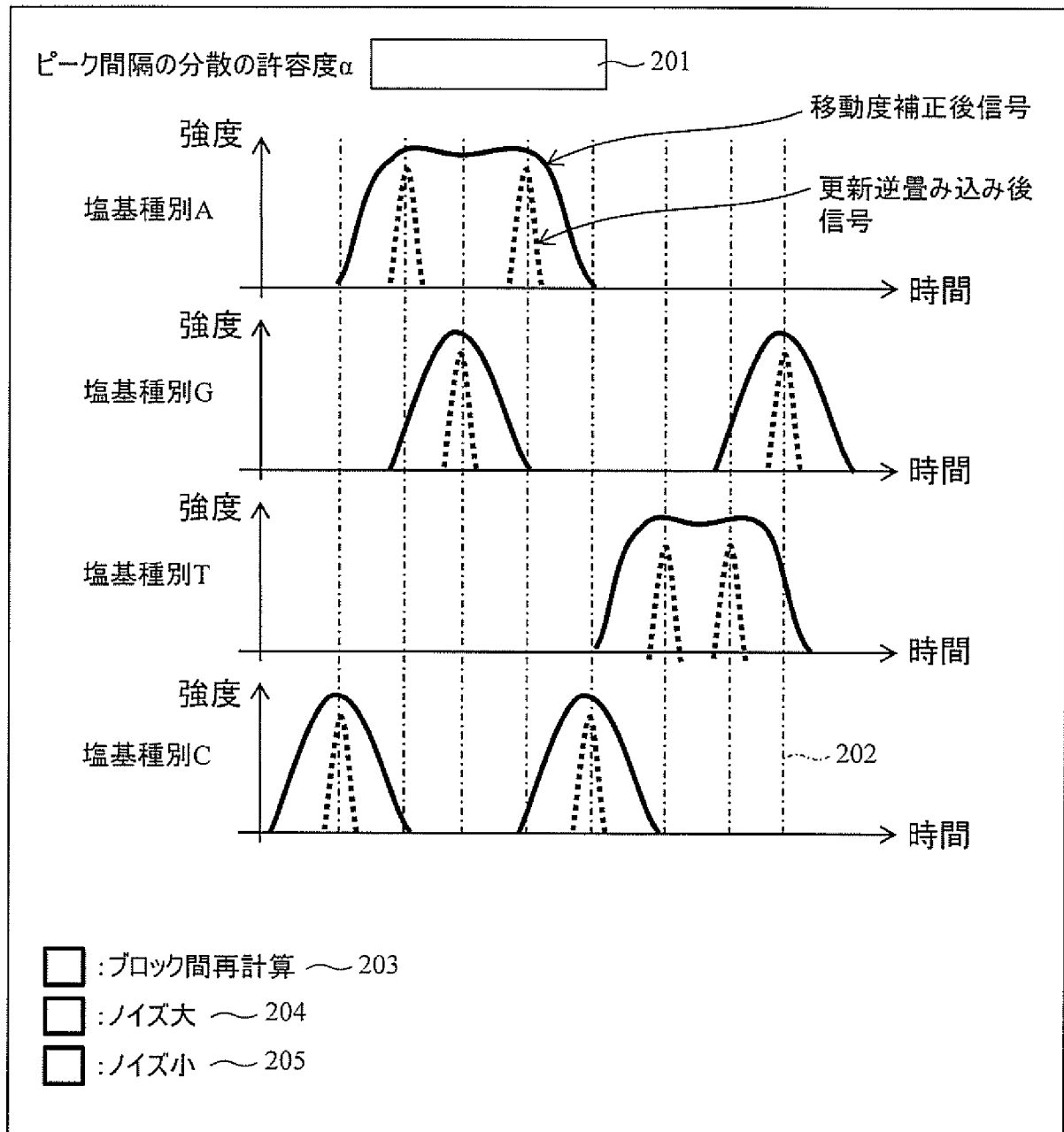
[図5]

図 5



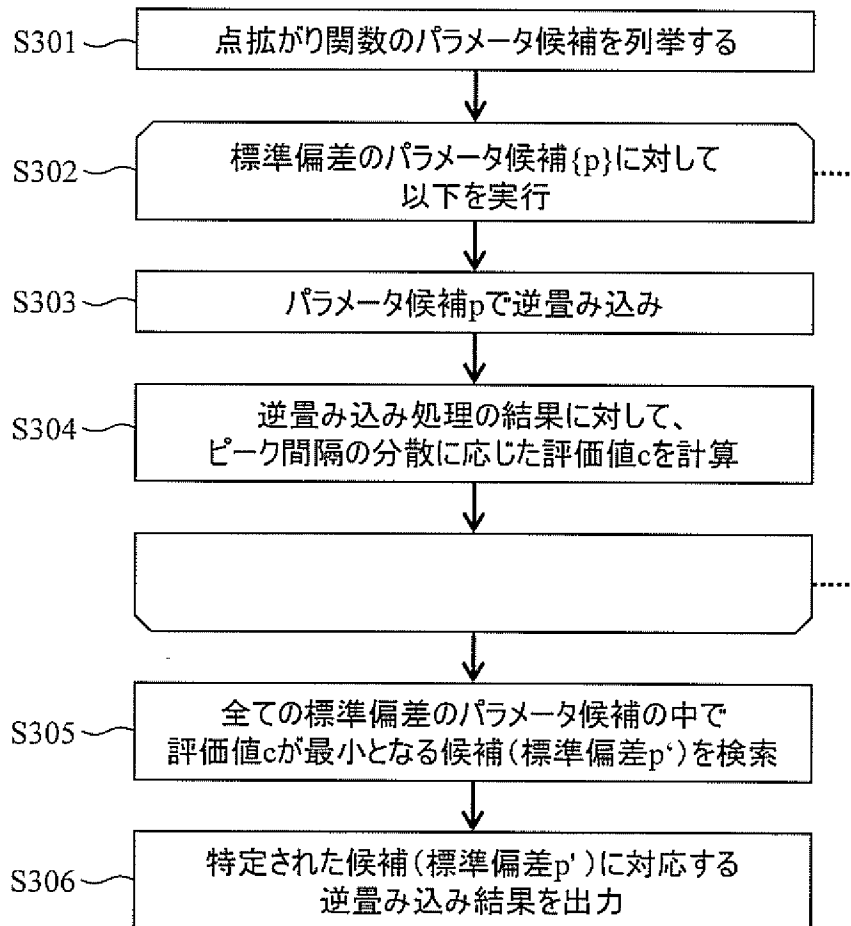
[図6]

図 6



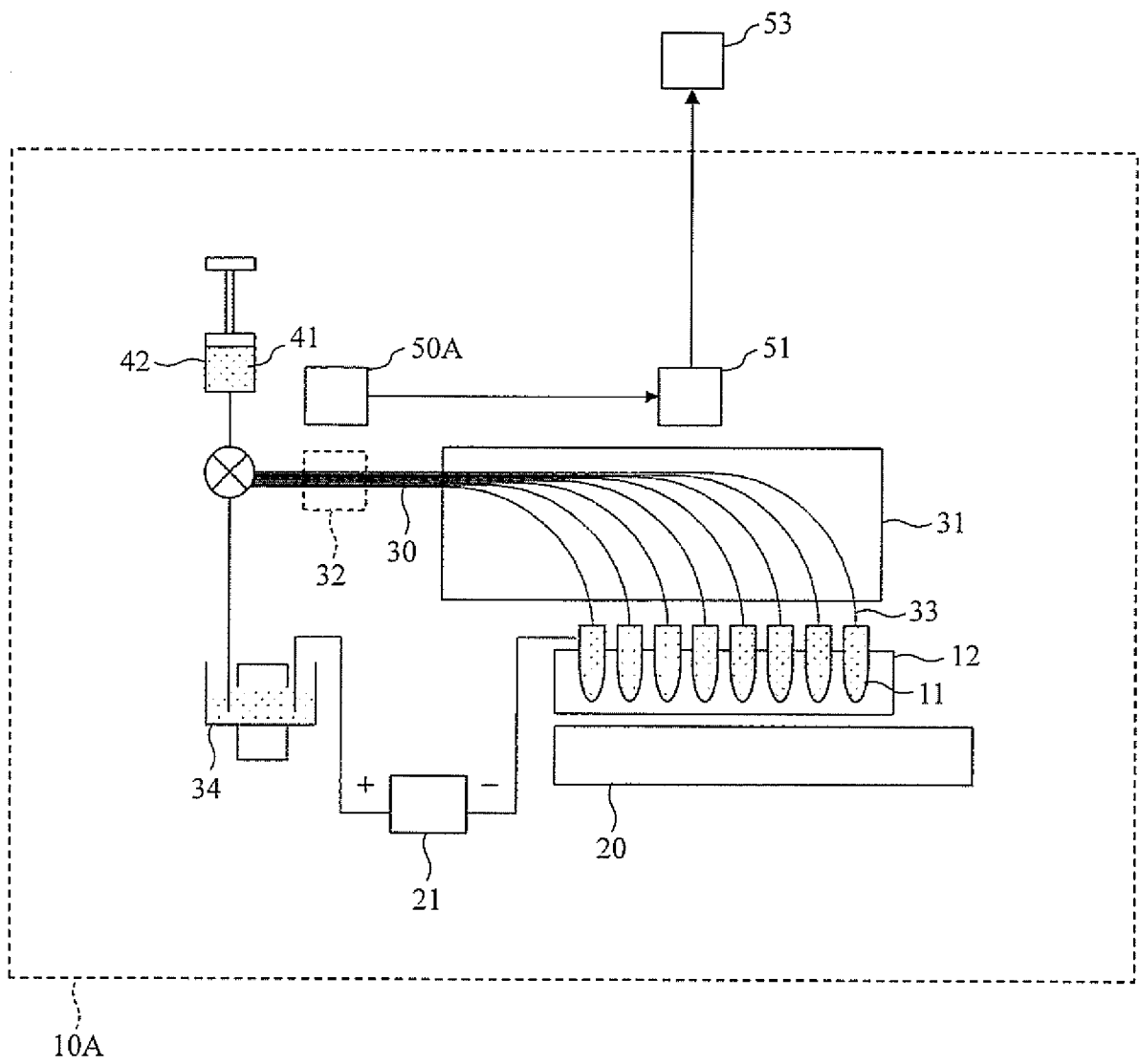
[図7]

図 7



[図8]

图 8



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2016/052495

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C12M1/00(2006.01)i, C12N15/09(2006.01)i, C12Q1/68(2006.01)i

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)

C12M1/00, C12N15/09, C12Q1/68

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

Jitsuyo Shinan Koho	1922-1996	Jitsuyo Shinan Toroku Koho	1996-2016
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2016	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2016

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

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamIII), CApus/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS(STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 2008/050426 A1 (Shimadzu Corp.), 02 May 2008 (02.05.2008), entire text; particularly, claims & US 2010/0089771 A1 claims	1-15
A	JP 8-173197 A (Hitachi Electronics Engineering Co., Ltd.), 09 July 1996 (09.07.1996), entire text; particularly, paragraphs [0022] to [0030] (Family: none)	1-15

☒ 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
04 April 2016 (04.04.16)

Date of mailing of the international search report
12 April 2016 (12.04.16)

Name and mailing address of the ISA/
Japan Patent Office
3-4-3, Kasumigaseki, Chiyoda-ku,
Tokyo 100-8915, Japan

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2016/052495

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP 2003-161725 A (Hitachi, Ltd.), 06 June 2003 (06.06.2003), entire text; particularly, claims; paragraphs [0013] to [0019] (Family: none)	1-15

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl. C12M1/00(2006.01)i, C12N15/09(2006.01)i, C12Q1/68(2006.01)i

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl. C12M1/00, C12N15/09, C12Q1/68

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

日本国実用新案公報	1922-1996年
日本国公開実用新案公報	1971-2016年
日本国実用新案登録公報	1996-2016年
日本国登録実用新案公報	1994-2016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 (JDreamIII)
CAplus/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
A	WO 2008/050426 A1 (株式会社島津製作所) 2008.05.02, 全文、特に特許請求の範囲 & US 2010/0089771 A1, claims	1-15
A	JP 8-173197 A (日立電子エンジニアリング株式会社) 1996.07.09, 全文、特に[0022]-[0030] (ファミリーなし)	1-15
A	JP 2003-161725 A (株式会社日立製作所) 2003.06.06, 全文、特に特許請求の範囲、[0013]-[0019] (ファミリーなし)	1-15

C欄の続きにも文献が列挙されている。

パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの	「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
「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	「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
「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)	「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
「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献	「&」 同一パテントファミリー文献
「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願	

国際調査を完了した日

04.04.2016

国際調査報告の発送日

12.04.2016

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/J P)
郵便番号 100-8915
東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

松原 寛子

4N

4154

電話番号 03-3581-1101 内線 3488