

寡核苷酸全自动合成设备和方法

5 技术领域

本申请属于基因合成领域，具体涉及寡核苷酸全自动合成设备和方法，尤其是吗啉代反义寡核苷酸(phosphorodiamidate morpholino oligomer, 简称 PMO)的全自动合成装置及合成方法。

10 背景技术

PMO 对 DNA、RNA 的亲性和高，具有对各种核酸酶的抗性，在机体内稳定，毒性也低，因此是作为反义寡核苷酸备受瞩目的化合物。

PMO 的合成主要采取人工合成为主，在当前市场上还没有成熟的 PMO 合成仪。Chengxi Li 等 (Fully automated fast-flow synthesis of antisense phosphorodiamidate morpholino oligomers, Nature Communications, volume 12, Article number: 4396 (2021)) 公开了一种 PMO 快速合成反应器，可在 3.5 小时内完成一条序列的合成，但是合成规模较小(<1umol)，无法平行批量合成。中国专利 CN 217829968U 公开了一种实验室寡核苷酸合成仪，中国专利申请 CN 114984896A 公开了一种寡核苷酸合成装置，中国专利申请 CN 114985023A 公开了一种微阵列芯片和包括该微阵列芯片的寡核苷酸合成装置，但它们合成规模小，自动化程度差，无法实现生产全过程自动化。

目前用于 PMO 合成的合成装置有以下缺陷：不能实现生产全过程自动化，人为影响因素给生产带来潜在的失败风险；合成质量不均，重复性差，单体消耗量大，无法大规模平行合成；合成装置无惰性气体保护模式和良好的排风系统，气密性差，溶剂易挥发出来造成生产环境气味大；产品暴露操作，溶剂味道大，产品容易洒落损失和有异物引入的风险。

因此，本领域需要改进的寡核苷酸全自动合成设备和方法。

发明内容

本公开的目的在于提供一种全新的寡核苷酸自动合成设备来解决上述问题，其能够实现高通量、大规模的 PMO 快速合成。

一方面，本公开提供了一种寡核苷酸全自动合成设备，所述设备包括：管路给液系统、反应系统和控制系统，其中管路给液系统包括泵送模块、移动模块和注液模块，其中注液模块安装在移动模块上，移动模块构造成使注液模块能够三维移动，从而给反应系统注液；控制系统与管路给液系统和反应系统通信连接，用于控制给液和反应。

在一些实施方式中，所述设备还包括非管路给液系统，非管路给液系统包括移液装置，移液装置优选安装在移动模块上，用于给反应系统注液。

在一些实施方式中，反应系统包括至少 1 个反应模块，优选至少 2 个反应模块，例如 3 个、4 个、5 个或 6 个反应模块；每个反应模块包括至少 1 个反应器，优选至少 2 个反应器，例如 3 个、4 个、5 个或 6 个反应器。

在一些实施方式中，每个反应器安置在过渡套中。

在一些实施方式中，所述反应模块包括振摇机构，所述振摇机构优选包括运动导轨，更优选包括两组运动导轨，其构造成使反应器摇动。

在一些实施方式中，所述设备包括一个或多个注液模块，每个注液模块包括用于给反应器注液的注液口，优选每个注液模块的注液口数量与每个反应模块的反应器数量相等。

在一些实施方式中，移动模块包括相互垂直的第一导轨、第二导轨和第三导轨，第二导轨构造成能够沿着第一导轨水平移动；第三导轨安装在第二导轨上，构造成能够沿着第二导轨水平移动。

在一些实施方式中，注液模块安装在第三导轨上，构造成能够沿着第三导轨上下竖直移动。

在一些实施方式中，泵送模块包括电动注射器和电磁阀，其中电动注射器与电磁阀通过管路连接，电磁阀包括输入口和输出口，输入口与试剂储器通过管路连接，输出口与注液模块通过管路连接。

在一些实施方式中，所述设备包括多个试剂储器，其中至少一部分试剂储

器中的每个试剂储器包括一个或多个试剂出口，每个试剂出口通过管路与一个电磁阀的输入口连接。

5 在一些实施方式中，至少一个试剂储器仅包括一个试剂出口，该试剂出口与一个电磁阀的输入口连接，并且在该电磁阀的输出口与注液模块之间存在分流装置，分流装置包括一个分流装置入口和多个分流装置出口，该分流装置入口与电磁阀的输出口通过管线连接，每个分流装置出口与一个注液口通过管线连接。

在一些实施方式中，所述多个试剂储器中的至少一个试剂储器构造成供移液装置移取试剂。

10 另一方面，本公开提供了一种利用寡核苷酸全自动合成设备合成寡核苷酸的方法，其包括：

- a. 清洗反应器；
- b. 向反应器加入脱保护剂进行脱保护反应；
- c. 清洗反应器；
- 15 d. 向反应器加入中和剂进行中和反应；
- e. 清洗反应器；
- f. 向反应器加入偶联单元；
- g. 进行偶联反应，

20 其中在控制系统的控制下，循环执行步骤 a 至步骤 g 直至获得所需的寡核苷酸，其中该方法包括在控制系统的控制下，利用移动模块移动注液模块，将试剂注入反应器。

在一些实施方式中，所述合成寡核苷酸的方法还包括在控制系统的控制下，利用移液装置移取试剂注入反应器，其中注液模块和移液装置用于注入不同的试剂。

25 在一些实施方式中，所述寡核苷酸全自动合成设备包括多个反应模块，在一个反应模块执行完步骤 f 之后并执行步骤 g 期间，对下一个反应模块执行步骤 a 至步骤 f，直至所需数量的反应模块均执行步骤 a 至步骤 f。

在一些实施方式中，清洗、脱保护反应、中和反应和偶联反应中的一个或

多个过程、优选所有过程涉及以下一个或多个在控制系统控制下的操作：

使反应器振摇；

将反应器加热至预定温度并保持在预定温度；

向反应器鼓吹氮气以隔绝空气。

5 在一些实施方式中，寡核苷酸为吗啉代反义寡核苷酸。

在一些实施方式中，在步骤 a 中，先后用二氯甲烷（DCM）和 30% 三氟乙醇（TFE）/二氯甲烷（DCM）清洗，优选使用注液模块添加，优选各清洗 30 秒至 5 分钟，例如 1 分钟。

10 在一些实施方式中，在步骤 b 中，脱保护剂为三氟乙酸（TFA）和 4-氰基吡啶的三氟乙醇（TFE）/二氯甲烷溶液，优选使用注液模块添加，优选反应 10 分钟至 20 分钟，例如 15 分钟。

在一些实施方式中，在步骤 c 中，用二氯甲烷清洗，优选使用注液模块添加，优选清洗 30 秒至 5 分钟，例如 1 分钟。

15 在一些实施方式中，在步骤 d 中，中和剂为 N,N-二异丙基乙基胺（DIEA）、异丙醇和二氯甲烷的混合溶液，优选使用注液模块添加，优选反应 30 秒至 5 分钟，例如 1 分钟。

在一些实施方式中，在步骤 e 中，先后用二氯甲烷和 1,3-二甲基-2-咪唑烷酮（DMI）清洗，优选使用注液模块添加，优选各清洗 30 秒至 5 分钟，例如 1 分钟。

20 在一些实施方式中，在步骤 f 中，向反应器中加入 10 体积% N-乙基吗啉的 1,3-二甲基-2-咪唑烷酮（DMI）溶液和 0.1M 吗啉代反义寡核苷酸单体 1,3-二甲基-2-咪唑烷酮（DMI）溶液，优选均使用移液装置添加。

在一些实施方式中，在步骤 g 中，反应持续 2 小时至 4 小时，例如 3 小时。

25

附图说明

为了更清楚地说明本申请的技术方案，下面将对本申请的一些实施方式所涉及的附图作简单地介绍。显而易见地，下面的附图所示实施方式仅仅是示例，

对于本领域普通技术人员来讲，在不付出创造性劳动的前提下，还可以根据附图获得其他的附图。

图 1 是根据本公开的一些实施方式的寡核苷酸全自动合成设备的局部示意图。

5 图 2A 是根据本公开的一些实施方式的泵送模块的示意图。

图 2B 是根据本公开的一些实施方式的泵送模块的局部示意图。

图 3A 是根据本公开的一些实施方式的移动模块示意图。

图 3B 是根据本公开的一些实施方式的移液枪的示意图。

图 4A 是根据本公开的一些实施方式的反应模块的示意图。

10 图 4B 是根据本公开的一些实施方式的反应管、反应管过渡套和反应管座的分解示意图。

图 4C 是图 4B 所示反应管、反应管过渡套和反应管座组装成的组装件的示意图。

图 4D 是图 4C 所示组装件的透视图。

15 图 5A 是根据本公开的一些实施方式的注液口分布示意图。

图 5B 是根据本公开的一些实施方式的注液模块的示意图。

图 6 是根据本公开的实施例中制备的吗啉代反义寡核苷酸的测试结果。

附图标记说明：

1-1：泵送模块；1-2：反应模块；1-3：注液模块；1-4：移动模块；1-5：
20 移液装置/移液枪；2-1：电磁阀；2-2：电动注射器；2-3：丝杆；2-4：联轴器；
2-5：泵送电机；2-6 至 2-8：连接管；3-1：X 轴；3-2：Y 轴；3-3：注液模块 Z
轴；3-4：移液装置 Z 轴；3-5：移液枪主体；3-6：移液枪头；4-1：反应器/反
应管；4-2：反应管过渡套；4-3：传热风扇；4-4：运动导轨一；4-5：运动导轨
二；4-6：加热棒；4-7：反应管座；4-8：振摇电机；4-9：第一密封圈；4-10：
25 第二密封圈；4-11：废液排出口；4-12：正压供气口；5-1-1 至 5-1-10：1 号注
液口（对应于 1 号反应管）的第 1 号至第 10 号开孔；5-2-1：2 号注液口（对
应于 2 号反应管）的第 1 号开孔；5-2-10：2 号注液口（对应于 2 号反应管）
的第 10 号开孔；5-6-1：6 号注液口（对应于 6 号反应管）的第 1 号开孔；5-6-

10: 6号注液口（对应于6号反应管）的第10号开孔。

具体实施方式

下面对本申请的具体实施方式作进一步详细描述。以下详细描述用于示例性地说明本申请的内容，但不能理解为对本申请范围的限制。

5 本文所公开的“范围”以下限和上限的形式来限定，给定范围是通过选定一个下限和/或一个上限进行限定的，选定的下限和上限限定了特别范围的边界。这种方式进行限定的范围可以是包括端值或不包括端值的，并且可以进行任意地组合，即任何下限可以与任何上限组合形成一个范围。例如，如果针对特定参数列出了60-120和80-110的范围，理解为60-110和80-120的范围也是预
10 料到的。此外，如果列出的最小范围值1和2，和如果列出了最大范围值3，4和5，则下面的范围可全部预料到：1-3、1-4、1-5、2-3、2-4和2-5。在本文中，除非有其他说明，数值范围“a-b”表示a到b之间的任意实数组合的缩略表示，其中a和b都是实数。例如数值范围“0-5”表示本文中已经全部列出了“0-5”之间的全部实数，“0-5”只是这些数值组合的缩略表示。另外，当表述某个参数为
15 ≥ 2 的整数，则相当于公开了该参数为例如整数2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12等。

在本文中，如果没有特别的说明，本文所提到的所有实施方式以及优选实施方式可以相互组合形成新的技术方案。

20 在本文中，如果没有特别的说明，本文所提到的所有技术特征以及优选特征可以相互组合形成新的技术方案。

在本文中，如果没有特别的说明，本文所提到的“包括”和“包含”表示开放式，也可以是封闭式。例如，所述“包括”和“包含”可以表示还可以包括或包含没有列出的其他组分，也可以仅包括或包含列出的组分。

25 在本文的描述中，需要说明的是，除非另有说明，“以上”、“以下”为包含本数，“一种或几种”中“几种”的含义是两种及两种以上。

在本文的描述中，除非另有说明，术语“或”是包括性的。举例来说，短语“A或B”表示“A，B，或A和B两者”。更具体地，以下任一条件均满足条件“A或B”：A为真（或存在）并且B为假（或不存在）；A为假（或

不存在)而 B 为真(或存在);或 A 和 B 都为真(或存在)。

本公开的寡核苷酸全自动合成设备主要包括:管路给液系统、反应系统和控制系统。管路给液系统用于通过管路将寡核苷酸反应所需的各种试剂从它们各自的存储设备例如试剂储器(例如试剂瓶)提供给反应系统,这些试剂包括但不限于清洗剂、脱保护剂、中和剂、偶联单元等。如图 1 所示,管路给液系统包括泵送模块 1-1、注液模块 1-3 和移动模块 1-4。试剂储器(图 1 中未示出)与泵送模块 1-1 通过管路连通,泵送模块 1-1 与注液模块 1-3 通过管路连通。为了不影响观察,图 1 中没有画出管路。在一些实施方式中,除了管路给液系统外,本公开的寡核苷酸全自动合成设备还包括非管路给液系统,非管路给液系统包括移液装置,移液装置直接从试剂存储设备移取试剂,并将其注入反应系统,例如注入反应系统中的反应器。也就是说,在移液装置与反应系统之间不存在管路连接方式,这对于用量较少的试剂(例如偶联单元等)尤其有利,避免了试剂浪费。举例而言,移液装置的一种具体形式可以是移液枪,如图 1 中所示的移液枪 1-5。图 1 还示出了反应系统,其示例性地包括 5 个反应模块 1-2。泵送模块 1-1、反应模块 1-2、注液模块 1-3、移动模块 1-4 和移液枪 1-5 将在下文结合相应的附图作更详细的说明。

控制系统(未示出)与管路给液系统、非管路给液系统和反应系统通信连接。所述通信连接包括有线连接和/或无线连接。在控制系统的控制下,泵送模块 1-1 自动从试剂储器抽取试剂,然后输送至注液模块 1-3。注液模块 1-3 与移动模块 1-4 连接,例如安装在移动模块 1-4 上。移动模块 1-4 在控制系统的控制下,自动将注液模块 1-3 移动至与需要注入试剂的反应模块 1-2 对应的位置,例如移动至反应模块 1-2 的上方,从而将试剂注入反应模块 1-2 中的反应器里。移液装置例如移液枪 1-5 也与移动模块 1-4 连接。移动模块 1-4 在控制系统的控制下,自动将移液装置移动至试剂储器,从试剂储器吸取试剂,然后将移动装置移动至与需要注入试剂的反应模块 1-2 对应的位置,例如移动至反应模块 1-2 的上方,从而将吸取的试剂注入反应模块 1-2 中的反应器里。

虽然图 1 中示出了 10 个泵送模块 1-1,但这仅仅是出于举例说明的目的,

本公开的寡核苷酸全自动合成设备所包含的泵送模块 1-1 的数量不受特别限制，例如可以少于 10 个泵送模块 1-1，也可以多于 10 个泵送模块 1-1。在一些实施方式中，泵送模块 1-1 的数量可以根据合成寡核苷酸所需的试剂种类的数量设计，每个泵送模块 1-1 仅输送一种试剂。例如，若合成寡核苷酸需要用到 8 种试剂，则可以设计 8 个泵送模块 1-1。若这 8 种试剂中有 2 种试剂需要用移液装置移取，则可以设计 6 个泵送模块 1-1。虽然本公开的寡核苷酸全自动合成设备可以根据具体要合成的寡核苷酸定制泵送模块和移液装置的数量，但也可以设计通用数量的泵送模块和移液装置。举例而言，可以设计 12 个泵送模块 1-1。若某个具体的寡核苷酸合成反应仅有 6 种试剂需要泵送，则只需启用 12 个泵送模块 1-1 中的 6 个泵送模块 1-1 即可。同样，也可以设计多个（例如 6 个）移液装置，若某个具体的寡核苷酸合成反应仅有 2 种试剂需要通过移液装置移取，则只需启用 6 个移液装置中的 2 个移液装置即可。因此，任何数量的泵送模块和任何数量的移液装置都包括在本申请请求保护的范围之内。在优选的实施方式中，每个泵送模块和每个移液装置各自只输送一种试剂，从而避免了同一泵送模块或移液装置输送不同的试剂所造成的交叉污染。

类似的，图 1 中示出了 5 个反应模块，每个反应模块包括 6 个反应器（反应管）。但是，本公开的寡核苷酸全自动合成设备所包含的反应模块数量、每个反应模块所包含的反应器数量不受特别限制。在一些实施方式中，反应系统可以包括至少 1 个反应模块，例如，1-20 个反应模块，2-15 个反应模块，3-10 个反应模块，4-9 个反应模块，5-8 个反应模块，6-7 个反应模块，例如 2 个、3 个、4 个、5 个、6 个或更多个反应模块。同样，每个反应模块可以包括至少 1 个反应器，例如，1-20 个反应器，2-15 个反应器，3-10 个反应器，4-9 个反应器，5-8 个反应器，6-7 个反应器，例如 2 个、3 个、4 个、5 个、6 个或更多个反应器。因此，任何数量的反应模块和任何数量的反应器都包括在本申请请求保护的范围之内。反应模块和反应器的数量越多，则合成规模越大。因此，本公开的寡核苷酸全自动合成设备可以根据实际合成需要定制反应模块和反应器的数量，也可以设计通用数量的反应模块和反应器，从而根据需要启用全部或者部分反应模块和反应器。由于每个泵送模块和每个移液装置各自只输送

一种试剂，所以不同的反应模块和/或反应器可以进行相同的合成反应，也可以进行不同的合成反应。因此，本公开的寡核苷酸全自动合成设备可以实现从实验室规模到工业规模的全自动寡核苷酸合成，从而具有极大的灵活性，同时可以大幅度提高合成效率。

5 类似的，图 1 中示出了 1 个注液模块 1-3，但在其他实施方式中，也可以设计多个注液模块。任何数量的注液模块都包括在本申请请求保护的范围之内。

在本公开的寡核苷酸全自动合成设备中，泵送模块 1-1、反应模块 1-2、注液模块 1-3 和移液装置（例如移液枪 1-5）可以是固定的，也可以是可拆卸的。在可拆卸的实施方式中，合成设备中可以根据需要只安装一部分泵送模块 1-1、
10 反应模块 1-2、注液模块 1-3 和/或移液装置（例如移液枪 1-5）。泵送模块 1-1、反应模块 1-2、注液模块 1-3、移动模块 1-4 和移液装置（例如移液枪 1-5）不限于图 1 所示的布置方式，而是可以有各种布置方式，只要能够实现本公开的目的即可。

图 2A 是根据本公开的一些实施方式的泵送模块的示意图。泵送模块包括
15 电磁阀 2-1 和电动注射器 2-2。电动注射器 2-2 与电磁阀 2-1 通过管路连接。电磁阀 2-1 包括输入口和输出口（即图中电磁阀 2-1 顶部的两根管路连接口），输入口与试剂储器通过管路连接，输出口与注液模块通过管路连接。泵送模块还包括用于驱动电动注射器 2-2 的驱动部件。例如，在图 2 所示的实施方式中，泵送模块还包括丝杆 2-3、联轴器 2-4 和泵送电机 2-5。泵送电机 2-5 通过联轴器
20 器 2-4 和丝杆 2-3 驱动注射器 2-2，先把注射器 2-2 的活塞向外拉，使试剂通过电磁阀 2-1 的输入口吸入注射器 2-2 内部。然后，电磁阀 2-1 切换通道，泵送电机 2-5 再驱动注射器 2-2，把注射器 2-2 的活塞向内推，从而通过电磁阀 2-1 的输出口泵出，这样就可以实现吸液和供液。泵送模块与控制系统通信连接，例如，电磁阀 2-1 和泵送电机 2-5 与控制系统连接，从而实现自动泵送。

25 图 2A 示出了 6 个电磁阀 2-1 和 6 个电动注射器 2-2。为了不影响观察，仅示出一个电磁阀与一个电动注射器通过管路连接，且仅示出了一个电磁阀上部的两个管路，其中一个通向试剂储器，另一个通向注液模块。但应理解，在本公开的寡核苷酸全自动合成设备的一些实施方式中，可以包括更多的或更少

的电磁阀和电动注射器。例如，可以包括 1-10 个、2-9 个、3-8 个、4-7 个、5-6 个电磁阀和电动注射器。本公开的寡核苷酸全自动合成设备可以根据实际合成需要定制电磁阀和电动注射器的数量，也可以设计通用数量的电磁阀和电动注射器，从而根据需要启用全部或者部分电磁阀和电动注射器（当关闭某个电磁阀时，其对应的电动注射器也将停止吸液和供液的作用）。任何数量的电磁阀和任何数量的电动注射器都包括在本申请请求保护的范围之内。通常，一个电磁阀 2-1 与一个电动注射器 2-2 通过一条管路连接。在一个泵送模块中，泵送电机 2-5 通过丝杆 2-3 和联轴器 2-4 驱动所有的电动注射器 2-2。应当理解，虽然图 2A 中显示 6 个电磁阀并联在一起，但它们也可以不并联在一起，而是可以采用其他任何合适的布置方式。同样应当理解，虽然图 2A 显示 6 个电动注射器排列成圆形，但也可以采用其他任何合适的布置方式。

图 2B 是根据本公开的一些实施方式的泵送模块的局部示意图，其更具体地示出了电磁阀 2-1 的管路连接方式。在图示实施方式中，连接管 2-6 连接注射器 2-2，连接管 2-8 连接试剂储器，连接管 2-7 连接注液模块。此时，电磁阀使连接管 2-8 与连接管 2-6 连通，连接管 2-6 与连接管 2-7 不通。泵送电机驱动注射器 2-2，把注射器 2-2 的活塞向外拉，使试剂从试剂储器通过连接管 2-8 经过电磁阀 2-1 和连接管 2-6 吸入注射器 2-2 内部。然后，电磁阀 2-1 切换通道，使连接管 2-6 与连接管 2-7 接通，而连接管 2-6 与连接管 2-8 不通。然后，泵送电机 2-5 再驱动注射器 2-2，使吸入注射器 2-2 内部的试剂经过电磁阀 2-1 从连接管 2-7 泵出。这样就可以实现吸液和供液。

图 3A 是根据本公开的一些实施方式的移动模块示意图。在一些实施方式中，移动模块包括导轨系统，用于使注液模块 1-3 和移液装置例如移液枪 1-5 做三维移动，从而按照设定程序的控制移动到注液位置。导轨系统可以包括相互垂直的第一导轨、第二导轨和第三导轨。出于方便描述的目的，可以将图中沿 X 轴方向 3-1 的导轨称作第一导轨，沿 Y 轴方向 3-2 的导轨称作第二导轨。沿 Z 轴方向的第三导轨可以包括两组导轨，即沿着注液模块 Z 轴方向 3-3 的注液模块第三导轨和沿着移液装置 Z 轴方向 3-4 的移液装置第三导轨。在一些实施方式中，第二导轨可以构造成能够沿着第一导轨水平移动（即沿着 X 轴方向

移动)；第三导轨(包括注液模块第三导轨和移液装置第三导轨)可以安装在第二导轨上，构造成能够沿着第二导轨水平移动(即沿着Y轴方向移动)。注液模块安装在注液模块第三导轨上，构造成能够沿着注液模块第三导轨上下竖直移动(即沿着Z轴方向移动)。类似的，移液装置(例如图中的移液枪1-5)

5 安装在移液装置第三导轨上，构造成能够沿着移液装置第三导轨上下竖直移动(即沿着Z轴方向移动)。上文所用术语“第一”、“第二”、“第三”、“X轴”、“Y轴”和“Z轴”仅仅是为了描述的方便，并非限定特定的取向。例如，也可以将沿Y轴方向的导轨称作“第一导轨”，而沿另外两个方向的导轨分别称作“第二导轨”和“第三导轨”。第一导轨、第二导轨和第三导轨各自

10 可以包括一组导轨，例如各自可以包括一根或多根导轨。这些导轨的形式不受特别限制，可以是本领域已知的导轨，只要能够实现注液模块和移液装置的三维移动即可。图3A仅显示了一组第一导轨、一组第二导轨、一组注液模块第三导轨和一组移液装置第三导轨，但多组第一导轨、多组第二导轨、多组注液模块第三导轨和/或多组移液装置第三导轨的实施方式也包括在本申请请求保护的范围之内。在本申请说明书和权利要求书中，在未用“注液模块”或“移液装置”限定的情况下，术语“第三导轨”是指注液模块第三导轨和/或移液装置第三导轨。

移动模块还包括驱动装置(未示出)，例如电力驱动装置，用于驱动导轨、注液模块和移液装置移动，从而实现注液模块和移液装置的三维移动。

20 块与控制系统通信连接，在控制系统的控制下，实现注液模块和移液装置的自动三维移动。

图3B是根据本公开的一些实施方式的移液枪的示意图，它是如图3A所示安装在移动模块上的移液枪1-5的放大示意图。如图所示，移液枪1-5包括移液枪主体3-5和移液枪头3-6。移液枪头3-6是可拆卸的，在使用时紧套在移液枪上，接触处无间隙、不漏气。移液时，把移液枪头3-6伸入液面下方，在移液枪内产生真空，把液体试剂吸进移液枪头3-6并保留在枪头内，随后通过

25 移动模块将移液枪移动到注液位置，把移液枪头3-6里的液体试剂吐入反应器，从而完成移液。移液枪可以是市售的电控移液枪，如常用于自动分液仪的移液

枪。移液枪头可放置在枪头盒里，要使用时，移动模块在控制系统的控制下自动将移液枪主体移动至枪头盒位置，并自动套取枪头。移液枪可以控制取液量，并一次取液量可以给一个或多个反应器定量加液。图 3A 示出了 3 个移液枪，但本公开的寡核苷酸全自动合成设备的移液枪数量不受特别限制。可以根据需要定制特定数量的移液枪；也可以设计通用数量的移液枪，而在合成过程中根据需要使用全部或部分移液枪。可以用一个移液枪依次给多个反应器加液，也可以用多个移液枪同时给多个反应器加液。为了避免交叉污染，优选一个移液枪只加一种试剂。

图 4A 是根据本公开的一些实施方式的反应模块的示意图。反应模块包括反应器。在图 4A 中，反应器是反应管 4-1 的形式，其基本上呈圆柱形或者呈圆柱形。应当理解，反应器也可以是其他形状，例如长方体形、六边体形或其他多边形，只要适用于寡核苷酸的合成即可。在优选的实施方式中，反应器为反应管形式。如图 4A 所示，反应管 4-1 安装在反应管过渡套 4-2 内。安装在反应管过渡套 4-2 内的反应管 4-1 放置在反应管座 4-7 上。

反应模块还可包括振摇机构，该振摇机构包括第一组运动导轨 4-4 和第二组运动导轨 4-5。在一些实施方式中，两组运动导轨相互垂直。每组运动导轨包括至少一根导轨。在图 4A 中，第一组运动导轨 4-4 包括两根导轨，其中图中右侧导轨仅示出一部分。第二组运动导轨 4-5 也包括两根导轨，其中仅示出一侧的导轨，另一侧的导轨未示出。应当理解，导轨的数量不受特别限制，任何数量的导轨都包括在本申请请求保护的范围内。第一组运动导轨 4-4 上设置有第一支承板，第二组运动导轨 4-5 上设置有第二支承板，第二组运动导轨 4-5 位于第一支承板与第二支承板之间，反应管 4-1 安装在第二支承板上。振摇机构还包括振摇电机 4-8。在控制系统的控制下，振摇电机 4-8 驱动第一支承板和第二支承板沿第一组运动导轨 4-4 和第二组运动导轨 4-5 运动，从而使反应管 4-1 有规律地晃动。

反应模块还可包括加热保温装置，该加热保温装置包括加热器（例如如图 4A 所示的加热棒 4-6）和传热风扇 4-3。加热棒 4-6 用于给整个反应模块内的反应器（如图 4A 所示的反应管 4-1）加热，传热风扇 4-3 使各反应器内部热量均匀

分布。加热保温装置还包括温度传感器，用于监测反应器的温度。在控制系统的控制下，反应模块能够自动加热和保温，从而实现温度闭环控制。

反应模块还可包括惰性气体管道（未示出），其与反应模块中的所有反应器并联，通向各反应器的惰性气体可以单独控制。惰性气体可包括氮气、氩气、氦气等能够给反应器内部提供惰性气氛的气体，通常使用氮气。往反应管里鼓吹一定压力的干燥氮气，填充的氮气会占据反应管的有限空间，把反应管里的有限空气排挤出反应管外，实现空气隔绝。氮气的压力不能过大，流速不可过快，否则会吹翻反应管里面的固体，甚至把它吹到管壁上。因此，氮气的压力和流速都设置成可以调节的。在控制系统的控制下，氮气的压力和流速可自动调节。

反应模块还可包括负压组件（未示出）。所述负压组件与反应器底部的出液口连通，另一端连接带有真空泵的真空腔，从反应器排液时，排出的液体先到真空腔，再通过真空泵排出设备外。通过负压组件把反应后的剩余液体和清洗液抽排出反应器，实现负压排液。

本公开通过上述各部件的振摇、加热保温、空气隔绝、负压排液，可以营造良好的反应条件。

图 4B 是根据本公开的一些实施方式反应管 4-1、反应管过渡套 4-2 和反应管座 4-7 的分解示意图，图 4C 是反应管 4-1、反应管过渡套 4-2 和反应管座 4-7 组装成的组装件的示意图，图 4D 是该组装件的透视图。通过设计反应管过渡套 4-2，本公开的反应模块可以兼容不同规格的反应管。具体而言，反应模块可以统一设计固定规格的容纳反应管的腔室，反应管过渡套的外部形状和尺寸可以设计成恰好能置于所述腔室，而内部形状和尺寸可以设计成不同规格以容纳不同规格的反应管。例如，图 1 和图 4A 各呈现了三种规格的反应管和对应的三种规格的反应管过渡套。不同规格的反应管 4-1 借助于反应管过渡套 4-2 都可以放到设备上使用，设备都可以兼容。不同规格的反应管都有专属配套的过渡套。过渡套内设有置第一密封圈 4-9。反应管放到过渡套里面时，第一密封圈 4-9 起到密封的作用，使反应管和过渡套密封成为一个整体。应当理解，图 4B 仅以反应管 4-1 和反应管过渡套 4-2 作为示例，对于任何反应器

都可以设计相应的反应器过渡套。

如图 4B 和 4C 所示，反应管座 4-7 设置有正压供气口 4-12 和废液排出口 4-11，两个口分别由两个电磁阀来控制开合。反应时，废液排出口 4-11 的电磁阀闭合不通，供气口 4-12 打开，使正压气体进入管座。管座内设置有第二密封圈 4-10。由于第二密封圈 4-10 的作用，气体往上进入反应管过渡套，再由于第一密封圈 4-9 的作用，气体顺利进入反应管内部。反应结束后，供气口 4-12 关闭，连接真空的废液排出口 4-11 打开，废液从废液排出口 4-11 流出，废液排干净后再闭合。

图 5A 是根据本公开的一些实施方式的注液口分布示意图。仅仅出于示例的目的，该图示出了 6 个注液口，每个注液口包括 10 个开孔。6 个注液口对应于一个反应模块中的 6 个反应器（反应管）。每个注液口与一个反应器（反应管）的入口对应，使得通过该注液口中每个开孔的试剂都能经该入口进入反应器（反应管）。10 个开孔可供注入 10 种试剂。利用图示注液模块，可以将同一种试剂最多同时注入 6 个反应器。举例而言，如图 5A 所示，若将对应于第一个反应管（1 号反应管）的第一个注液口中的 10 个开孔依次编号为 5-1-1 至 5-1-10 号开孔，它们可相应于注入第一种试剂（1 号试剂）至第十种试剂（10 号试剂）。同样，图中标出的第二个注液口中的第 5-2-1 号开孔和第 5-2-10 号开孔对应于第二个反应管（2 号反应管），第六个注液口中的第 5-6-1 号开孔和第 5-6-10 号开孔对应于第六个反应管（6 号反应管）（其他开孔可类似编号，但为了不干扰观察，其他开孔编号没有在图中标出）。第 5-2-1 号开孔和第 5-6-1 号开孔可供注入 1 号试剂，第 5-2-10 号开孔和第 5-6-10 号开孔可供注入 10 号试剂。

图 5B 是根据本公开的一些实施方式的注液模块的示意图。如图所示，每个开孔中插入注液接头，接头上端连接试剂输送管路，下端为圆柱形或针形注液管。应当理解，一个注液模块可以包括多于 6 个或少于 6 个注液口，每个注液口可以包括多于 10 个或少于 10 个开孔，相应地可以包括多于 10 个或少于 10 个注液接头。每个注液口中的开孔也不一定如图 5A 那样排布。开孔的排布方式不是关键的，也不受特别限制，只要保证当注液模块处于注液位置时每个

注液接头的注液管能插入反应器入口。任何数量的注液口、任何数量的开孔和开孔的任何排布方式都在本申请请求保护的范围内。应当理解，对于具体的寡核苷酸合成反应，不一定每个注液口和/或每个开孔都需要投入使用。因此，就注液口和开孔的数量而言，可以针对具体的寡核苷酸合成反应定制，也可以设计通用注液模块。

在本公开的寡核苷酸全自动合成设备的优选实施方式中，每种试剂通过单独的路径输送至反应器。对于使用非管路给液系统，例如使用移液枪移取试剂而言，每种试剂采用独立的移液枪。对于管路给液系统，举例而言，对于某个寡核苷酸合成反应，若每个反应模块采用如图 1 和 4A 所示的 6 个反应器，每个反应器进行相同的合成反应，则每种试剂需要分成 6 路进入这 6 个反应器。在一种实施方式中，可以将 6 条管线接入同一试剂储器，每条管线的另一端接入如图 2A 所示的泵送模块中的一个电磁阀（如图 2B 所示），每个电磁阀的出口管线连接如图 5B 所示的一个注液口中的一个注液接头，使得 6 个电磁阀的出口管线分别连接 6 个注液口中的一个注液接头，这样就能将同一种试剂同时分别注入 6 个反应器。在这种实施方式中，一个试剂储器可以包括 6 个出口，每个出口连接 1 条管线；也可以将 6 条管线集中在一起接入试剂储器的 1 个出口。当然，也可以采用其他连接方式。这些连接方式都包括在本申请请求保护的范围内。

对于上面所列举的合成反应，在另一种实施方式中，可以将 1 条管线接入一个试剂储器，该管线的另一端接入如图 2A 所示的泵送模块中的一个电磁阀（如图 2B 所示），该电磁阀的出口管线连接一个分流阀（例如分流电磁阀，未示出），将该试剂分成 6 路，每路管线连接如图 5B 所示的一个注液口中的一个注液接头，从而将同一种试剂同时分别注入 6 个反应器。

本公开的寡核苷酸全自动合成设备还包括控制系统。该控制系统包括可商购的硬件（例如存储器、监视器、处理器等）以及软件（例如编程软件）等。本领域技术人员可以根据本公开的合成设备需要实现的控制功能进行编程。

本公开的利用寡核苷酸全自动合成设备合成寡核苷酸的方法包括：

- a. 清洗反应器;
- b. 向反应器加入脱保护剂进行脱保护反应;
- c. 清洗反应器;
- d. 向反应器加入中和剂进行中和反应;
- 5 e. 清洗反应器;
- f. 向反应器加入偶联单元;
- g. 进行偶联反应,

其中在控制系统的控制下,循环执行步骤 a 至步骤 g 直至获得所需的寡核苷酸,其中该方法包括在控制系统的控制下,利用移动模块自动移动注液模块,将试剂注入反应器。对于用量较少的试剂或者不稳定的试剂等,所述合成寡核苷酸的方法还包括在控制系统的控制下,利用移液装置移取试剂注入反应器。

在利用本公开的寡核苷酸全自动合成设备合成寡核苷酸的方法中,所述寡核苷酸全自动合成设备包括多个反应模块,在一个反应模块执行完步骤 f 之后并执行步骤 g 期间,对下一个反应模块执行步骤 a 至步骤 f,直至所需数量的反应模块均执行步骤 a 至步骤 f。这样可以显著提高合成效率。

清洗、脱保护反应、中和反应和偶联反应中的一个或多个过程涉及以下一个或多个在控制系统控制下的操作:

- 使反应器振摇;
 - 将反应器加热至预定温度并保持在该预定温度;
 - 20 向反应器鼓吹氮气以隔绝空气。
- 在本公开中,寡核苷酸包括但不限于吗啉代反义寡核苷酸。

在步骤 a 中,可以先用二氯甲烷(DCM)清洗,再用 30%三氟乙醇(TFE)/二氯甲烷(DCM)清洗。这些清洗剂可以使用注液模块添加。在一些实施方式中,用它们各清洗 30 秒至 5 分钟,例如 30 秒至 4 分钟,1 分钟至 3 分钟。

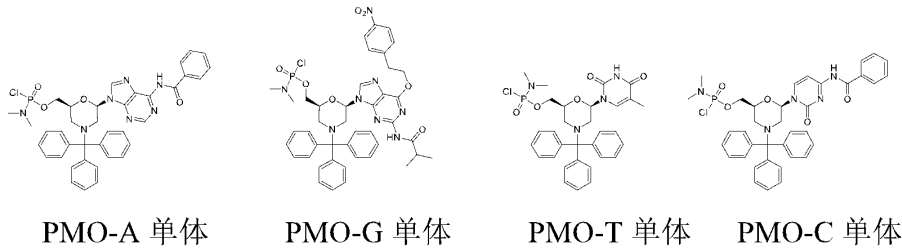
- 25 在步骤 b 中,脱保护剂可以为三氟乙酸(TFA)和 4-氰基吡啶的三氟乙醇(TFE)/二氯甲烷溶液(CYTFA)。脱保护剂可以使用注液模块添加。脱保护反应持续 10 分钟至 20 分钟,例如 12 分钟至 18 分钟,14 分钟至 16 分钟,15 分钟。

在步骤 c 中，可以用二氯甲烷（DCM）清洗。清洗剂可以使用注液模块添加。可以清洗 30 秒至 5 分钟，例如 30 秒至 4 分钟，1 分钟至 3 分钟。

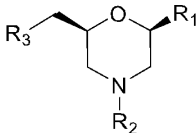
在步骤 d 中，中和剂为 N,N-二异丙基乙基胺（DIEA）、异丙醇和二氯甲烷的混合溶液。中和剂可以使用注液模块添加。中和反应可以持续 30 秒至 5 分钟，例如 30 秒至 4 分钟，1 分钟至 3 分钟。

在步骤 e 中，可以先用二氯甲烷清洗，然后用 1,3-二甲基-2-咪唑烷酮(DMI)清洗。清洗剂可以使用注液模块添加。可以各清洗 30 秒至 5 分钟，例如 30 秒至 4 分钟，1 分钟至 3 分钟。

在步骤 f 中，可以向反应器中加入 10 体积% N-乙基吗啉（NEM）的 1,3-二甲基-2-咪唑烷酮（DMI）溶液和 0.1M 吗啉代反义寡核苷酸（PMO）单体的 1,3-二甲基-2-咪唑烷酮（DMI）溶液。示例性 PMO 单体如下所示：



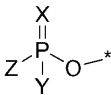
在一些实施方式中，PMO 可用以下通式表示：



其中：R₁ 表示天然嘌呤和嘧啶碱基(例如腺嘌呤、尿嘧啶、鸟嘌呤、胞嘧啶和胸腺嘧啶)的修饰形式，其修饰的类似物及其受保护的衍生物；

R₂ 表示氢或三苯甲基等；

R₃ 表示酰胺或亚胺，可用如下述通式表示的基团：



其中：X 表示氧或硫；Y 表示二烷基氨基或烷氧基；Z 表示氯。

它们可以都使用移液装置添加。

在步骤 g 中，反应可以持续 2 小时至 4 小时，例如 3 小时。

本公开的寡核苷酸合成装置具有以下有益效果：

- 5 (1) 本公开的寡核苷酸合成装置提高了化学合成的质量。本公开提出针对单个反应管实行多通道独立给液的技术，防止共用管路造成残留试剂交叉污染，从而全面提高所有反应管内的合成质量。本公开采用移液装置（移液枪）移取单体，替代传统的钢针给液方式，从根本上解决了钢针挂液、钢针结晶等影响合成质量的问题。
- 10 (2) 本公开的寡核苷酸合成装置提高了化学合成的反应效率。本公开通过反应全程惰性气体搅拌、平行振摇、恒温气体浴功能，实现了反应管内全方位、无死角的充分搅拌，从根本上解决了现有技术中由于反应试剂搅拌不均、空气进入导致试剂变质等因素导致的反应效率低下的问题。
- 15 (3) 本公开的寡核苷酸合成装置实现了多个反应管内反应质量的一致性。通过对整个生产流程进行编程设计，实现高度自动化，使整个工艺过程按照既定的工艺进行，降低生产过程中人为失误发生的概率。本公开利用高精度给液、排液模块和可调节独立进气管路，保证每个反应管能够获得均等的反应试剂和惰性气体，反应试剂能够均匀且同时进入到各个反应管内，加上同时存在的恒温空气浴和振摇，保证了各个反应管内的反应试剂均等的接触时间和搅拌速度，也保证了各个反应管均匀的合成质量。反应管内均匀的合成质量保障了下游合成时所有片段的完整性和准确性，进而保障了合成的质量和效率。本文所述的“全自动”是指从试剂储器取液、试剂在管路中的递送、将试剂注入反应器、反应器的加热（包括加热棒和风扇的工作）和振摇、惰性气体的输送、废液的排放等各种操作在控制系统的控制下自动进行，但并不排除手工配制试剂、手动输入参数等必要的人工干预。
- 20 (4) 本公开的寡核苷酸合成装置从给液方式、腔体大小、排液方式以及搅拌方式等方面，实现了高质量、高效率的寡核苷酸合成，对于高通量柱法合成仪具有突破性的创新价值。

实施例

以下通过具体实施例对本公开进行更详细说明。以下实施例仅用于说明性目的，而非意在以任何方式限制本公开。本领域技术人员容易识别可以进行改变或修改以产生基本上相同结果的各种非关键参数。

5 在下述实施例中，所用到的试剂、材料如没有特别说明，均可商购获得或合成获得。

实施例 1 吗啉代反义寡核苷酸全自动合成设备

本实施例中的吗啉代反义寡核苷酸全自动合成设备包括 10 个泵送模块，
10 因此最多可供泵送 10 种试剂。每个泵送模块包括 6 个电磁阀和 6 个电动注射器。反应系统包括 5 个反应模块，每个反应模块包括 6 个反应管，因此总共有 30 个反应管可供同时使用。该设备包括 3 个移液枪和一个枪头盒，枪头盒里放有所需用的枪头，一个枪头对应一种试剂瓶，3 个移液枪可同时加液。该设备包括一个注液模块，该注液模块包括 6 个注液口，每个注液口包括 10 个开孔
15 和相应的 10 个注液接头（如图 5A 和 5B 所示）。注液口的数量与反应管的数量对应（即相等）；开孔数量（注液接头数量）与泵送模块数量对应（相等），也与最多能泵送的试剂种类数量对应（相等）。这样能保证每种试剂通过一条独立的管路送入一个反应管。

20 实施例 2 吗啉代反义寡核苷酸的全自动合成

利用实施例 1 中的吗啉代反义寡核苷酸全自动合成设备合成吗啉代反义寡核苷酸。具体步骤如下：

- （1）在控制系统上设定好运行的程序步骤。
- （2）将溶胀好的树脂通过进料口投入反应管中，用作吗啉代反义寡核苷
25 酸合成载体；配制好各种试剂。
- （3）输入所需的参数，包括时间、温度、振摇的频率和幅度、各试剂的加液量。
- （4）输入要合成的寡核苷酸序列信息、主循环长度、子循环长度，保存

为合成方案，点击开始按钮，即可自动工作，同时控制系统执行设定参数以及设备状态跟踪和异常处置。

运行程序如下：

a. DCM 清洗：

- 5 移动模块带动注液模块移动，向一个反应模块的 6 个反应管同时加入 DCM。加入完成后，移动模块升起，反应模块启动，按照预设好的参数进行振摇，同时开启加热装置加热到设定温度（25℃），鼓吹氮气隔绝空气。按照预设好的时间，持续振摇 1 分钟，停止鼓吹氮气，通过真空泵产生负压，将反应管的液体排到废液桶。

10 b. 30%TFE/DCM 清洗：

- 移动模块带动注液模块移动，向反应模块的 6 个反应管同时加入 30%TFE/DCM。加入完成后，移动模块升起，反应模块启动，按照预设好的参数进行振摇，同时开启加热装置加热到设定温度（25℃），鼓吹氮气隔绝空气。按照预设好的时间，持续振摇 1 分钟，停止鼓吹氮气，通过真空泵产生负压，
15 将反应管的液体排到废液桶。该步骤重复两次。

c. 脱保护：

- 移动模块带动注液模块移动，向反应模块的 6 个反应管同时加入 CYTFA 溶液。加入完成后，移动模块升起，反应模块启动，按照预设好的参数进行振摇，开启加热装置加热到设定温度（25℃），鼓吹氮气隔绝空气。按照预设好
20 的时间，持续振摇 15 分钟，停止鼓吹氮气，通过真空泵产生负压，将反应管的液体排到废液桶。该步骤重复两次。

d. DCM 清洗：

- 移动模块带动注液模块移动，向反应模块的 6 个反应管同时加入 DCM。加入完成后，移动模块升起，反应模块启动，按照预设好的参数进行振摇，开
25 启加热装置加热到设定温度（25℃），鼓吹氮气隔绝空气。按照预设好的时间，持续振摇 1 分钟，停止鼓吹氮气，通过真空泵产生负压，将反应管的液体排到废液桶。

e. 中和：

移动模块带动注液模块移动，向反应模块的 6 个反应管同时加入中和溶液。（N,N-二异丙基乙基胺、异丙醇、二氯甲烷的混合溶液）。加入完成后，移动模块升起，反应模块启动，按照预设好的参数进行振摇，开启加热装置加热到设定温度（25℃），鼓吹氮气隔绝空气。按照预设好的时间，持续振摇 1 分钟，停止鼓吹氮气，通过真空泵产生负压，将反应管的液体排到废液桶。该步骤重复两次。

f. DCM 清洗：

移动模块带动注液模块移动，向反应模块的 6 个反应管同时加入 DCM。加入完成后，移动模块升起，反应模块启动，按照预设好的参数进行振摇，开启加热装置加热到设定温度（25℃），鼓吹氮气隔绝空气。按照预设好的时间，持续振摇 1 分钟，停止鼓吹氮气，通过真空泵产生负压，将反应管的液体排到废液桶。该步骤重复两次。

g. DMI 清洗：

移动模块带动注液模块移动，向反应模块的 6 个反应管同时加入 DMI，加入完成后，移动模块升起，反应模块启动，按照预设好的参数进行振摇，开启加热装置加热到设定温度（25℃），鼓吹氮气隔绝空气。按照预设好的时间，持续振摇 1 分钟，停止鼓吹氮气，通过真空泵产生负压，将反应管的液体排到废液桶。

h. 反应：

移动模块带动移液枪，移取 10% NEM/DMI(V:V)溶液，加入反应管中。根据合成方案，用移液枪移取不同的 PMO 单体溶液，加入到对应的反应管中。

加入完成后，移动模块升起，反应模块启动，按照预设好的参数进行振摇，开启加热装置加热到设定温度（35℃），鼓吹氮气隔绝空气。按照预设好的时间，持续振摇 3 小时。反应结束后，停止鼓吹氮气，通过真空泵产生负压，将反应管的液体排到废液桶。

上述步骤为一个子循环。完成设定好的子循环数后提示配制试剂。人工配制好所需试剂后，点击继续运行按钮，反应设备按照输入的序列信息进行设定好的子循环。重复子循环至主循环完成合成，显示面板提示合成完成，取出样

品。

取出样品，将样品用 1,3-二甲基吡咯烷酮（NMP）清洗，然后将样品放入反应器中，加入 1,8-二氮杂二环[5.4.0]十一碳-7-烯（DBU）和二硫苏糖醇（DTT）的 1,3-二甲基吡咯烷酮（NMP）溶液，35℃反应 5 小时，将吗啉代反义寡核苷酸合成物从载体上切割下来。然后过滤，收集滤液。将滤液加入含有 25%氨水的闷罐中，55℃反应 16 小时，去除吗啉代反义寡核苷酸合成物上的保护基团。

反应结束后，恢复到室温，取样进行色谱分析，结果如图 6 所示，其中保留时间为 11.253 分钟的主峰为吗啉代反义寡核苷酸，由积分结果可知，所得吗啉代反义寡核苷酸粗品纯度为 62-63%。

10

在本公开提及的所有文献都在本申请中引用作为参考，就如同每一篇文献被单独引用作为参考那样。此外应理解，在阅读了本公开的上述讲授内容之后，本领域技术人员可以对本公开作各种改动或修改，这些等价形式同样落于本申请所附权利要求书所限定的范围。

权 利 要 求 书

1. 一种寡核苷酸全自动合成设备，其特征在于，所述设备包括：管路给液系统、反应系统和控制系统，其中管路给液系统包括泵送模块（1-1）、移动模块（1-4）和注液模块（1-3），其中注液模块（1-3）安装在移动模块（1-4）上，移动模块（1-4）构造成使注液模块（1-3）能够三维移动，从而给反应系统注液；控制系统与管路给液系统和反应系统通信连接，用于控制给液和反应；所述设备优选还包括非管路给液系统，非管路给液系统包括移液装置（1-5），移液装置（1-5）优选安装在移动模块（1-4）上，用于给反应系统注液。
- 10
2. 根据权利要求 1 所述的寡核苷酸全自动合成设备，其特征在于，反应系统包括至少 1 个反应模块（1-2），优选至少 2 个反应模块（1-2），例如 3 个、4 个、5 个或 6 个反应模块（1-2）；每个反应模块（1-2）包括至少 1 个反应器，优选至少 2 个反应器（4-1），例如 3 个、4 个、5 个或 6 个反应器（4-1）；每个反应器（4-1）任选地安置在过渡套（4-2）中；所述反应模块（1-2）优选包括振摇机构，所述振摇机构优选包括运动导轨，更优选包括两组运动导轨（4-4，4-5），其构造成使反应器（4-1）摇动。
- 15
3. 根据权利要求 2 所述的寡核苷酸全自动合成设备，其特征在于，所述设备包括一个或多个注液模块（1-3），每个注液模块（1-3）包括用于给反应器（4-1）注液的注液口，优选每个注液模块（1-3）的注液口数量与每个反应模块（1-2）的反应器（4-1）数量相等。
- 20
4. 根据权利要求 1 或 2 所述的寡核苷酸全自动合成设备，其特征在于，移动模块（1-4）包括相互垂直的第一导轨、第二导轨和第三导轨，第二导轨构造成能够沿着第一导轨水平移动；第三导轨安装在第二导轨上，构造成能够沿着第二导轨水平移动；注液模块（1-3）安装在第三导轨上，构造成能够沿着第三导轨上下竖直移动。
- 25

5. 根据权利要求 1 或 2 所述的寡核苷酸全自动合成设备，其特征在于，泵送模块（1-1）包括电动注射器（2-2）和电磁阀（2-1），其中电动注射器（2-2）与电磁阀（2-1）通过管路连接，电磁阀（2-1）包括输入口和输出口，输入口与试剂储器通过管路连接，输出口与注液模块（1-3）通过管路连接；

所述设备优选包括多个试剂储器，其中至少一部分试剂储器中的每个试剂储器包括一个或多个试剂出口，每个试剂出口通过管路与一个电磁阀（2-1）的输入口连接；

- 10 优选至少一个试剂储器仅包括一个试剂出口，该试剂出口与一个电磁阀（2-1）的输入口连接，并且在该电磁阀（2-1）的输出口与注液模块（1-3）之间存在分流装置，分流装置包括一个分流装置入口和多个分流装置出口，该分流装置入口与电磁阀（2-1）的输出口通过管线连接，每个分流装置出口与一个注液口通过管线连接；

- 15 优选所述多个试剂储器中的至少一个试剂储器构造成供移液装置（1-5）移取试剂。

6. 一种利用寡核苷酸全自动合成设备合成寡核苷酸的方法，包括：
- a. 清洗反应器（4-1）；
 - b. 向反应器（4-1）加入脱保护剂进行脱保护反应；
 - 20 c. 清洗反应器（4-1）；
 - d. 向反应器（4-1）加入中和剂进行中和反应；
 - e. 清洗反应器（4-1）；
 - f. 向反应器（4-1）加入偶联单元；
 - g. 进行偶联反应，
- 25 其中在控制系统的控制下，循环执行步骤 a 至步骤 h 直至获得所需的寡核苷酸，其中该方法包括在控制系统的控制下，利用移动模块（1-4）移动注液模块（1-3），将试剂注入反应器（4-1），优选还包括在控制系统的控制下，利用移液装置（1-5）移取试剂注入反应器（4-1），其中注液模块（1-3）和移液装

置 (1-5) 用于注入不同的试剂。

7. 如权利要求 6 所述的方法, 其中寡核苷酸全自动合成设备包括多个反应模块 (1-2), 在一个反应模块 (1-2) 执行完步骤 f 之后并执行步骤 g 期间,
- 5 对下一个反应模块 (1-2) 执行步骤 a 至步骤 f, 直至所需数量的反应模块 (1-2) 均执行步骤 a 至步骤 f。

8. 如权利要求 7 所述的方法, 其中清洗、脱保护反应、中和反应和偶联反应中的一个或多个过程、优选所有过程涉及以下一个或多个在控制系统控制下的操作:
- 10

使反应器 (4-1) 振摇;

将反应器 (4-1) 加热至预定温度并保持在该预定温度;

向反应器 (4-1) 鼓吹氮气以隔绝空气。

- 15 9. 如权利要求 6 所述的方法, 其中寡核苷酸为吗啉代反义寡核苷酸。

10. 如权利要求 9 所述的方法, 其包括以下至少一项:

在步骤 a 中, 先后用二氯甲烷和 30%三氟乙醇/二氯甲烷清洗, 优选使用注液模块 (1-3) 添加, 优选各清洗 30 秒至 5 分钟, 例如 1 分钟;

- 20 在步骤 b 中, 脱保护剂为三氟乙酸和 4-氰基吡啶的三氟乙醇/二氯甲烷溶液, 优选使用注液模块 (1-3) 添加, 优选反应 10 分钟至 20 分钟, 例如 15 分钟;

在步骤 c 中, 用二氯甲烷清洗, 优选使用注液模块 (1-3) 添加, 优选清洗 30 秒至 5 分钟, 例如 1 分钟;

- 25 在步骤 d 中, 中和剂为 N,N-二异丙基乙基胺、异丙醇和二氯甲烷的混合溶液, 优选使用注液模块 (1-3) 添加, 优选反应 30 秒至 5 分钟, 例如 1 分钟;

在步骤 e 中, 先后用二氯甲烷和 1,3-二甲基-2-咪唑烷酮清洗, 优选使用注液模块 (1-3) 添加, 优选各清洗 30 秒至 5 分钟, 例如 1 分钟;

在步骤 f 中，向反应器（4-1）中加入 10 体积% N-乙基吗啉的 1,3-二甲基-2-咪唑烷酮溶液和 0.1M 吗啉代反义寡核苷酸单体的 1,3-二甲基-2-咪唑烷酮溶液，优选均使用移液装置（1-5）添加；

在步骤 g 中，反应持续 2 小时至 4 小时，例如 3 小时。