

(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
2016 年 1 月 7 日(07.01.2016)



(10) 国際公開番号
WO 2016/001979 A1

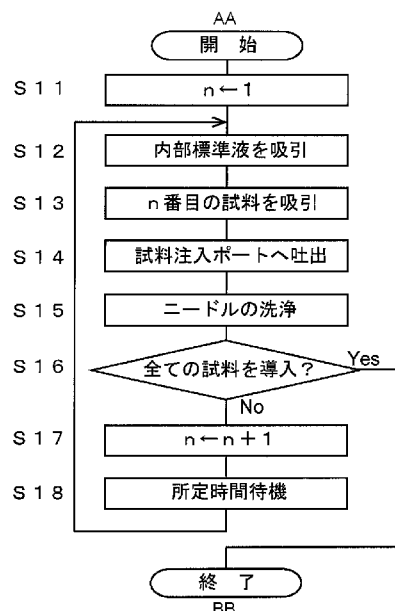
- (51) 国際特許分類:
G01N 1/00 (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2014/067409
- (22) 国際出願日: 2014 年 6 月 30 日(30.06.2014)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (71) 出願人: 株式会社島津製作所 (SHIMADZU CORPORATION) [JP/JP]; 〒6048511 京都府京都市中京区西ノ京桑原町 1 番地 Kyoto (JP).
- (72) 発明者: 箕畑 俊和(MINOHATA, Toshikazu); 〒6048511 京都府京都市中京区西ノ京桑原町 1 番地 株式会社島津製作所内 Kyoto (JP).
- (74) 代理人: 特許業務法人京都国際特許事務所 (KYOTO INTERNATIONAL PATENT LAW OFFICE); 〒6008091 京都府京都市下京区東洞院通四条下ル元恵王子町 3 7 番地 豊元四条烏丸ビル Kyoto (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, LT, 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, SC, 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, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, 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: AUTOMATIC SAMPLE INTRODUCTION APPARATUS, SAMPLE INTRODUCTION METHOD, AND PROGRAM

(54) 発明の名称: 自動試料導入装置、試料導入方法、及びプログラム



S12 Draw in internal standard solution
S13 Draw in n^{th} sample
S14 Discharge to sample injection port
S15 Clean needle
S16 Have all samples been introduced?
S18 Wait for prescribed time
AA Start
BB End

(57) Abstract: When a sample and internal standard substance are introduced into an analysis device, the following steps are executed: an internal standard solution suction step (S12) for introducing the tip of a tubular needle into an internal standard solution container and drawing in, from the tip, a prescribed amount of an internal standard solution, which is a solution including the internal standard substance, that is accommodated in the internal standard solution container; a sample solution suction step (S13) for introducing the tip into a sample solution container and drawing in, from the tip, a prescribed amount of a sample solution that is accommodated in a sample solution container; and a discharge step (S14) for thereafter inserting the tip into an injection port communicating with a flow path to the analysis device and discharging the sample solution and internal standard solution from the tip. Here, drawing in the internal standard solution from the same internal standard solution container in each of a plurality of sample introductions makes it possible to limit the internal standard solution consumed in a single sample introduction to the minimum amount to be used for analysis.

(57) 要約: 分析装置に試料及び内部標準物質を導入するに際し、管状のニードルの先端を内部標準液容器に挿入し、該先端から該内部標準液容器に収容された内部標準物質を含む液体である内部標準液を予め定められた量吸引する内部標準液吸引工程 (S12) と、該先端を試料液容器に挿入し、該先端から該試料液容器に収容された試料液を予め定められた量吸引する試料液吸引工程 (S13) とを実行した後、該先端から前記試料液及び前記内部標準液を吐出する吐出工程 (S14) を実行する。このとき、複数回の試料導入においてそれぞれ同一の内部標準液容器から前記内部標準液を吸引することにより、1 回の試料導入で消費される内部標準液を分析に供される最小限の量に抑えることが可能となる。

添付公開書類:

— 国際調査報告 (条約第 21 条(3))

明 細 書

発明の名称：自動試料導入装置、試料導入方法、及びプログラム
技術分野

[0001] 本発明は、自動試料導入装置、試料導入方法、及びプログラムに関する。

背景技術

[0002] 近年、フェニルケトン尿症等の先天性代謝疾患の早期発見を目的として、新生児から採取した血液サンプルを質量分析装置で分析して疾患の指標物質を定量する新生児マススクリーニングと呼ばれる検査が広く行われている（例えば特許文献1を参照）。新生児マススクリーニングでは、まず医療機関等において、被検者である新生児の血液を濾紙に少量染み込ませて乾燥させる。そして、検査機関において検査担当者が前記濾紙の血液含浸箇所をパンチング（切り出し）してサンプルプレート（例えば96穴マイクロプレート）上の1つのウェル（サンプル収容用の凹部）に収容する。なお、新生児マススクリーニングでは、通常、多数のサンプルを連続的に質量分析するため、前記サンプルプレートの各ウェルにはそれぞれ異なる被験者から採取した血液を含む濾紙が収容される。続いて、前記濾紙が収容された各ウェルに内部標準物質を含む溶液（内部標準液）を一定量ずつ添加して、濾紙中の血液成分を該溶液中に抽出する。その後、各ウェル中の溶液（以下「試料・内部標準混合液」とよぶ）を別のサンプルプレートの各ウェルに移し、該サンプルプレートを自動試料導入装置（オートサンブラ）にセットする。これにより、該自動試料導入装置により各ウェル中の試料・内部標準混合液が順次採取されて質量分析装置に導入される。

[0003] 従来の自動試料導入装置による試料導入の手順について図13及び図14を用いて説明する。まず、自動試料導入装置の内部に設けられたニードル316の先端がサンプルプレート311のウェル312に挿入される。このとき、2つの流路切替バルブ322、323に設けられたポートa～lは図13で示すように連通した状態となっている。すなわち、ニードル316及び

その基端に接続されたサンプルループ 3 1 8 は、流路切替バルブ 3 2 2 を介して計量ポンプ 3 1 9 に接続されている。続いて、計量ポンプ 3 1 9 の働きによりウェル 3 1 2 内の試料・内部標準混合液がニードル 3 1 6 の先端から所定量吸引される。

[0004] 次に、ニードル 3 1 6 の先端を注入ポート 3 2 0 に挿入すると共に流路切替バルブ 3 2 2 による流路の切り替えを行う。これにより、流路切替バルブ 3 2 2 に設けられたポート a ~ f は図 1 4 で示すように連通した状態となる。すなわち、ニードル 3 1 6 及びサンプルループ 3 1 8 が、キャリア液体リザーバ 3 2 4 から質量分析装置 (MS) へと至るキャリア液体流路の流れに介挿される。その結果、ニードル 3 1 6 及び／又はサンプルループ 3 1 8 中に保持されていた試料・内部標準混合液がキャリア液体によって押し流され、質量分析装置に導入される。

[0005] 質量分析装置では、導入された試料・内部標準混合液中の各成分がイオン化され、質量毎に分離されて検出される。これにより、横軸を質量電荷比 (m/z)、縦軸を信号強度とするマススペクトルが生成され、該マススペクトル上における疾患指標物質の信号強度と内部標準物質の信号強度との比に基づいて、前記疾患指標物質が定量される。そして、この定量値が予め定められた閾値を超えた場合に陽性と判定される。

先行技術文献

特許文献

[0006] 特許文献1：特表2011-511276号公報

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0007] ところで、上記の内部標準物質には、定量対象の物質に類似した特性を有し、マススペクトル上で定量対象物質のピークに近く且つ該ピークと分離可能な位置にピークを持つ物質を用いる必要がある。そこで、上記の新生児マススクリーニングにおける内部標準物質としては、疾患指標物質である所定

のアミノ酸又は所定のアシルカルニチンの一部を安定同位体で置換したものが使用される。しかしながら、これらは一般に製造コストが高く高価である。新生児マススクリーニングでは一度の質量分析で多くの疾患を検査できるよう、上述の内部標準液として複数の疾患指標物質に対応した複数種類（例えば20種類）の内部標準物質を混合したものが使用されており、前記内部標準液のコストが検査コストを押し上げる一因となっている。そのため、1回の検査で使用する内部標準液の量を低減することが求められている。

[0008] なお、ここでは新生児マススクリーニングを例に挙げたが、これに限らず質量分析装置やその他の分析装置を用いた種々の目的の定量分析において、分析コストの低減のために内部標準物質の使用量を抑えることが望まれている。

[0009] 本発明は上記の点に鑑みてなされたものであり、その目的とするところは内部標準物質を用いた定量分析（内部標準法による定量分析）において、内部標準物質の使用量を低減することにある。

課題を解決するための手段

[0010] 上記課題を解決するために成された本発明に係る自動試料導入装置は、

- a) 管状のニードルと、
- b) 分析流路に連通する注入ポートと、
- c) 前記ニードルと、試料液容器、内部標準液容器、及び前記注入ポートとの相対位置を変化させる移動手段と、
- d) 前記ニードルを通して液体を吸引及び吐出する吸引・吐出手段と、
- e) 前記移動手段及び前記吸引・吐出手段を制御する制御手段と、

を備え、

更に、前記制御手段が、

- f) 前記ニードルの先端を前記内部標準液容器に挿入させ、該先端から該内部標準液容器に収容された内部標準物質を含む液体である内部標準液を予め定められた量吸引させる内部標準液吸引制御手段と、
- g) 前記ニードルの先端を前記試料液容器に挿入させ、該先端から該試料液

容器に收容された試料液を予め定められた量吸引させる試料液吸引制御手段と、

h) 前記ニードルの先端を前記注入ポートへ挿入させ、前記内部標準液及び前記試料液を該先端から吐出する吐出制御手段と、
を有し、

前記内部標準液吸引制御手段と前記試料液吸引制御手段とをこの順又は逆順で動作させた後、前記吐出制御手段を動作させることにより前記分析流路への試料導入を行うものであって、複数回の試料導入においてそれぞれ同一の内部標準液容器から前記内部標準液を吸引させるものであることを特徴としている。

[0011] 前記制御部は、前記試料液と前記内部標準液のどちらを先にニードルに吸引させるものとしてもよい。また、前記移動手段はニードルのみを移動させることで前記相対位置を変化させるものとしてもよく、ニードルに加えて又は代えて試料液容器、内部標準液容器、及び注入ポートの少なくとも1つを移動させることにより前記相対位置を変化させるものとしてもよい。

[0012] 従来、自動試料導入装置を利用した定量分析では、検査担当者が試料と内部標準物質を予め混合した状態で試料液容器（ウェル）に收容しておき、該自動試料導入装置が該試料液容器内の液体を所定量吸引して注入ポートから分析流路に導入していた。例えば、上述の新生児マススクリーニングの場合、検査担当者が乾燥濾紙血液サンプルを100 μL の内部標準液で抽出した後、得られた抽出液（血液成分と内部標準物質の混合液）を前記試料液容器に收容し、自動試料導入装置が該抽出液をニードルで1 μL 採取して分析流路に導入していた。従って、試料液容器に收容された内部標準液の大部分（この例では100 μL 中の99 μL ）は分析に供されず無駄に消費されていたことになる。

[0013] これに対し、上記本発明に係る自動試料導入装置を利用した定量分析では、それぞれ別の容器（すなわち前記試料液容器と前記内部標準液容器）に收容された試料液と内部標準液とをニードルで所定量ずつ吸引した後に該ニードル

ドルを注入ポートに挿入し、前記試料液と内部標準液を一度に分析流路に導入する。例えば、上述の新生児マススクリーニングの場合、乾燥濾紙血液サンプルは内部標準物質を含まない所定の溶媒（例えばメタノール）100 μL で抽出し、得られた抽出液（試料液）を試料液容器に収容しておく。一方で、内部標準液は前記試料液容器とは別に設けられた内部標準液容器に収容しておく。そして、自動試料導入装置が、内部標準液容器内の内部標準液と試料液容器内の試料液をそれぞれ1 μL ずつ採取し、これらを一度に分析流路に注入する。このときニードルで吸引されずに内部標準液容器に残った内部標準液は次の分析、すなわち別の試料液容器に収容された試料液の導入時に使用される。そのため、従来のように内部標準液の大部分が無駄になることはない。その結果、1回の分析（すなわち1つの試料液容器に収容された試料液の分析）で消費される内部標準液を分析に供される最小限の量（この例の場合1 μL ）に抑えることが可能となる。

- [0014] また、上記課題を解決するために成された本発明に係る試料導入方法は、
- a) 管状のニードルの先端を内部標準液容器に挿入し、該先端から該内部標準液容器に収容された内部標準物質を含む液体である内部標準液を予め定められた量吸引する内部標準液吸引工程と、
 - b) 該先端を試料液容器に挿入し、該先端から該試料液容器に収容された試料液を予め定められた量吸引する試料液吸引工程と、
- をこの順又はこの逆順で実行した後、
- c) 該先端を分析流路に連通する注入ポートへ挿入し、該先端から前記試料液及び前記内部標準液を吐出する吐出工程、
- を実行することにより前記分析流路への試料導入を行うものであって、
- 複数回の試料導入においてそれぞれ同一の内部標準液容器から前記内部標準液を吸引することを特徴としている。

発明の効果

- [0015] 上記の通り、本発明に係る自動試料導入装置及び試料導入方法によれば、内部標準法による定量分析における内部標準物質の消費量を抑えることが可

能となる。

図面の簡単な説明

[0016] [図1]本発明の一実施形態による自動試料導入装置の概略構成を示す模式図。

[図2]前記自動試料導入装置における制御部のブロック構成図。

[図3]前記自動試料導入装置の動作を示すフローチャート。

[図4]前記自動試料導入装置において試料液を吸引している状態を示す模式図

。

[図5]前記自動試料導入装置において試料液及び内部標準液を注入ポートに注入している状態を示す模式図。

[図6]前記自動試料導入装置におけるニードル洗浄工程の前半を示す模式図。

[図7]前記自動試料導入装置におけるニードル洗浄工程の後半を示す模式図。

[図8]本発明の別の実施形態による自動試料導入装置の概略構成を示す模式図

。

[図9]前記自動試料導入装置において試料液を吸引している状態を示す模式図

。

[図10]前記自動試料導入装置において試料液及び内部標準液を注入ポートに注入している状態を示す模式図。

[図11]前記自動試料導入装置において試料液及び内部標準液を質量分析装置へ送出している状態を示す模式図。

[図12]本発明に係る試料導入方法と従来の試料導入方法による定量結果を示す図。

[図13]従来の自動試料導入装置における試料導入手順の前半を説明するための模式図。

[図14]従来の自動試料導入装置における試料導入手順の後半を説明するための模式図。

発明を実施するための形態

[0017] 以下、本発明を実施するための最良の形態について図面を参照しつつ説明する。図1は本発明の一実施形態による自動試料導入装置の概略構成図であ

る。なお、上述の図 1 3 と共通する構成要素については下二桁が共通する符号を付し、適宜説明を省略する。本実施形態の自動試料導入装置は質量分析装置 (MS) に対して試料の導入を行うものであり、試料の導入動作を行う動作部 1 1 0 と、動作部 1 1 0 を制御する制御部 1 3 0 とで構成される。

[0018] 動作部 1 1 0 は、サンプルプレート 1 1 1 がセットされるプレート載置部 1 1 3 と、内部標準液容器 1 1 4 がセットされる内部標準液容器載置部 1 1 5 と、先端がテーパ状に形成された筒状のニードル 1 1 6 と、モータ等を含み前記ニードル 1 1 6 を水平方向及び鉛直方向に移動させるニードル駆動機構 1 1 7 と、ニードル 1 1 6 の基端に接続されたサンプルループ 1 1 8 と、計量ポンプ 1 1 9 と、注入ポート 1 2 0 と、ニードル 1 1 6 やサンプルループ 1 1 8 を洗浄するための洗浄ポート 1 2 1 と、第一流路切替バルブ 1 2 2 と、第二流路切替バルブ 1 2 3 とを含んでいる。

[0019] 第一流路切替バルブ 1 2 2 及び第二流路切替バルブ 1 2 3 はいずれも 6 ポート 2 ポジションバルブであり、それぞれステップモータ等の駆動源によってバルブ内の回動部材 (ロータ) を回動させることにより、隣り合うポート間の連通状態を切り替えることができる。第一流路切替バルブ 1 2 2 のポート a にはキャリア液体リザーバ 1 2 4 に接続された送液ポンプ 1 2 5 が、ポート b にはサンプルループ 1 1 8 が、ポート c には計量ポンプ 1 1 9 が、ポート d には第二流路切替バルブ 1 2 3 のポート g が、ポート e には注入ポート 1 2 0 が、ポート f には質量分析装置へ至る流路 (以下「分析流路 1 2 6」とよぶ) がそれぞれ接続されている。また、第二流路切替バルブ 1 2 3 のポート g には第一流路切替バルブ 1 2 2 のポート d が、ポート h にはドレインが、ポート i には計量ポンプ 1 1 9 が、ポート j には洗浄ポート 1 2 1 が、ポート l には洗浄液を貯留した洗浄液リザーバ 1 2 7 がそれぞれ接続されており、ポート k は閉鎖されている。なお、本実施形態では計量ポンプ 1 1 9 及び送液ポンプ 1 2 5 が本発明における吸引・吐出手段に相当する。

[0020] 制御部 1 3 0 はパーソナルコンピュータ等のコンピュータであり、図 2 に示すように中央演算処理装置である CPU (Central Processing Unit) 1 3

1 と、メモリ 132 と、LCD (Liquid Crystal Display) 等から成るモニタ (表示部) 133 と、キーボードやマウス等から成る入力部 134 と、HDD (Hard Disk Drive) やSSD (Solid State Drive) 等の大容量記憶装置から成る記憶部 135 とが互いに接続されている。記憶部 135 には、OS (Operating System) 136、及び注入動作制御プログラム 137 が記憶されている。制御部 130 は、更に、外部装置 (ここでは動作部 110) との直接的な接続や、外部装置とのLAN (Local Area Network) などのネットワークを介した接続を司るためのインターフェース (I/F) 138 を備えており、該 I/F 138 よりネットワークケーブル又は無線LANを介して動作部 110 に接続されている。

[0021] 図2においては、注入動作制御プログラム 137 に係るように、内部標準液吸引制御部 139、試料液吸引制御部 140、及び吐出制御部 141 が示されている。これはいずれも基本的にはCPU 131 が注入動作制御プログラム 137 をメモリ 132 に読み出して実行することによりソフトウェア的に実現される機能手段である。なお、前記注入動作制御プログラム 137 は必ずしも単体のプログラムである必要はなく、例えば質量分析装置を制御するためのプログラムの一部に組み込まれた機能であってもよく、その形態は特に問わない。

[0022] 本実施形態に係る自動試料導入装置を上述の新生児マススクリーニングに使用する場合には、まず、次のような手順で試料の前処理を行う。すなわち、検査担当者が医療機関等から送られてきた乾燥濾紙血シートから各被検者の血液が含まれる箇所を切り出し、それぞれをサンプルプレート上の各ウェルに収容する。そして、前記濾紙が収容された各ウェルに血液成分抽出用の液体を所定量 (例えば100 μ L) ずつ添加する。ここで、該液体としては、従来のような内部標準物質を含む液体ではなく、内部標準物質を含まない液体 (例えばメタノール) を使用する。そして、前記サンプルプレートを所定温度で所定時間 (例えば、45℃で45分間) 振盪することにより、濾紙中の血液成分を前記液体中に抽出する。その後、各ウェル中の液体を別のサンプルプ

レート 1 1 1 の各ウェル 1 1 2 に移し、該サンプルプレート 1 1 1 を自動試料導入装置のプレート載置部 1 1 3 にセットする。以下、このサンプルプレート 1 1 1 の各ウェル 1 1 2（本発明における試料液容器に相当）に収容された液体を「試料液」とよぶ。検査担当者は、更に内部標準物質を含む液（内部標準液）を収容した内部標準液容器 1 1 4 を自動試料導入装置の内部標準液容器載置部 1 1 5 にセットする。

[0023] その後、検査担当者が上述の入力部 1 3 4 から試料導入の開始を指示すると、注入動作制御プログラム 1 3 7 による制御の下に、前記動作部 1 1 0 において前記試料液及び内部標準液が採取され、質量分析装置に導入される。このときの試料液及び内部標準液の導入手順について図 3 のフローチャート、並びに図 1、図 4、及び図 5 を参照しつつ説明する。

[0024] まず、注入動作制御プログラム 1 3 7 が、サンプルプレート 1 1 1 上のウェル 1 1 2 の番号を表す変数 n を 1 にセットする（ステップ S 1 1）。

[0025] 次に、内部標準液吸引制御部 1 3 9 が、内部標準液容器 1 1 4 に収容された内部標準液をニードル 1 1 6 に吸引させる（ステップ S 1 2）。具体的には、まず第一流路切替バルブ 1 2 2 及び第二流路切替バルブ 1 2 3 を制御してポート a ～ f 及び g ～ l を図 1 に示す連通状態にする。これにより、第一流路切替バルブ 1 2 2 及び第二流路切替バルブ 1 2 3 を介してサンプルループ 1 1 8 と計量ポンプ 1 1 9 とが接続され、更に、第一流路切替バルブ 1 2 2 を介してキャリア液体リザーバ 1 2 4 に付設された送液ポンプ 1 2 5 と分析流路 1 2 6 とが接続された状態となる。そして、ニードル駆動機構 1 1 7 を制御してニードル 1 1 6 の先端を内部標準液容器 1 1 4 に挿入させ（図 1）、計量ポンプ 1 1 9 により予め定められた量（例えば $1 \mu\text{L}$ ）の内部標準液を吸引させる。

[0026] 続いて、試料液吸引制御部 1 4 0 が、ニードル駆動機構 1 1 7 を制御してニードル 1 1 6 の先端をサンプルプレート 1 1 1 上の n 番目（すなわち 1 番目）のウェル 1 1 2 に挿入させ（図 4）、更に、計量ポンプ 1 1 9 を制御して該ウェル 1 1 2 中の試料液を予め定められた量（例えば $1 \mu\text{L}$ ）ニードル 1

16に吸引させる（ステップS13）。以上により、ニードル116内には所定量の試料液と内部標準液とが採取された状態となる。

[0027] 次に、吐出制御部141が、ニードル駆動機構117を制御してニードル116を注入ポート120に挿入させると共に、第一流路切替バルブ122を図5に示す状態にする。これにより、キャリア液体リザーバ124から送液ポンプ125、ポートa、ポートb、ニードル116、注入ポート120、ポートe、ポートf、を経て分析流路126へと至る流路が形成される。その結果、送液ポンプ125によって送給されたキャリア液体がサンプルループ118及びニードル116内を通過するようになるため、サンプルループ118及び／又はニードル116内に存在していた試料液及び内部標準液がこのキャリア液体によって押し流され、注入ポート120及び分析流路126を介して質量分析装置に導入される（ステップS14）。

[0028] その後、注入動作制御プログラム137は、洗浄ポート121を用いてニードルの洗浄を実行する（ステップS15）。具体的には、第二流路切替バルブ123を図6のように切り替えて洗浄液リザーバ127と計量ポンプ119を連通させ、計量ポンプ119の吸引動作によって洗浄液リザーバ127内の洗浄液を計量ポンプ119のシリンジ内に吸引する。続いて第一流路切替バルブ122を図7のように切り替えることでニードル116及びサンプルループ118をキャリア液体の流れから切り離す。そして、ニードル駆動機構117を制御してニードル116を洗浄ポート121に挿入させると共に、計量ポンプ119の吐出動作によって前記シリンジ内の洗浄液を送出する。これにより、洗浄液がサンプルループ118に送り込まれ、ニードル116を通過して洗浄ポート121に排出される。このような洗浄液の吸引及び吐出を繰り返し行い、所定の液量を送出した時点で洗浄動作を終了する。

[0029] 洗浄動作が完了すると、注入動作制御プログラム137は、サンプルプレート111上の全ての試料を導入したか否かを判定し（ステップS16）、全試料の導入が完了していない場合には、上記の変数nをインクリメント（

ステップS 1 7) する。そして、質量分析装置において次の分析が可能となるまで所定の時間待機し（ステップS 1 8）、ステップS 1 2へと戻る。その後、ステップS 1 2～S 1 8を繰り返し実行し、全試料の導入が完了した時点（ステップS 1 6でY e sになった時点）で一連の試料注入動作を完了する。

[0030] 以上の通り、本実施形態に係る液体試料導入装置によれば、それぞれ別の容器に收容された内部標準液と試料液とがニードルによって順次採取され、これらが同時に質量分析装置へと導入される。また、複数回の試料導入において、試料液はその都度異なるウェル1 1 2（試料液容器）から吸引されるのに対し、内部標準液は毎回同じ内部標準液容器1 1 4から採取される。すなわち、1回の試料導入が完了した時点で内部標準液容器1 1 4内に残った内部標準液は、次回以降の試料の導入時に使用される。そのため、従来のように分析に必要な量以上に内部標準物質を消費することがない。従って、本実施形態の構成によれば内部標準法による定量分析における内部標準物質の消費量を抑え、分析コストを低減することが可能となる。なお、こうした試料導入方法は、上述の新生児マススクリーニングのような乾燥濾紙血液サンプルを試料とした分析に好適に使用できるほか、通常の液体を試料とした分析にも同様に適用することができる。

[0031] 以上の実施形態では、サンプルプレート1 1 1とは別に用意した容器に内部標準液を收容して内部標準液容器載置部1 1 5にセットするものとしたが、これに限らず、内部標準液をサンプルプレート1 1 1上の試料液が收容されていないウェル1 1 2に收容するようにしてもよい。この場合、該ウェル1 1 2が本発明における内部標準液容器に相当する。また、本発明に係る試料導入装置には、内部標準液容器を2個以上セットしてもよい。この場合、例えば所定の回数の試料導入が完了するまでは1つの内部標準液容器から内部標準液を吸引し、それ以降は別の内部標準液容器から内部標準液を採取する。

[0032] また、上記実施形態では、ニードルの先端を注入ポートに挿入した後に流

路切替バルブを切り替え、ニードルとその基端に接続された流路をキャリア液体の流路中に介挿することにより、ニードル先端から試料液及び内部標準液を吐出させて分析流路に導入する構成としたが、本発明に係る試料導入装置はこれに限定されるものではない。例えば、ニードルの先端を注入ポートに挿入した後に、計量ポンプの吐出動作により該ニードルの先端から試料液及び内部標準液を吐出させて該試料液及び内部標準液を分析流路に導入するようにしてもよい。以下、こうした構成の液体試料導入装置について図8～図11を参照しつつ説明する。なお、図1と共通する構成要素については下二桁が共通する符号を付し、適宜説明を省略する。

[0033] 流路切替バルブ222は6ポート2ポジションバルブであり、ポートaにはキャリア液体リザーバ224に接続された送液ポンプ225が、ポートbにはサンプルループ218の上流側が、ポートcにはドレインが、ポートdには注入ポート220が、ポートeにはサンプルループ218の下流側が、ポートfには質量分析装置に至る分析流路226がそれぞれ接続されている。計量ポンプ219は前記流路切替バルブ222とは独立に設けられており、該計量ポンプ219にはニードル216を備えた配管が接続されている。また、前記流路切替バルブ222を含む流路や計量ポンプ219を含む流路とは別に、洗浄液容器・送液ポンプ・ニードル洗浄ポート及びこれらを接続する配管から成るニードル洗浄用流路228が設けられている。制御部230の構成は図2と同様である。なお、本実施形態では計量ポンプ219が本発明における吸引・吐出手段に相当する。

[0034] この自動試料導入装置においても、図3のフローチャートと同様の手順で試料液及び内部標準液の導入が行われる。但し、ステップS12では、流路切替バルブ222を図8に示す連通状態にすると共に、ニードル216を内部標準液容器214に挿入し、計量ポンプ219の吸引動作により所定量の内部標準液をニードル216内に採取する。ステップS13では、図9に示すようにニードル216をサンプルプレート211上の所定のウェル212（n番目のウェル）に挿入し、計量ポンプ219の吸引動作により所定量の

試料液をニードル 2 1 6 内に採取する。続くステップ S 1 4 では、図 1 0 に示すようにニードル 2 1 6 を注入ポート 2 2 0 に挿入し、計量ポンプ 2 1 9 の吐出動作により、ステップ S 1 2 及び S 1 3 で採取した内部標準液及び試料液をサンプルループ 2 1 8 に導入し、その後、流路切替バルブを図 1 1 に示す連通状態に切り替える。これにより、サンプルループ 2 1 8 がキャリア液体の流れに介挿され、該サンプルループ 2 1 8 内に保持されていた内部標準液及び試料液が分析流路 2 2 6 を経て質量分析装置に導入される。

実施例

- [0035] 本発明に係る試料導入方法と従来の試料導入方法とで質量分析装置への試料導入を行い、該質量分析装置による定量分析の結果を比較した。
- [0036] 従来法による試料導入では、直径 3 mm にパンチングした乾燥濾紙血液検体をサンプルプレートのウェルに収容し、そこに新生児マススクリーニングキット (NeoBase Non-delivatized MSMS kit、パーキンエルマー製) に付属の内部標準液 100 μ L を添加して 45°C で 45 分振盪することにより血液成分を抽出した。そして、得られた抽出液 (試料と内部標準の混合液) を別のサンプルプレートのウェルに移して自動試料導入装置にセットした。自動試料導入装置では、該ウェルから 1 μ L の前記抽出液を採取して質量分析装置に導入した。
- [0037] 一方、本発明の方法による試料導入では、上記と同様の乾燥濾紙血液検体をサンプルプレートのウェルに収容し、メタノール 100 μ L を添加して 45°C で 45 分振盪することにより血液成分を抽出した。そして、得られた抽出液 (試料液) を別のサンプルプレートのウェルに移して自動試料導入装置にセットした。また、バイアル瓶に上記と同じ内部標準液を適量収容して自動試料導入装置にセットした。自動試料導入装置では、前記ウェル中の抽出液と前記バイアル瓶中の内部標準液をそれぞれ 1 μ L 採取して同時に質量分析装置へ導入した。
- [0038] 上記いずれの場合においても、質量分析装置では前記キットで定められた条件に基づいて質量分析を行い、得られたマススペクトルに基づいて 20 種類

の指標物質（アミノ酸Ala, Cit, Leu, Met, Phe, Tyr, Valと、アシルカルニチンC0, C2, C3, C4, C5, C5DC, C6, C8, C10, C12, C14, C16, C18）及びそれらに対応した内部標準物質のピーク面積を導出した。そして、これにより得られた各指標物質と内部標準物質のピーク面積の比と、予め前記指標物質と内部標準物質の濃度比が異なる複数種類のサンプルを測定して作成した検量線とを用いて、前記抽出液中における各指標物質の濃度を算出した。

[0039] 上記のような定量分析を、従来法と本発明の方法とでそれぞれ6回ずつ行ったところ、各指標物質の濃度の平均とCV値（変動係数）は図12に示す通りであった。以上の結果、同図から明らかなように、本発明の方法によれば、いずれの指標物質についても従来法と同程度に検出できることが確認された。

符号の説明

[0040] 110、210…動作部
111、211、311…サンプルプレート
112、212、312…ウェル
113、213…プレート載置部
114、214…内部標準液容器
115、215…内部標準液容器載置部
116、216、316…ニードル
117、217…ニードル駆動機構
118、218、318…サンプルループ
119、219、319…計量ポンプ
120、220、320…注入ポート
121…洗浄ポート
122…第一流路切替バルブ
123…第二流路切替バルブ
222、322、323…流路切替バルブ
124、224、324…キャリア液体リザーバ

- 1 2 5、2 2 5 …送液ポンプ
- 1 2 6、2 2 6 …分析流路
- 1 2 7 …洗浄液リザーバ
- 1 3 0、2 3 0 …制御部
- 1 3 5 …記憶部
- 1 3 7 …注入動作制御プログラム
- 1 3 8 …内部標準液吸引制御部
- 1 3 9 …試料液吸引制御部
- 1 4 0 …吐出制御部

請求の範囲

[請求項1]

- a) 管状のニードルと、
- b) 分析流路に連通する注入ポートと、
- c) 前記ニードルと、試料液容器、内部標準液容器、及び前記注入ポートとの相対位置を変化させる移動手段と、
- d) 前記ニードルを通して液体を吸引及び吐出する吸引・吐出手段と、
- e) 前記移動手段及び前記吸引・吐出手段を制御する制御手段と、を備え、
- 更に、前記制御手段が、
- f) 前記ニードルの先端を前記内部標準液容器に挿入させ、該先端から該内部標準液容器に収容された内部標準物質を含む液体である内部標準液を予め定められた量吸引させる内部標準液吸引制御手段と、
- g) 前記ニードルの先端を前記試料液容器に挿入させ、該先端から該試料液容器に収容された試料液を予め定められた量吸引させる試料液吸引制御手段と、
- h) 前記ニードルの先端を前記注入ポートへ挿入させ、前記内部標準液及び前記試料液を該先端から吐出する吐出制御手段と、を有し、

前記内部標準液吸引制御手段と前記試料液吸引制御手段とをこの順又は逆順で動作させた後、前記吐出制御手段を動作させることにより前記分析流路への試料導入を行うものであって、複数回の試料導入においてそれぞれ同一の内部標準液容器から前記内部標準液を吸引させるものであることを特徴とする自動試料導入装置。

[請求項2]

コンピュータを請求項1に記載の制御手段として機能させることを特徴とするプログラム。

[請求項3]

- a) 管状のニードルの先端を内部標準液容器に挿入し、該先端から該内部標準液容器に収容された内部標準物質を含む液体である内部標

準液を予め定められた量吸引する内部標準液吸引工程と、

b) 該先端を試料液容器に挿入し、該先端から該試料液容器に収容された試料液を予め定められた量吸引する試料液吸引工程と、

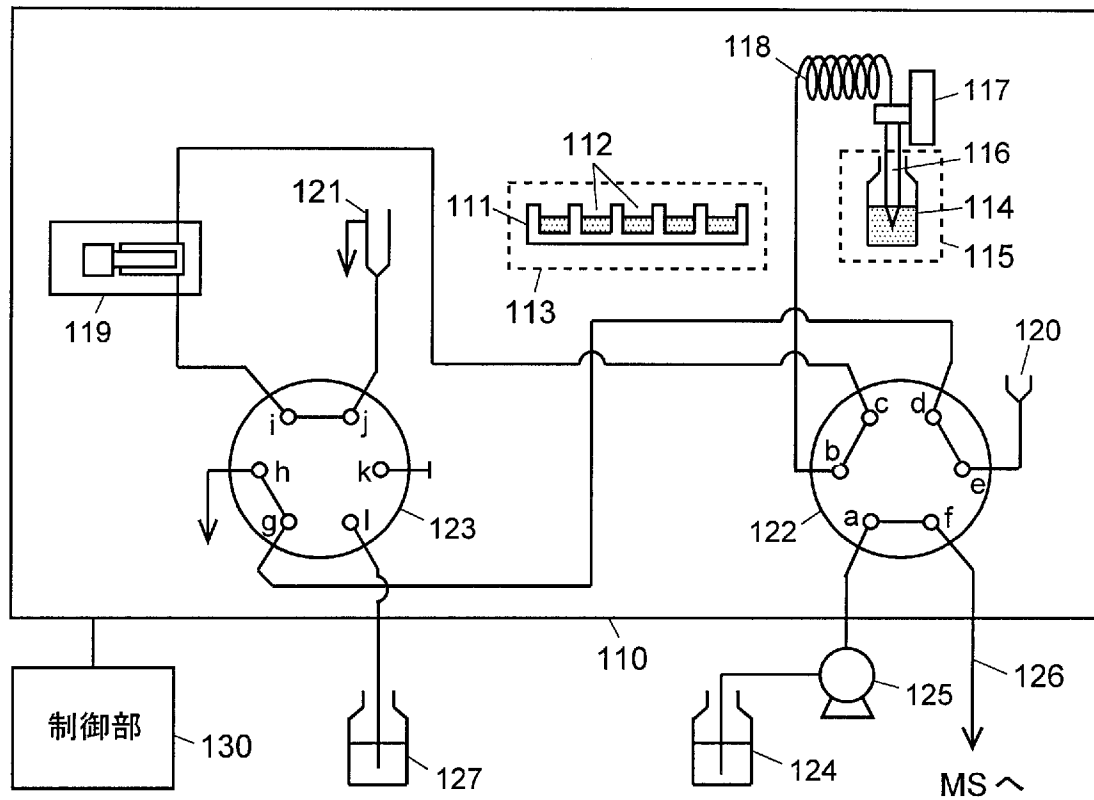
をこの順又はこの逆順で実行した後、

c) 該先端を分析流路に連通する注入ポートへ挿入し、該先端から前記試料液及び前記内部標準液を吐出する吐出工程、

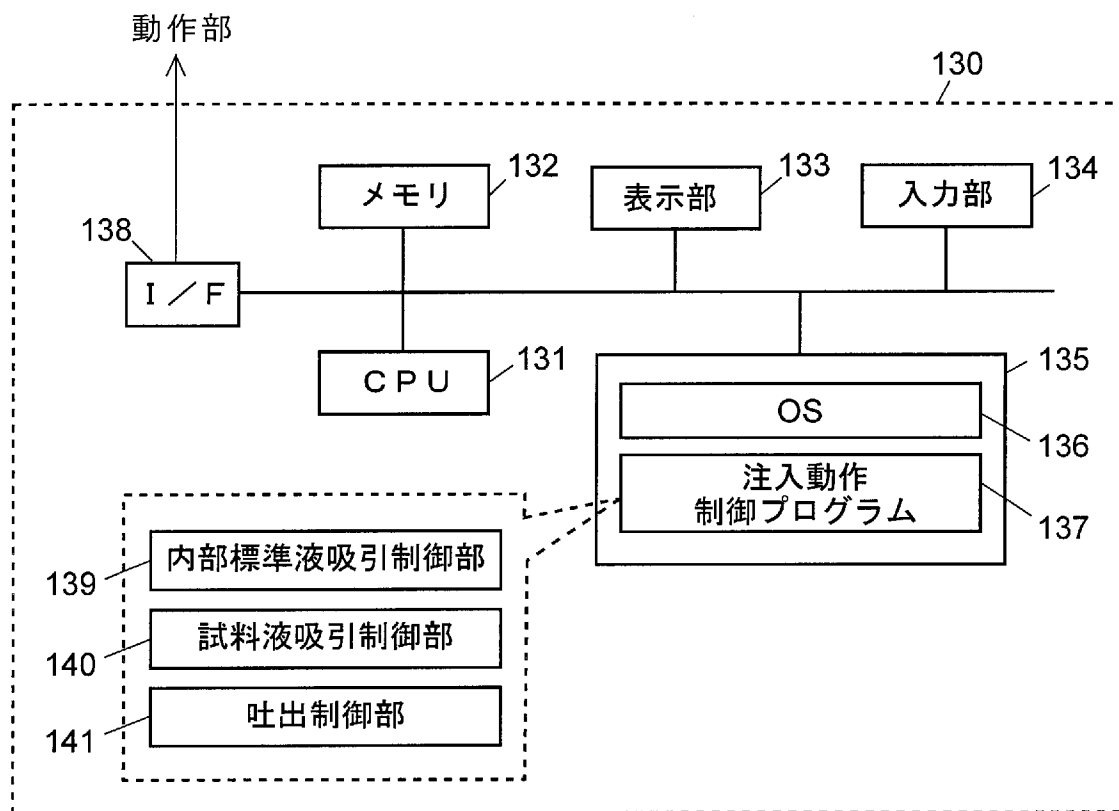
を実行することにより前記分析流路への試料導入を行うものであって、

複数回の試料導入においてそれぞれ同一の内部標準液容器から前記内部標準液を吸引することを特徴とする試料導入方法。

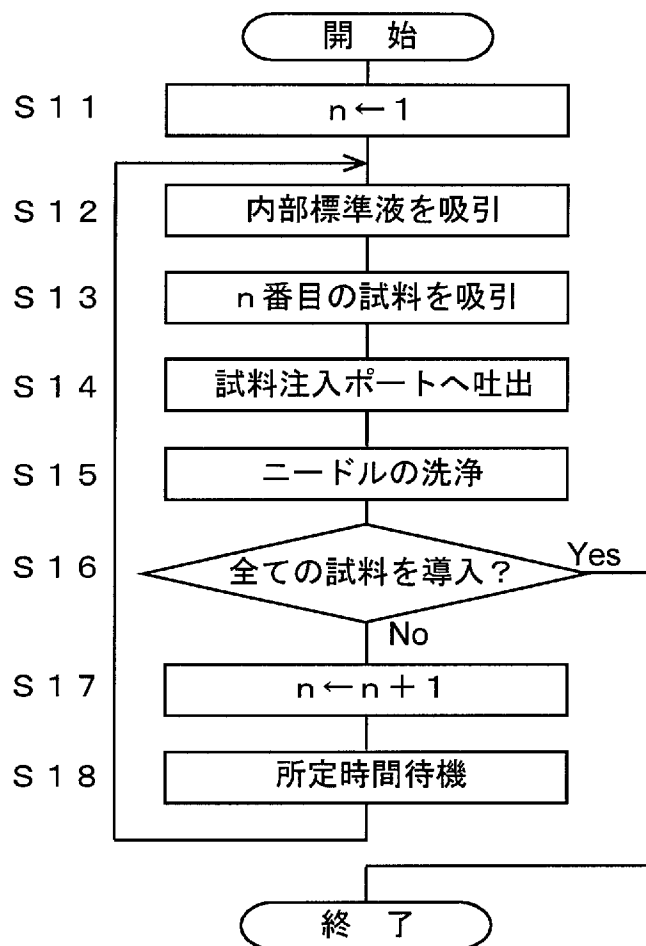
[図1]



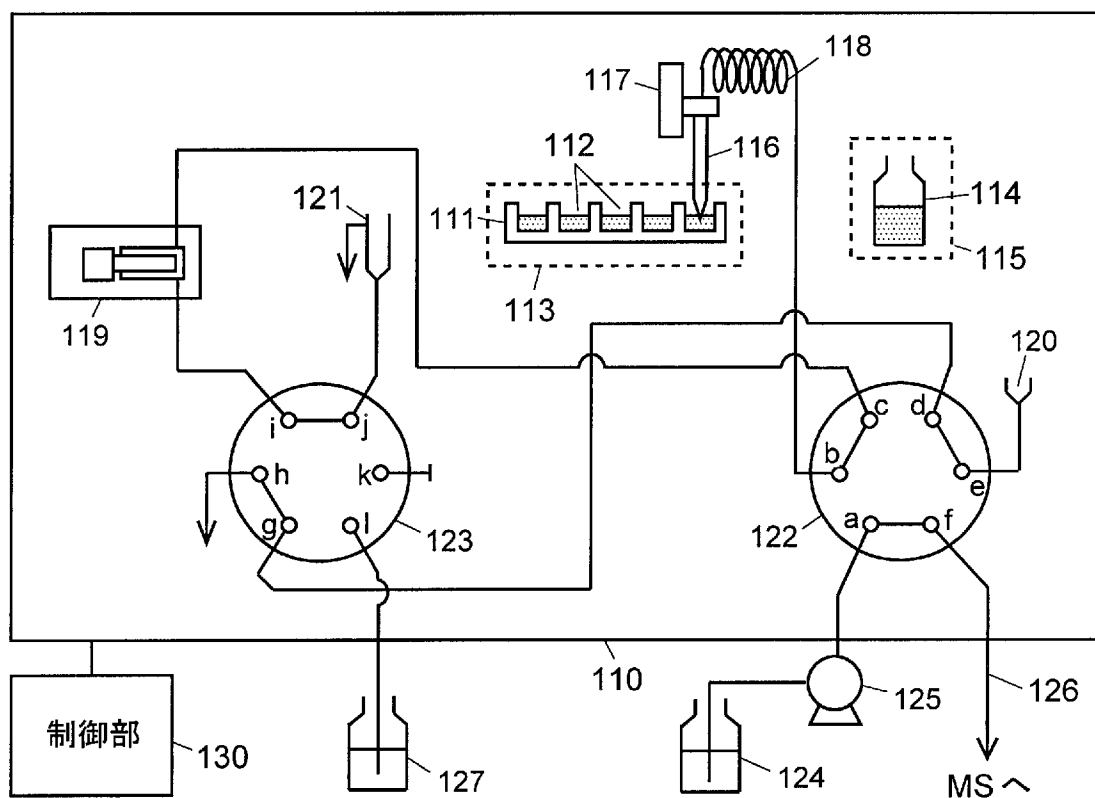
[図2]



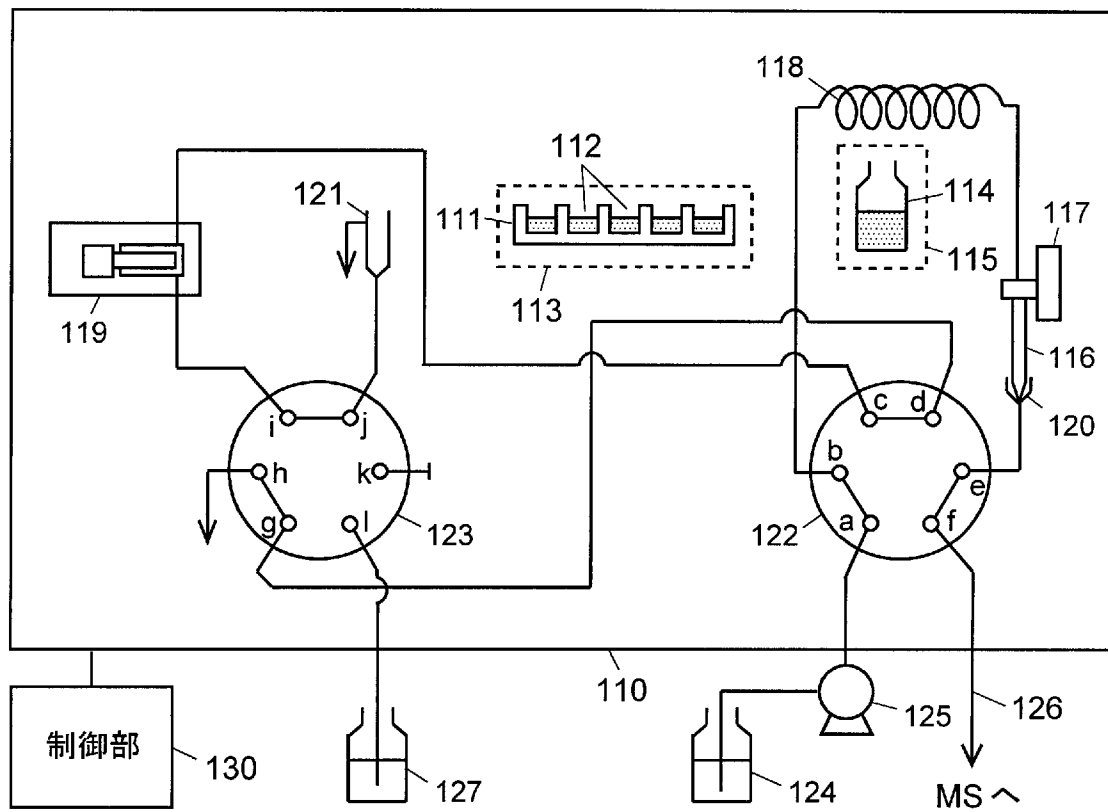
[図3]



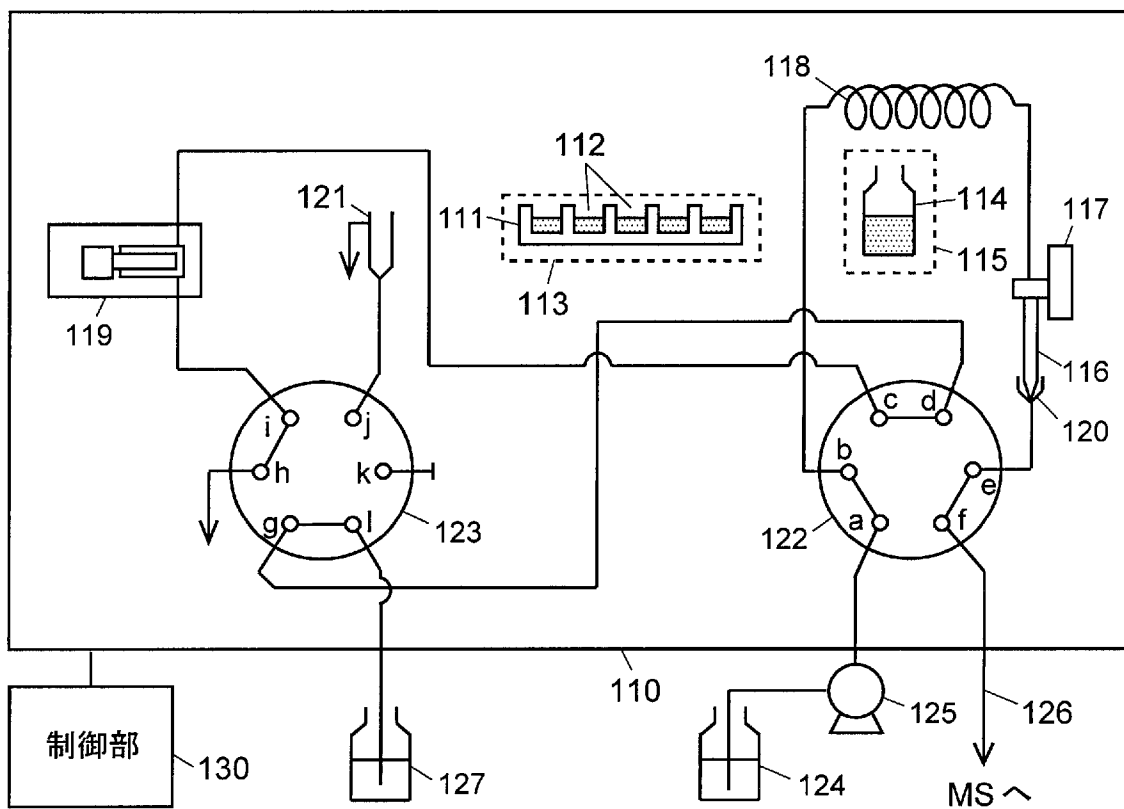
[図4]



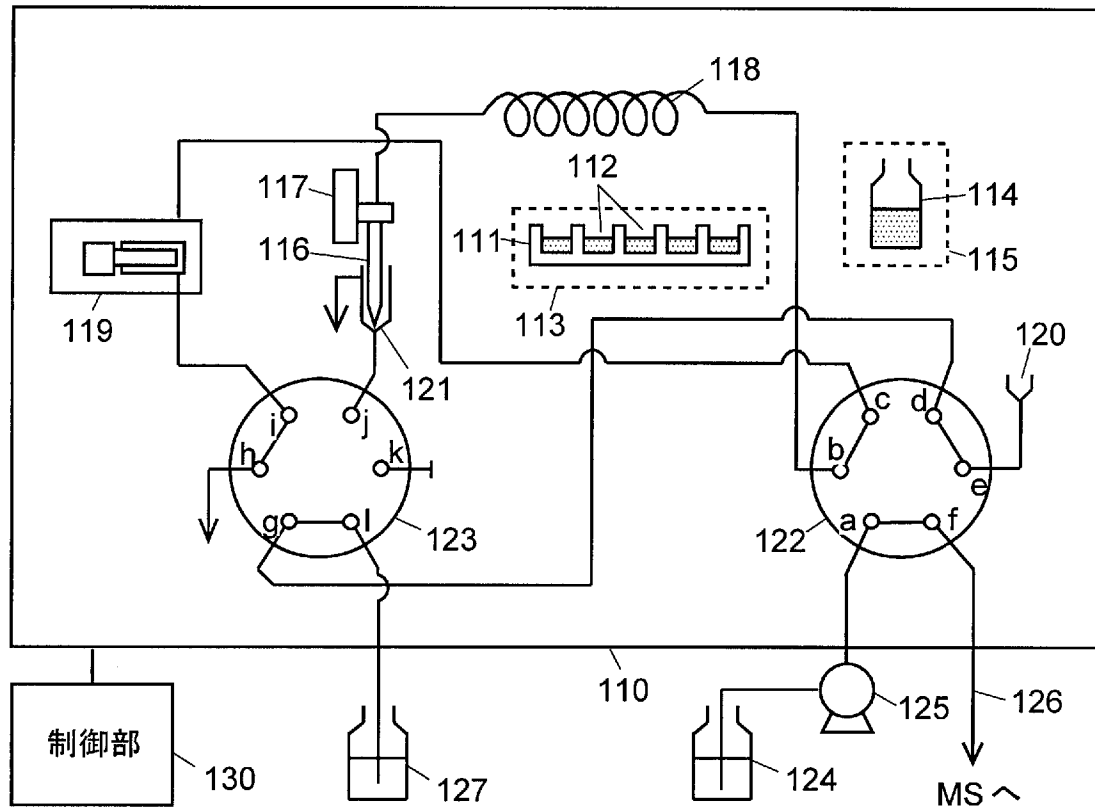
[図5]



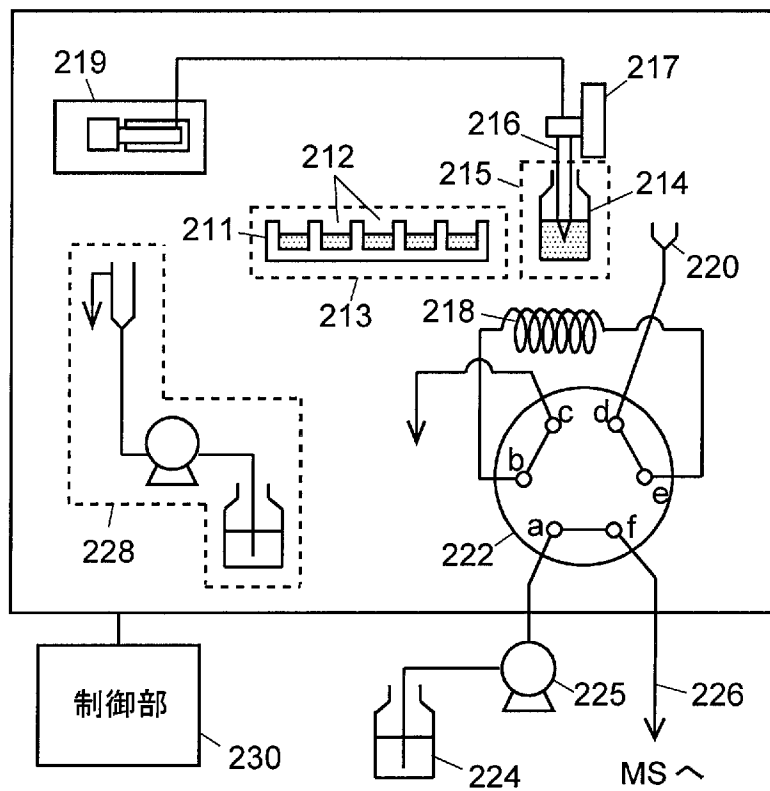
[図6]



[図7]



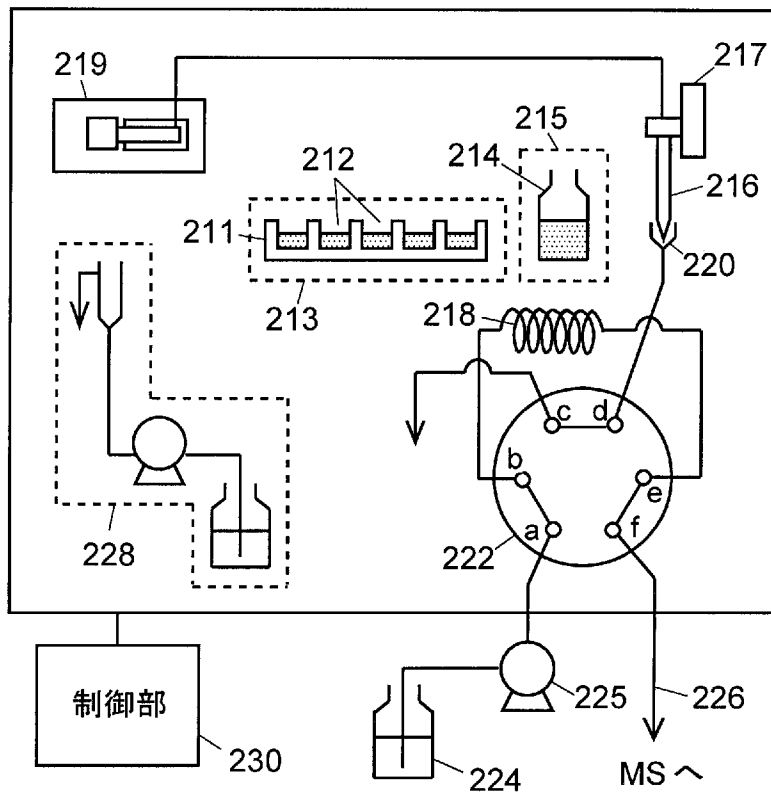
[図8]



[illegible]

The diagram illustrates a sample introduction system for mass spectrometry (MS). The system is controlled by a control unit (230). It features two main liquid transport paths. The first path starts from a reservoir (215) and passes through a valve (217), a detector (219), a series of chambers (211, 212, 213, 214), and a coil (218). The second path starts from a reservoir (224) and passes through a series of chambers (222, 223, 224) and a coil (218). The output of the system is directed to the mass spectrometer (MS) via a line labeled 226.

[図11]

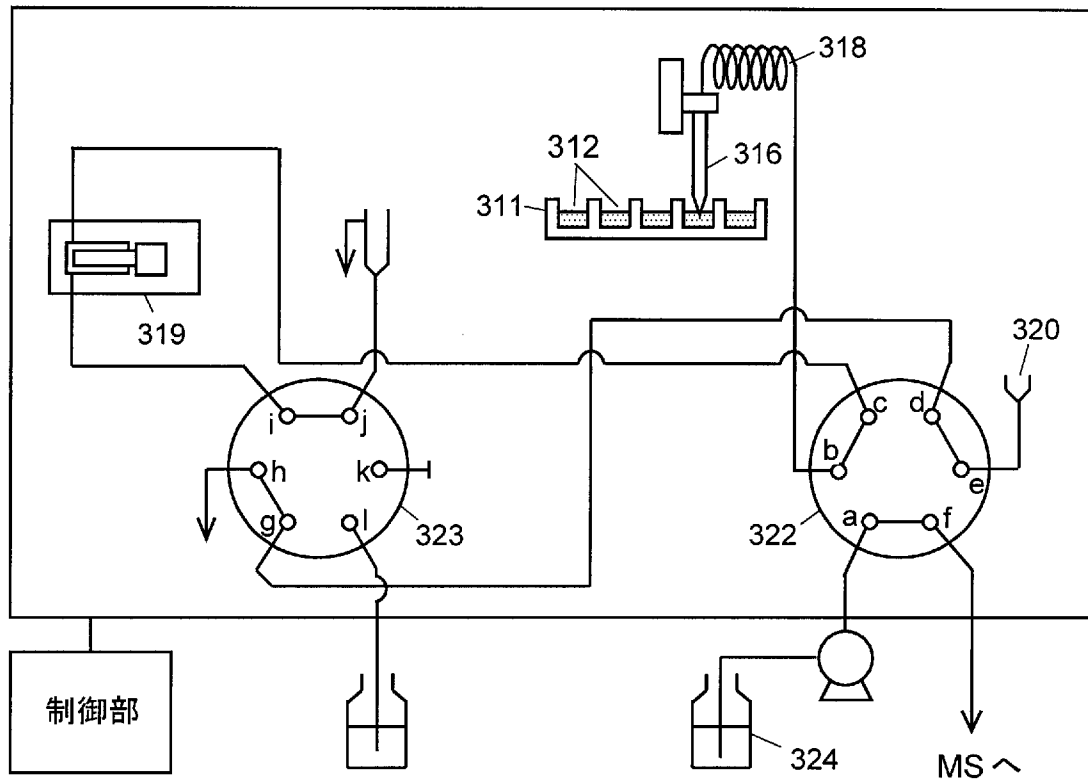


[図12]

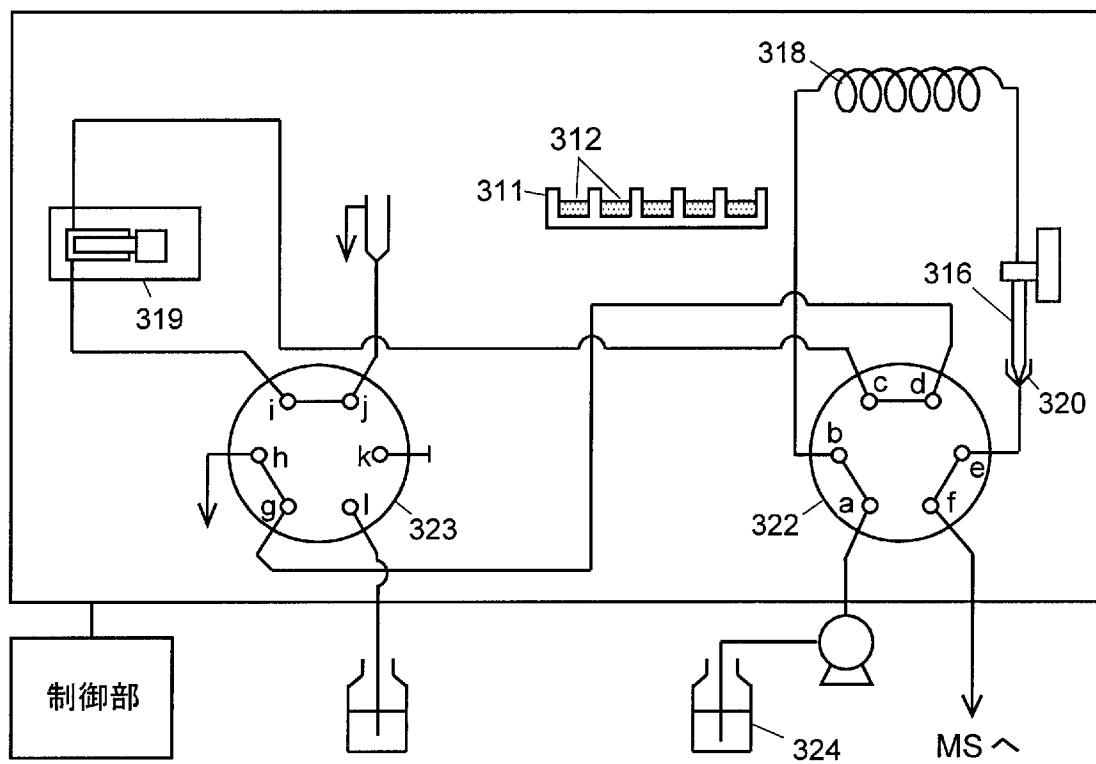
		Ala	Cit	Leu	Met	Phe	Tyr	Val	C0	C2	C3
従来法	平均 (uM)	890.79	103.16	369.39	115.51	228.02	365.03	406.60	96.03	67.20	9.44
	CV値	3.5%	4.1%	3.4%	3.8%	3.3%	6.1%	3.9%	4.1%	2.7%	3.5%
本発明の方法	平均 (uM)	885.70	86.19	377.95	111.41	222.44	339.71	419.06	101.64	71.10	9.76
	CV値	3.6%	3.5%	1.9%	3.9%	2.2%	4.1%	2.4%	2.3%	1.8%	6.8%

		C4	C5	C5DC	C6	C8	C10	C12	C14	C16	C18
従来法	平均 (uM)	2.55	1.05	0.71	0.47	0.63	0.95	1.89	1.65	10.13	2.78
	CV値	2.7%	3.4%	7.1%	4.4%	0.8%	4.6%	2.7%	3.4%	2.3%	1.9%
本発明の方法	平均 (uM)	2.62	1.14	0.72	0.50	0.66	1.00	1.98	1.74	10.27	2.86
	CV値	2.5%	2.9%	8.7%	3.5%	1.1%	2.2%	1.5%	2.1%	1.1%	1.8%

[図13]



[図14]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2014/067409

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

G01N1/00(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)

G01N1/00

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	1996-2014
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2014	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2014

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

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JP 2013-170925 A (Isuzu Motors Ltd.), 02 September 2013 (02.09.2013), entire text; all drawings (Family: none)	1-3

☐ 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
18 September, 2014 (18.09.14)

Date of mailing of the international search report
30 September, 2014 (30.09.14)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（I P C））

Int.Cl. G01N1/00(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（I P C））

Int.Cl. G01N1/00

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	1 9 2 2 - 1 9 9 6 年
日本国公開実用新案公報	1 9 7 1 - 2 0 1 4 年
日本国実用新案登録公報	1 9 9 6 - 2 0 1 4 年
日本国登録実用新案公報	1 9 9 4 - 2 0 1 4 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）

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
X	JP 2013-170925 A（いすゞ自動車株式会社）2013. 09. 02, 全文, 全図（ファミリーなし）	1-3

☐ 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
「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を付す）
「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と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
「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

1 8 . 0 9 . 2 0 1 4

国際調査報告の発送日

3 0 . 0 9 . 2 0 1 4

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁（I S A / J P）
郵便番号 1 0 0 - 8 9 1 5
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）

長谷 潮

2 J

3 9 0 7

電話番号 0 3 - 3 5 8 1 - 1 1 0 1 内線 3 2 5 2