

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第6900542号
(P6900542)

(45) 発行日 令和3年7月7日(2021.7.7)

(24) 登録日 令和3年6月18日(2021.6.18)

(51) Int.Cl.	F I
GO 1 N 30/86 (2006.01)	GO 1 N 30/86 Q
GO 1 N 27/62 (2021.01)	GO 1 N 27/62 X
GO 1 N 30/72 (2006.01)	GO 1 N 30/72 G
GO 1 N 30/26 (2006.01)	GO 1 N 30/86 F
GO 1 N 30/24 (2006.01)	GO 1 N 30/26 M

請求項の数 14 外国語出願 (全 26 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2020-74237 (P2020-74237)	(73) 特許権者	501205108
(22) 出願日	令和2年4月17日(2020.4.17)		エフ ホフマンーラ ロッシュ アクチエ ン ゲゼルシャフト
(62) 分割の表示	特願2018-531249 (P2018-531249) の分割		スイス連邦、ツェーハー-4070 パー ゼル、グレンツアッハーシュトラーセ 1 24
原出願日	平成28年12月16日(2016.12.16)	(74) 代理人	110001896
(65) 公開番号	特開2020-128990 (P2020-128990A)		特許業務法人朝日奈特許事務所
(43) 公開日	令和2年8月27日(2020.8.27)	(72) 発明者	フランツ、トビアス
審査請求日	令和2年4月17日(2020.4.17)		ドイツ連邦共和国、81479 ミュンヘ ン、クレナーヴェーク 1 ベー
(31) 優先権主張番号	15201395.9	(72) 発明者	コボルト、ウーヴェ
(32) 優先日	平成27年12月18日(2015.12.18)		ドイツ連邦共和国、82362 ヴァイル ハイム、ラーバーシュトラーセ 5
(33) 優先権主張国・地域又は機関	欧州特許庁 (EP)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 自動化された臨床診断システムおよび方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

対象検体を含む試料(10)の自動調製のための試料調製ステーション(50)と、
並列に配置された複数のLCチャンネル(C1-n、C'1-n)を備える液体クロマトグラフィー(LC)分離ステーション(60)と、
調製された試料を前記LCチャンネル(C1-n、C'1-n)のいずれか1つに入力するための試料調製/LCインターフェース(70)と、
制御装置(80)と
を備える臨床診断システム(100)であって、
前記制御装置(80)が、
予め画定された試料調製ワークフローに試料(10)を割り当てることであって、予め画定された試料調製ワークフローのそれぞれが、予め画定された試料調製ステップのシーケンスを含み、前記対象検体に応じて完了のための予め画定された時間を必要とする、予め画定された試料調製ワークフローに試料(10)を割り当てることと、
前記対象検体に応じて、調整された各試料についてLCチャンネル(C1-n、C'1-n)を割り当てることと、
予想される溶離時間に基づいて、重複しないLC溶離液出力シーケンス(E1-n)において、対象検体が異なるLCチャンネル(C1-n、C'1-n)から溶離するのを可能にする、前記調整された試料を入力するためのLCチャンネル入力シーケンス(I1-n)を計画することと、

前記 LC チャンネル入力シーケンス (I 1 - n) と適合する調製試料出力シーケンス (P 1 - n) を前記試料調製ステーション (5 0) から生成する試料調製開始シーケンス (S 1 - n) を設定して開始することと、
基準期間を設定し、

基準期間当たり最大で 1 つの試料の調製を開始することであって、前記試料調製開始シーケンス (S 1 - n) において連続する試料の間に、場合によって、1 つまたは複数の基準期間を伴う、基準期間当たり最大で 1 つの試料の調製を開始すること、および / または、

基準期間当たり最大で 1 つの試料の調製を完了することであって、前記調製試料出力シーケンス (P 1 - n) の連続する調製された試料の間に、場合によって、1 つまたは複数の基準期間を伴う、基準期間当たり最大で 1 つの試料の調製を完了すること、および / または、

10

基準期間当たり 1 つの調製された試料を前記 LC チャンネル (C 1 - n 、 C ' 1 - n) の 1 つに入力することであって、前記 LC チャンネル入力シーケンス (I 1 - n) の連続する LC チャンネル入力の際に、場合によって、1 つまたは複数の基準期間を伴う、基準期間当たり 1 つの調製された試料を前記 LC チャンネル (C 1 - n 、 C ' 1 - n) の 1 つに入力すること、および / または、

基準期間当たり 1 つの LC 溶離液を出力することであって、前記 LC 溶離液出力シーケンス (E 1 - n) の連続する LC 溶離液の際に、場合によって、1 つまたは複数の基準期間を伴う、基準期間当たり 1 つの LC 溶離液を出力することと
を実行するようにプログラムされる、臨床診断システム (1 0 0) 。

20

【請求項 2】

前記 LC 分離ステーション (6 0) が、より短いサイクル時間を有する少なくとも 1 つの高速 LC チャンネル (C 1 - n) と、より長いサイクル時間を有する少なくとも 1 つの低速 LC チャンネル (C ' 1 - n) とを備える、請求項 1 記載の臨床診断システム (1 0 0) 。

【請求項 3】

前記制御装置 (8 0) が、前記基準期間を前記より短いサイクル時間と同程度の長さの設定するようにプログラムされ、前記少なくとも 1 つの低速 LC チャンネル (C ' 1 - n) が、前記基準期間と同程度の長さの、または、前記基準期間よりも短い、前記対象検体の溶離のための溶離時間ウィンドウを有している、請求項 2 記載の臨床診断システム (1 0 0) 。

30

【請求項 4】

前記より短いサイクル時間が、60 秒未満であり、前記より長いサイクル時間が、60 秒を超える、請求項 2 または 3 記載の臨床診断システム (1 0 0) 。

【請求項 5】

前記より長いサイクル時間が、前記基準期間の n 倍であり、n は 2 以上の整数である、請求項 2 ~ 4 のいずれか 1 項に記載の臨床診断システム (1 0 0) 。

【請求項 6】

前記少なくとも 1 つの高速 LC チャンネル (C 1 - n) が、キャピラリーフローインジェクション分析チャンネルまたは高速捕捉および溶離オンライン液体クロマトグラフィーチャンネルであり、前記少なくとも 1 つの低速 LC チャンネル (C ' 1 - n) が、超高速液体クロマトグラフィーチャンネルである、請求項 2 ~ 5 のいずれか 1 項に記載の臨床診断システム (1 0 0) 。

40

【請求項 7】

前記試料調製ステーション (5 0) が、検体および / またはマトリックス選択性基を担持する磁気ビーズで試料を処理するための磁気ビーズ処理ユニット (5 1) を備える、請求項 1 ~ 6 のいずれか 1 項に記載の臨床診断システム (1 0 0) 。

【請求項 8】

質量分析計 (9 0) と、前記 LC 分離ステーション (6 0) を前記質量分析計 (9 0) に接続するための LC / MS インターフェース (9 1) とをさらに備える請求項 1 ~ 7 のい

50

ずれか1項に記載の臨床診断システム(100)。

【請求項9】

前記LC/MSインターフェース(91)が、イオン化源(92)と前記質量分析計(90)との間にイオン移動度モジュール(95)を備える、請求項8記載の臨床診断システム(100)。

【請求項10】

すべてのLCチャンネル(C1-n、C'1-n)が、前記LC/MSインターフェース(91)に交代で接続可能であり、前記制御装置(80)が、前記LC溶離液出力シーケンス(E1-n)に従って、パルススイッチ(61)を制御する、請求項8または9記載の臨床診断システム(100)。

10

【請求項11】

試料調製ステーション(50)により対象検体を含む試料(10)を自動的に調製することと、

並列に配置された複数のLCチャンネル(C1-n、C'1-n)を備える液体クロマトグラフィー(LC)分離ステーション(60)に、試料調製/LCインターフェース(70)を介して、調製された試料を入力することと

を含む臨床診断方法であって、前記方法はさらに、

予め画定された試料調製ワークフローに試料(10)を割り当てることであって、予め画定された試料調製ワークフローのそれぞれが、予め画定された試料調製ステップのシーケンスを含み、前記対象検体に応じて完了のための予め画定された時間を必要とする、予め画定された試料調製ワークフローに試料(10)を割り当てることと、

20

前記対象検体に応じて、調整された各試料についてLCチャンネル(C1-n、C'1-n)を割り当てることと、

予想される溶離時間に基づいて、重複しないLC溶離液出力シーケンス(E1-n)において、異なるLCチャンネル(C1-n、C'1-n)から対象検体が溶離するのを可能にする、前記調整された試料のためのLCチャンネル入力シーケンス(I1-n)を計画することと、

前記LCチャンネル入力シーケンス(I1-n)と適合する調製試料出力シーケンス(P1-n)を前記試料調製ステーション(50)から生成する試料調製開始シーケンス(S1-n)を設定して開始することと、

30

基準期間を設定し、

基準期間当たり最大で1つの試料の調製を開始することであって、前記試料調製開始シーケンス(S1-n)において連続する試料の間に、場合によって、1つまたは複数の基準期間を伴う、基準期間当たり最大で1つの試料の調製を開始すること、および/または、

基準期間当たり最大で1つの試料の調製を完了することであって、前記調製試料出力シーケンス(P1-n)の連続する調製された試料の間に、場合によって、1つまたは複数の基準期間を伴う、基準期間当たり最大で1つの試料の調製を完了すること、および/または、

基準期間当たり1つの調製された試料を前記LCチャンネル(C1-n、C'1-n)の1つに入力することであって、前記LCチャンネル入力シーケンス(I1-n)の連続するLCチャンネル入力の際に、場合によって、1つまたは複数の基準期間を伴う、基準期間当たり1つの調製された試料を前記LCチャンネル(C1-n、C'1-n)の1つに入力すること、および/または、

40

基準期間当たり1つのLC溶離液を出力することであって、前記LC溶離液出力シーケンス(E1-n)の連続するLC溶離液の際に、場合によって、1つまたは複数の基準期間を伴う、基準期間当たり1つのLC溶離液を出力することと

を含む、臨床診断方法。

【請求項12】

前記LC溶離液出力シーケンス(E1-n)に従って、前記LC分離ステーション(60

50

)を質量分析計(90)に接続するLC/MSインターフェース(91)に、前記LCチャンネル(C1-n、C'1-n)を交代で接続することを含む請求項11記載の臨床診断方法。

【請求項13】

前記複数のLCチャンネル(C1-n、C'1-n)が、より短いサイクル時間を有する少なくとも1つの高速LCチャンネル(C1-n)と、より長いサイクル時間を有する少なくとも1つの低速LCチャンネル(C'1-n)とを備える、請求項11または12記載の臨床診断方法。

【請求項14】

前記方法が、前記基準期間を前記より短いサイクル時間と同程度の長さに設定することを含み、前記少なくとも1つの低速LCチャンネル(C'1-n)が、前記基準期間と同程度の長さの、または、前記基準期間よりも短い、前記対象検体の溶離のための溶離時間ウィンドウを有している、請求項13記載の臨床診断方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

任意で質量分析法に連結された多重液体クロマトグラフィーの前の自動試料調製を含む臨床診断システムおよび方法が開示される。

【背景技術】

【0002】

質量分析法、より具体的には、臨床検査室でのタンデム質量分析法に連結された液体クロマトグラフィー(LC-MS/MS)の実施に対する関心が高まっている。特に治療薬物モニタリングまたは薬物乱用試験における小分子のための公表された方法の数は増加している。

【0003】

事前検証された臨床MSアプリケーションのために使用可能なキットのいくつかは市販されてきている。

【0004】

しかしながら、このようなキットとの関連であっても、質量分析法の使用は、臨床診断のために規制当局に承認されていない可能性がある。これは、極少数の検体を除いて、標準化された手順が欠如していること、および依然としてユーザ依存因子が多いことが主な原因である。ユーザ依存因子が多いのは、たとえば、まだ実施されている多くの手作業や、使用され、組み合わせられ、信頼性と再現性のある臨床的関連性の結果を提供する役割を果たすハードウェアコンポーネントの多様性による。特に、試料調製は、典型的には手作業で退屈な手順である。その後の遠心分離によるタンパク質の沈殿は、望ましくなく、また潜在的に妨害する試料マトリックスを除去する最も一般的な方法である。キットの使用は、少なくとも部分的に自動化され得る試料調製を部分的に促進することができる。しかし、キットは限られた数の対象検体に対してのみ利用可能であり、試料調製から分離および検出までのプロセス全体が複雑であり、高度に訓練された検査室スタッフが高度に洗練された機器を使用する必要がある。

【0005】

また、典型的には、同一の調製条件下で予め調製された試料のバッチが同じ分離条件で連続する分離作業を受けるパッチアプローチが続いて行なわれる。しかしながら、このアプローチは、高いスループットを可能にせず、柔軟性がなく、たとえば、より高い優先度を有し、最初に処理されなければならない緊急試料が持ち込まれるという観点では、再スケジューリング(事前に画定された処理シーケンスの変更)を可能にしない。

【発明の概要】

【0006】

本明細書では、質量分析法に連結されたLCをより便利でより信頼性があり、したがって臨床診断に適したものとするシステムおよび方法が記載される。特に、高スループット

10

20

30

40

50

、たとえば、質量分析法へのオンラインでの連結を可能にしながら、ランダムアクセス試料調製およびLC分離を伴う最大100試料/時間以上の高スループットが得られる。さらに、プロセスを完全に自動化することで、離れられる時間を増加させ、必要なスキルのレベルを低下させることができる。

【0007】

臨床診断システムおよび臨床診断方法が記載される。臨床診断システムは、対象検体を含む試料の自動調製のための試料調製ステーションと、複数のLCチャンネルを備える液体クロマトグラフィー(LC)分離ステーションと、調製された試料をLCチャンネルのいずれか1つに入力するための試料調製/LCインターフェースとを備える。臨床診断システムはさらに、予め画定された試料調製ワークフローに試料を割り当てるようにプログラムされる制御装置を備え、予め画定された試料調製ワークフローのそれぞれは、予め画定された試料調製ステップのシーケンスを含み、対象検体に応じて完了のための予め画定された時間を必要とする。制御装置はさらに、対象検体に応じて、調製された各試料についてLCチャンネルを割り当てるようにプログラムされ、予想される溶離時間に基づいて、重複しないLC溶離液出力シーケンスにおいて、異なるLCチャンネルから対象検体が溶離することを可能にする、調製された試料を入力するためのLCチャンネル入力シーケンスを計画するようにプログラムされる。制御装置はさらに、LCチャンネル入力シーケンスと適合する調製試料出力シーケンスを生成する試料調製開始シーケンスを設定して開始するようにプログラムされる。

【0008】

「臨床診断システム」は、インビトロ診断のための試料の分析専用の検査室自動化装置である。臨床診断システムは、必要性に従って、および/または所望の検査室ワークフローに従って、異なる構成を有してもよい。追加の構成は、複数の装置および/またはモジュールと一緒に結合することによって得ることができる。「モジュール」は、典型的には臨床診断システム全体よりもサイズが小さく、専用機能を有する作業セルである。この機能は、分析機能であり得るが、分析前機能または分析後機能でもよく、または分析前機能、分析機能または分析後機能のいずれかの補助機能でもよい。特に、モジュールは、たとえば1つまたは複数の分析前および/または分析および/または分析後のステップを実施することによって、試料処理ワークフローの専用タスクを実行するために、1つまたは複数の他のモジュールと協働するように構成することができる。特に、臨床診断システムは、特定の種類の分析、たとえば臨床化学、免疫化学、凝固、血液学、液体クロマトグラフィー分離、質量分析などのために最適化されたそれぞれのワークフローを実行するように設計された1つまたは複数の分析装置を備えることができる。したがって、臨床診断システムは、分析前および/または分析後モジュールが個々の分析装置に連結されるか、または複数の分析装置によって共有され得る、1つの分析装置またはそのような分析装置のいずれかとそれぞれのワークフローとの組み合わせを備えることができる。代替的に、分析前および/または分析後機能は、分析装置に一体化されたユニットによって実行されてもよい。臨床診断システムは、試料および/または試薬および/またはシステム流体のピペット操作および/またはポンプ動作および/または混合動作のための液体処理ユニットなどの機能ユニット、ならびに仕分、貯蔵、輸送、識別、分離、検出のための機能ユニットを備えることができる。

【0009】

用語「試料」は、1つまたは複数の対象検体を含むと疑われ、その定性的および/または定量的な検出が臨床の状態に関連し得る生物学的物質を指す。試料は、血液、唾液、接眼レンズ液、脳脊髄液、汗、尿、泌乳液、腹水、粘液、滑液、腹膜液、羊水、組織、細胞などを含む生理学的流体などの任意の生物学的供給源から得ることができる。試料は、血液から血漿を調製する、粘性流体を希釈する、溶解するなど、使用前に前処理することができ、処理方法は、濾過、遠心分離、蒸留、濃縮、干渉成分の不活性化、および試薬の添加を含み得る。試料は、いくつかの場合において、供給源から得られたまま直接使用されてもよく、または試料の特性を修正するための前処理および/または試料調製ワークフロ

10

20

30

40

50

ーに続いて、たとえば、1つまたは複数のインビトロ診断試験の実施を可能にするために、または、対象検体を濃縮（抽出／分離／濃縮）するために、および／もしくは（1つまたは複数の）対象検体の検出を潜在的に妨害するマトリックス成分を除去するために、たとえば内部標準を添加した後、別の溶液で希釈した後、または試薬と混合した後に、使用されてもよい。「試料」という用語は、試料調製前の試料を示すのに用いられる傾向があり、「調製試料」という用語は、試料調製後の試料を指すのに用いられる。非特定の場合、「試料」という用語は、一般に、試料調製前の試料もしくは試料調製後の試料のいずれか、またはその両方を示し得る。対象検体の例は、ビタミンD、乱用薬物、治療薬、ホルモン、および代謝産物一般である。しかし、リストは網羅的ではない。

【0010】

10

特に、臨床診断システムは、試料の自動調製のための試料調製ステーションを備える。「試料調製ステーション」は、試料中の干渉マトリックス成分を除去もしくは少なくとも低減し、および／または、試料中の対象検体を濃縮することを目的とした一連の試料処理ステップを実行するように設計された、1つまたは複数の分析装置に連結される分析前モジュールまたは分析装置内のユニットである。そのような処理ステップは、1つの試料または複数の試料に対して、順次、並列または互い違いに実行される以下の処理操作のうち任意の1つまたは複数を含んでいてもよい：流体のピペット処理（吸引および／または分注）、流体のポンプ処理、試薬との混合、特定の温度での培養、加熱または冷却、遠心分離、分離、濾過、ふるい分け、乾燥、洗浄、再懸濁、アリコート、移送、保存など。

【0011】

20

一実施形態によれば、試料調製ステーションは、対象検体を抽出／濃縮し、マトリックス成分を除去または少なくとも減少させるために、検体および／またはマトリックス選択性基（selective group）を担持する磁気ビーズを含む試薬で試料を処理するための磁気ビーズ処理ユニットを備える。特に、磁気ビーズ処理ユニットは、少なくとも1つの反応容器を保持し、そこに収容された1つの試料または複数の試料に添加された磁気ビーズを操作するための少なくとも1つの磁気または電磁気ワークステーションを備える。磁気ビーズ処理ユニットは、たとえば偏心回転機構により、たとえば（1つまたは複数の）反応容器を振動させ、もしくは攪拌することによって、（1つまたは複数の）反応容器内で流体を混合する、および／または磁気ビーズを再懸濁するための混合機構をさらに備えていてもよい。あるいは、ビーズ処理ユニットは、磁気ビーズがチャンネルまたはキャピラリーフロースルーデバイスに捕捉されるフロースルーシステムであってもよい。この実施形態によれば、フロースルーチャンネル内でビーズを繰り返し磁氣的に捕捉して解放することによって、検体の捕捉、洗浄および解放を行うことができる。

【0012】

「ビーズ」という用語は、必ずしも球形を指すのではなく、ナノメートルまたはマイクロメートルの範囲の平均サイズを有し、任意の可能な形状を有する粒子のことを指す。

【0013】

非磁気ビーズを使用することもできる。その場合、捕捉および解放は、濾過に基づいてもよい。試料調製ステーションは、試料、試薬、洗浄液、懸濁液などの流体を（1つまたは複数の）反応容器に添加／反応容器から除去するための1つまたは複数のピペット装置または流体輸送装置をさらに備えていてもよい。

40

【0014】

試料調製ステーションは、反応容器搬送機構をさらに備えていてもよい。

【0015】

磁気ビーズ処理の代わりに、または磁気ビーズ処理に加えて、遠心分離、カートリッジに基づく固相抽出、ピペットチップに基づく固相抽出、液体抽出、親和性に基づく抽出（免疫吸着、分子インプリント、アプタマーなど）が後に続くタンパク質沈殿などの他の技術が用いられてもよい。

【0016】

「試薬」は、たとえば、分析用試料を調製し、反応を起こさせ、または試料もしくは試

50

料中に含まれる検体の物理的パラメータの検出を可能にするために、試料を処理するために使用される物質である。特に、試薬は、反応物であるか、または反応物を含む物質、典型的には、たとえば、試料に存在する1つもしくは複数の検体または試料の望ましくないマトリックス成分に結合するか、または化学的に変換することができる化合物または剤であり得る。反応物の例は、酵素、酵素基質、結合色素、タンパク質結合分子、リガンド、核酸結合分子、抗体、キレート剤、プロモーター、阻害剤、エピトープ、抗原などである。しかしながら、試薬という用語は、水もしくは他の溶媒を含む希釈液または緩衝液を含む、試料に加えることができる任意の流体を含むように使用されるか、またはタンパク質、結合タンパク質もしくは表面に対する検体の特異的もしくは非特異的結合を破壊するために使用される物質を含むように使用される。

10

【0017】

試料は、たとえば、一次管および二次管を含む試料管、またはマルチウェルプレート、または他の任意の試料担持支持体などの試料容器に提供され得る。試薬は、たとえば、個々の試薬または試薬のグループを含有する容器またはカセットの形態で配置され、貯蔵区画またはコンペア内の適切な容器または位置に配置され得る。他の種類の試薬またはシステム流体は、バルク容器に、またはライン供給を介して提供されてもよい。

【0018】

「液体クロマトグラフィー(LC)分離ステーション」は、たとえば、引き続き検出、たとえば質量分析法による検出を依然として妨害する可能性があるマトリックス成分を残して、対象検体をマトリックス成分から分離するために、および/または、対象検体を互いに分離して、それらの個々の検出を可能にするために、調製された試料にクロマトグラフィー分離を施すように設計された分析装置もしくはモジュール、または分析装置内のユニットである。一実施形態によれば、LC分離ステーションは、質量分析のために試料を調製し、および/または調製された試料を質量分析計に移送するように設計された中間分析装置もしくはモジュール、または分析装置内のユニットである。特に、LC分離ステーションは、並列に配置された複数のLCチャネルを備えるマルチチャネルLCステーションである。

20

【0019】

「LCチャネル」は、(1つまたは複数の)試料および検体の種類に応じて選択された固定相を含む少なくとも1つのキャピラリー管および/またはLCカラムを含む流体ラインであり、それを通して移動相が、選択された条件下で、たとえば一般的に知られているように、その極性もしくはlog P値、サイズまたは親和性に従って、対象検体を捕捉し、および/または分離して溶離し、および/または移送するために、ポンプ輸送される。少なくとも1つのLCチャネル内の少なくとも1つのLCカラムは、交換可能であってもよい。特に、LC分離ステーションは、LCチャネルより多くのLCカラムを備えていてもよく、複数のLCカラムは、同じLCチャネルに交換可能に連結されてもよい。キャピラリー管は、LCカラムをバイパスしてもよいし、または溶離時間ウィンドウを微調整するためにデッドボリュームの調整を可能にしてもよい。

30

【0020】

特定の実施形態によれば、LC分離ステーションは、より短いサイクル時間を有する少なくとも1つの高速LCチャネルと、より長いサイクル時間を有する少なくとも1つの低速LCチャネルとを備える。しかしながら、LC分離ステーションは、代替的に、低速LCチャネルを有さない少なくとも2つの高速LCチャネル、または高速LCチャネルを有さない少なくとも2つの低速LCチャネルを備えていてもよい。

40

【0021】

「サイクルタイム」は、LCチャネルへの試料入力(注入)から、同じLCチャネルが別の試料入力の準備ができるまでの時間である。換言すれば、サイクル時間は、予め画定された条件下で同じLCチャネル内の連続する2つの試料入力の間経過する最小時間であり、秒単位で測定することができる。サイクル時間は、注入時間、最新の対象検体の溶離までの分離時間、および新しい注入のためにカラムを準備するための再平衡時間を含む

50

【 0 0 2 2 】

LCチャンネルに関して「高速」および「低速」という用語は、同じLC分離ステーションにおいてそれらの間の異なるLCチャンネルを比較するために使用される相対的な用語である。特に、これらの用語はサイクル時間の継続時間に関連し、必ずしもLCチャンネルの分解能力に関連しない。しかし、典型的には、低速LCチャンネルは、高速LCチャンネルよりも高い分解能を有し、高速LCチャンネルは、低速LCチャンネルよりも低い分解能を有し、高速LCチャンネルでは、分解能が速度のために妥協され得る。典型的には、高速LCチャンネルは、60秒未満のサイクル時間を有し、たとえば5秒～60秒のサイクル時間、より典型的には20～40秒の範囲のサイクル時間を有し、低速LCチャンネルは、60秒を
10 超えるサイクル時間を有し、典型的には60秒～600秒の範囲のサイクル時間を有し、より典型的には60～400秒の範囲のサイクル時間を有する。

【 0 0 2 3 】

一実施形態によれば、LC分離ステーションは、少なくとも2つの高速LCチャンネル、または少なくとも2つの交換可能なLCカラムを有する少なくとも1つの高速LCチャンネルと、少なくとも2つの低速LCチャンネルとを備え、たとえば、2つの高速LCチャンネルおよび4つの低速LCチャンネルを備える。低速LCチャンネルは、それらの間で同じであっても異なってもよく、たとえば、1つが、HILICカラムを備え、1つが、逆相(RP)またはペンタフルオロフェニル(PFP)カラムを備え、条件は、異なるカラムごとにサイクル時間が同じになるように選択される。(1つまたは複数の)高速LCチャンネルは、それらの間で同じであっても異なってもよく、たとえば、1つが、HILIC
20 カラムを備え、1つが、逆相(RP)またはペンタフルオロフェニル(PFP)カラムを備え、条件は、異なるカラムごとにサイクル時間が同じになるように選択される。

【 0 0 2 4 】

一実施形態によれば、少なくとも1つの高速LCチャンネルは、キャピラリーフローインジェクション分析(FIA)チャンネルまたは高速捕捉および溶離オンライン液体クロマトグラフィーチャンネル(rapid trap and elute online liquid chromatography channel)であり、少なくとも1つの低速LCチャンネルは、超高速液体クロマトグラフィー(ultra-high-performance liquid chromatography)(UHPLC)チャンネルである。

【 0 0 2 5 】

特に、対象検体に応じて、調製された各試料は、高速LCチャンネルまたは低速LCチャンネルに入力され得る。たとえば、試料が検体の精製および濃縮のみを必要とする場合、十分な分離がたとえば次の質量分光分析および/または他の分離技術で得られるので、試料は高速LCチャンネル、たとえばFIAチャンネル、または高速捕捉および溶離オンライン液体クロマトグラフィーチャンネルに入力される。そのような場合、対象検体を保持する固定相が選択されるが、塩、緩衝液、界面活性剤および他のマトリックス成分はいずれも保持されず、洗い流される。このプロセスの後に、典型的には、たとえばバックフラッシュモードにおいて、異なる移動相または溶媒勾配とともに、検体の溶離が続く。検体に応じて、場合によってはいくつかの検体の分離が予想され得る。一方、同一質量(同重体)および/または多重反応モニタリング(MRM)において重複するプロダクトイオンスペクトル(daughter ion spectra)を有する検体の場合、質量分析法に来るときは、より広範な
40 クロマトグラフィー分離が好ましい場合がある。その場合、試料は、低速LCチャンネル、たとえばUHPLCチャンネルに入力される。

【 0 0 2 6 】

LC分離ステーションは、典型的には、十分な数のポンプ、たとえば、溶離勾配の使用を必要とする条件の場合はバイナリーポンプ、およびいくつかのスイッチングバルブを備える。

【 0 0 2 7 】

臨床診断システムは、調製された試料をLCチャンネルのいずれかに入力するための試料調製/LCインターフェースをさらに備える。「試料調製/LCインターフェース」は、
50

試料調製ステーションとLC分離ステーションとの間のモジュール、または試料調製ステーションもしくはLC分離ステーションに一体化されたユニット、または試料調製ステーションとLC分離ステーションとの間の構成要素を共有するユニットである。試料調製/LCインターフェースは、保持機能、把持機能、移送機能のうちの1つまたは複数を備えた容器処理ユニットまたは調製試料受承ユニットを備えていてもよい。一実施形態によれば、調製試料受承ユニットは、調製された試料がLCチャンネルに入力される直前に、調製試料出力シーケンスに従って次々に受承される再使用可能な凹部であり、凹部は、連続する試料の間で洗浄されてもよい。

【0028】

試料調製/LCインターフェースは、調製された試料をLCチャンネルのいずれかに入力するための液体処理ユニットを備える。液体処理ユニットは、ピペット装置、ポンプ、オートサンプラ、フローインジェクション装置、1つまたは複数のスイッチングバルブ、特にLCチャンネル間を切り替える少なくとも1つのスイッチングバルブのうちの任意の1つまたは複数を備えていてもよい。特に、容器処理ユニットおよび液体処理ユニットは、任意の調製試料への任意の利用可能なLCチャンネルのランダムアクセスを可能にするように設計することができる。

10

【0029】

臨床診断システムはさらに制御装置を備える。「制御装置」は、動作計画に従い、特に試料調製およびLCチャンネル入力に関連する動作を実行するための命令を備えたコンピュータ可読プログラムを実行するプログラマブルロジックコントローラである。

20

【0030】

特に、制御装置は、いつ、どの試料を調製しなければならないか、および各試料について、いつ、どの調製ステップを実行しなければならないかを決定するために、受信した分析オーダーと分析オーダーの実行に関連する多数のスケジュールされた処理オペレーションとを考慮に入れるために、スケジューラと協働することができる。異なる種類の試料および/または同じもしくは異なる種類の試料に含まれる異なる対象検体は、異なる調製条件、たとえば異なる試薬または異なる数の試薬、異なる容量、異なる培養時間、異なる洗浄条件などを必要とすることがあり、異なる試料の調製は、異なる試料調製ワークフローを必要とすることがある。したがって、制御装置は、予め画定された試料調製ワークフローに試料を割り当てるようにプログラムされている。予め画定された試料調製ワークフローのそれぞれは、たとえば異なるステップおよび/または異なる数のステップを含む、予め画定された一連の試料調製ステップのシーケンスを含み、完了のための予め画定された時間、たとえば3~4分(a few minutes)から6~7分(several minutes)を必要とする。

30

【0031】

したがって、制御装置は、異なる試料について、並行してまたは互い違いに生じるように試料調製をスケジュールすることができる。論理的にそうすることによって、制御装置は、競合を回避しながら効率を高めるために、試料調製ステーションの機能的リソースの使用をスケジュールし、調製された試料をLC分離ステーションに入力することができるペースで試料を調製することによって、スループットを最大にする。これは、事前に試料のバッチを調製するのではなく、それはもちろん可能であるが、制御装置は、到着したオーダー、たとえば優先順位、調製時間、要求される機能リソースの使用、特に試料の調製が完了するまでにその試料が意図されているLCチャンネルの利用可能性を考慮に入れながら、試料調製ステーションに、必要に応じて試料を、または、LC分離ステーションから、特に個々のLCチャンネルによって取り出すことができる試料を調製するよう指示することができることを意味する。

40

【0032】

試料調製ワークフローは、検体に特異的であってもよく、試料は、試料中の1つまたは複数の対象検体に応じて、予め画定された試料調製ワークフローに割り当てられてもよい。試料はまた、予め画定された検体特異的試料調製ワークフローに供される前に、典型的

50

には試料の種類に特異的である試料前処理ワークフローを受けてもよい。たとえば、全血のための少なくとも1つの試料前処理ワークフロー、血漿および/または血清のための少なくとも1つの試料前処理ワークフロー、尿のための少なくとも1つの試料前処理ワークフローなどがあり得る。異なる試料前処理ワークフローには、完了までに異なる時間が必要となる場合のある異なるステップまたは異なる数のステップが含まれてもよい。

【0033】

試料前処理ワークフローは、内部標準の添加、溶血試薬の添加、酵素試薬の添加、予め画定された温度での培養、希釈液の添加などの処理ステップを含んでもよい。

【0034】

したがって、制御装置は、予め画定された試料前処理ワークフローを各試料に割り当てるようにプログラムされてもよい。もちろん、試料前処理ワークフローのステップのいずれかまたはすべてを試料調製ワークフローに含めて、制御装置が各試料に1つのワークフローのみを割り当てるようにしてもよく、特に指定しない限り、「予め画定された試料調製ワークフロー」という用語は、試料前処理ワークフローも含んでもよい。個々に開始することができる2つのワークフローでの試料前処理および試料調製の分離は、試料調製開始シーケンスを設定するときに制御装置に柔軟性を与えるという利点を有する。

10

【0035】

さらに、LC分離ステーションは複数のLCチャンネルを含むので、異なるLCチャンネルからのLC溶離液が、同時にではなく互い違いに出力されることで、LC溶離液出力を、たとえば単一の共通の検出器によって、連続的に検出することができ、多重化されたアプ

20

【0036】

「LC溶離液」という用語は、本明細書では、少なくとも1つの対象検体を含む溶離液のフラクションを示すために使用される。

【0037】

したがって、制御装置はさらに、対象検体に応じて、調製された各試料についてLCチャンネルを割り当てる(事前に予約する)ようにプログラムされ、予想される溶離時間に基づいて、重複しないLC溶離液出力シーケンスにおいて、異なるLCチャンネルから対象検体が溶離するのを可能にする、調製された試料のLCチャンネル入力シーケンスを計画するようにプログラムされる。

30

【0038】

制御装置はさらに、LCチャンネル入力シーケンスに対応する調製試料出力シーケンスを生成する、各試料の試料調製ステップをスケジューリングすることを含む、試料調製開始シーケンスを設定および開始するようにプログラムされる。

【0039】

「試料調製開始シーケンス」とは、試料を次々に調製し始める順序をいう。

【0040】

「調製試料出力シーケンス」とは、試料調製を開始した試料の調製が完了する順序をいう。

【0041】

試料調製開始シーケンス中の異なる試料は、完了に異なる時間を要する可能性がある異なる試料調製ワークフローを受けることがあるので、試料の調製が開始される順序は、試料の調製が終了する順序と異なる場合がある。換言すれば、試料調製開始シーケンスは、調製試料出力シーケンスとは異なることがある。

40

【0042】

「LCチャンネル入力シーケンス」とは、調製試料出力シーケンスの調製試料が次々に入力されるLCチャンネルの順序をいう。

【0043】

制御装置は、LCチャンネル入力シーケンスと適合する調製試料出力シーケンスを生成する試料調製開始シーケンスを設定および開始するようにプログラムされる。これは、試料

50

の調製が完了したときに、割り当てられたLCチャンネルも使用可能であり、調製された試料を、別の試料の調製が完了する前に、または次の調製試料が試料調製/LCインターフェースに到着する前に、割り当てられたLCチャンネルに入力できるように、各試料の試料調製の開始と終了をスケジューリングすることを意味する。このようにして、臨床診断システムは連続的に動作させることができ、受け取った分析オーダーから分析結果までの最短の応答時間を得ることができる。

【0044】

「LC溶離液出力シーケンス」とは、溶離液が次々に出力されるLCチャンネルの順序をいう。特に、それぞれ異なるサイクル時間を有する高速および低速LCチャンネルの場合、LC溶離液出力シーケンスは、LCチャンネル入力シーケンスとは異なる場合がある。

10

【0045】

より長いサイクル時間とより短いサイクル時間をそれぞれ有する低速LCチャンネルと高速LCチャンネルの両方の使用を組み合わせた多重液体クロマトグラフィー分離を実行することによって、および、基準期間によって定められたリズムに従う論理的方法で試料調製およびLCチャンネル入力を制御することによって、たとえば高速LCチャンネルのみの連続分離、または低速LCチャンネルのみの多重分離を実行する場合と比較して、分析可能な異なる分析物の数に関して、より高い柔軟性を得ることができ、より高い試料分析スループットを得ることができる。

【0046】

「基準期間」は、可能性のある1つまたは複数のイベントが発生するペースまたはリズムを設定し、その1つまたは複数のイベントが発生することができる時間境界を設定する時間枠であり、その長さは固定可能である。特に、基準期間を、高速LCチャンネルのより短いサイクル時間と同程度の長さの設定することが有利であり得る。

20

【0047】

たとえば、基準期間は、対象検体の溶離のための、少なくとも1つの低速LCチャンネルの溶離時間ウィンドウの境界を設定する。特に、少なくとも1つの低速LCチャンネルの、カラムの種類およびサイズ、移動相、溶離および再平衡の条件を含む操作条件は、対象検体の溶離時間ウィンドウが、基準期間と同程度の長さ、または基準期間よりも短くなるように選択される。

【0048】

LCチャンネルを割り当て、LCチャンネル入力シーケンスを計画するとき、制御装置は、高速LCチャンネルおよび低速LCチャンネルのそれぞれのより短いサイクル時間およびより長いサイクル時間を考慮する。一実施形態によれば、少なくとも1つの低速LCチャンネルのより長いサイクル時間は、より短いサイクル時間の n 倍であり、したがって基準期間の n 倍であり、 n は2以上の整数である。典型的には、 n は2~10 ($n=2\sim 10$)である。言い換えれば、より長いサイクル時間は、基準期間の倍数で定義される。

30

【0049】

特定の実施形態によれば、予め画定された試料調製ワークフローの試料調製ステップまたは試料調製ステップのグループは、基準期間または基準期間の倍数と同程度の長さの時間ウィンドウ内に生じるようにスケジュールされる。この場合、予め画定された試料ワークフローは、基準期間の倍数に対応する時間、すなわち基準期間の n 倍 (n は2以上の整数であり、 n は、異なる試料調製ワークフローについて異なってもよい) で完了することができる。

40

【0050】

基準期間の観点で、特に一定長さを有する時間単位である基準期間の倍数で、予め画定された試料調製ワークフローおよび/またはサイクル時間の継続時間を表現することにより、制御装置は、効率およびスループットを最大にするために、LCチャンネル入力シーケンスおよび試料調製開始シーケンスをより計画し易くなる。

【0051】

一実施形態によれば、試料調製開始シーケンスにおける新しい試料の調製は、基準期間

50

当たり1つの試料の頻度で、または、1つまたは複数の基準期間によって分離された間隔で開始される。これは、新しい試料の調製が開始する基準期間の中で、基準期間のシーケンスからなるタイムラインにおいて、試料調製が開始されていない空の基準期間が存在する可能性があることを意味する。

【0052】

一実施形態によれば、調製試料出力シーケンスにおける試料の調製は、基準期間当たり1つの調製試料の頻度で、または、1つもしくは複数の基準期間によって分離された間隔で完了する。その結果、LC分離ステーションにおける調製試料の入力は、基準期間当たり1つの試料入力の頻度で、または、1つもしくは複数の基準期間によって分離された間隔で行なわれてもよい。これは、試料の調製が完了し、調製試料がLCチャンネルに入力される基準期間の中で、基準期間のシーケンスからなるタイムラインにおいて、試料の調製が完了していないか、または、LCチャンネルに調製試料が入力されていない空の基準期間が存在する可能性があることを意味する。

10

【0053】

試料調製の完了および同じ調製試料の入力は、必ずしも同じ基準期間に生じる必要はないが、隣接する基準期間、または、1つもしくは複数の基準期間によって分離された基準期間に生じ得る。

【0054】

これにより、制御装置は、LCチャンネル入力シーケンスを計画する際にさらに柔軟性を有することになる。

20

【0055】

一実施形態によれば、LC溶離液出力シーケンスにおけるLC溶離液は、基準期間当たり1つのLC溶離液の頻度で、または、1つもしくは複数の基準期間によって分離された間隔で出力される。これは、LC溶離液が存在する基準期間の中で、基準期間のシーケンスからなる同じタイムラインにおいて、LC溶離液のない空の基準期間が存在する可能性があることを意味する。

【0056】

特に、制御装置は、スループットを最大にするために、空の基準期間の数を最小限にしようとすると同時に、常時、最も便利な試料調製開始シーケンスおよびLCチャンネル入力シーケンスを設定するようにプログラムされている。特に、可能であればいつでも、制御装置は、基準期間当たり1つのLC溶離液を得ることを試みる。

30

【0057】

ルーチンの実施では、入ってくる試料の数および種類ならびにそれぞれの分析オーダーに応じて、別のチャンネル以外の1つのLCチャンネル、たとえば高速LCチャンネル以外の低速LCチャンネル、またはその逆、別のLCチャンネルの別の種類のカラム以外の、LCチャンネルの1つの種類のカラムが必要となる可能性がある。したがって、いくつかのLCチャンネルの使用が、他のLCチャンネルの使用よりも頻繁である可能性がある。

【0058】

LCチャンネルの数および種類、たとえば高速LCチャンネルおよび低速LCチャンネルそれぞれの数と種類にも基づいて、異なる実施形態または異なる程度の柔軟性が可能である。

40

【0059】

いくつかの可能な実施形態の1つによれば、一例を示す概念を説明するために、LC分離ステーションは、2つの高速LCチャンネルおよび4つの低速LCチャンネルを備えていてもよい。より短いサイクル時間、ひいては基準期間は、たとえば36秒であり得るが、より長いサイクル時間は、たとえば288秒、すなわち基準期間の8倍(8×36秒)であり得る。低速LCチャンネルの運転条件は、低速LCチャンネルの溶離時間ウィンドウがこの場合36秒以下になるように選択される。2つの高速LCチャンネルは、基準期間当たり1つの試料のスループットで順次実行することができる(36秒/試料)。4つの低速LCチャンネルは、2つの基準期間当たり1つの試料のスループットで互い違いに実行することができる(72秒/試料)。低速LCチャンネルの溶離時間ウィンドウは基準期間以下であ

50

り、高速LCチャンネルからのLC溶離液は2つの基準期間の間隔で生じるので、基準期間ごとに新しい試料を入力し、低速LCチャンネルの2つの連続した溶離ウィンドウの間に高速LCチャンネルを実行し、これにより、基準期間、この場合には36秒毎に、高速LCチャンネルまたは低速LCチャンネルのいずれかからLC溶離液を得ることができる。この例では、1試料/36秒、すなわち100試料/1時間のスループットが得られる。

【0060】

より短いサイクル時間、ひいては基準期間は、臨床診断システムの所望のスループットに従って、ならびに/または高速および低速LCチャンネルそれぞれの数および種類に従って、ならびに/または予め画定された試料調製ワークフローに従って調整可能である。

【0061】

上記の例では、高速LCチャンネルへの試料入力、すべてのLCチャンネルが連続的に使用されている場合は、低速LCチャンネルへの試料入力に交代される。

【0062】

実際のスループットは、入ってくる試料とそれぞれの分析オーダーの数と種類、最終的な試料の優先順位付け、およびLCチャンネル構成に応じて、新しい一連の試料の分析がスケジューラされるたびに変わる可能性がある。たとえば、2つ以上の高速LCチャンネルが、2つの連続する低速LCチャンネル間で実行することが可能であり、その逆も可能である。たとえば、一連の試料については、低速LCチャンネルのみを使用することも可能である。上記の例の構成では、2つの基準期間当たり1つの試料のスループットだけを得ることができる。もちろん、LCチャンネルの数を変更することによって、たとえば、十分に多い数のLCチャンネルおよび/またはそれぞれのサイクル時間を有することによって、基準期間当たり1つの試料のスループットは、いずれのシナリオにおいても、または少なくともほとんどの場合において得られる可能性がある。上記の例の続きとして、これは、たとえば、8つの低速LCチャンネルを備えるLCチャンネル構成、または基準期間の8倍の代わりに基準期間の4倍のサイクル時間を有する同じ数の低速LCチャンネルで得ることができる。

【0063】

新しいLCチャンネル入力シーケンスを計画し、新しい試料調製開始シーケンスを設定する際に、制御装置は、実行されるべき多数の臨床診断試験に関する情報を考慮に入れることができる。たとえば、ユーザは、受け取られた試験オーダーまたは予想される試験オーダーに基づいて、たとえば手動で、またはバーコードをスキャンすることによって、または任意の他の試料固有の情報担持タグを読み取ることによって、実行される試験の種類および数を選択することができる。また、たとえば、臨床診断システムは、試料がシステムに入るときに、たとえばバーコードまたは任意の他の試料固有の情報担持タグを読み取ることによって、自動的にオーダーを登録することができる。また、たとえば、制御装置は、自動的に、入ってくる試験オーダーを追跡し、入ってくる試験オーダーの準備をして、それによって、試料が実際に到着する前または到着するときに、LCチャンネル入力シーケンスおよび試料調製開始シーケンスを計画するために、検査室情報システム(LIS)または病院情報システム(HIS)に接続することができる。

【0064】

特に、制御装置は、新しいLCチャンネル入力シーケンスを計画し、試料が臨床診断システムに搬送されるかまたは臨床診断システムに挿入される順序に基づいて新しい試料調製開始シーケンスを設定するようにプログラムされてもよい。これに代えてまたは加えて、制御装置は、LCチャンネル入力シーケンスおよび試料調製開始シーケンスを最適化するために、試料、たとえばパックのような単一の容器キャリア上で搬送される個々の試料が臨床診断システムに搬送されるべき順序を提案してもよい。一実施形態によれば、LCチャンネル入力シーケンスおよび試料調製開始シーケンスは、新しい試料が供給されると、連続的かつ動的に更新されてもよい。これは、他の試料と比較して優先度の高い緊急試料の到着を考慮に入れることができる。臨床診断システム、たとえば試料調製ステーションは、新しい試料調製開始シーケンスが開始される前に複数の試料を受承するためのバッファユ

10

20

30

40

50

ニットを備えてもよく、試料は、個別にランダムにアクセス可能であり、その個々の調製は、試料調製開始シーケンスに従って開始することができる。

【0065】

特定の実施形態によれば、臨床診断システムは、質量分析計(MS)と、LC分離ステーションを質量分析計に接続するためのLC/MSインターフェースをさらに備える。

【0066】

一実施形態によれば、LC/MSインターフェースは、荷電した検体分子(分子イオン)の生成および荷電した検体分子の気相への移送のためのイオン化源を備える。特定の実施形態によれば、イオン化源は、エレクトロスプレーイオン化(ESI)源または加熱エレクトロスプレーイオン化(HESI)源または大気圧化学イオン化(APCI)源または大気圧光イオン化(API)源または大気圧レーザーイオン化(PLI)源である。しかし、LC/MSインターフェースは、二重イオン化源、たとえば、ESI源およびAPCI源の両方、またはモジュラー式交換可能イオン化源を備えてもよい。

10

【0067】

そのようなイオン化源は、当該技術分野において公知であり、ここではさらに説明されない。

【0068】

イオン化条件を最適化するために、イオン化源の直前に補充流を添加することによって溶媒組成を調整して、pH、塩、緩衝液または有機成分を調整することが好ましい場合がある。

20

【0069】

一実施形態によれば、全てのLCチャンネルは、イオン化源に交代で接続可能であり、制御装置は、LC溶離液出力シーケンスに従ってバルブ切替を制御する。

【0070】

一実施形態によれば、質量分析計は高速走査型質量分析計である。一実施形態によれば、質量分析計は、親分子イオンを選択し、衝突誘起フラグメンテーションによってフラグメントを生成し、質量電荷比(m/z)に従ってフラグメントまたはプロダクトイオン(daughter ion)を分離することができるタンデム質量分析計である。一実施形態によれば、質量分析計は、当該技術分野で知られている三重四重極質量分析計である。

【0071】

30

一実施形態によれば、LC/MSインターフェースは、イオン化源と質量分析計との間にイオン移動度モジュールをさらに備える。一実施形態によれば、イオン移動度モジュールは、当該分野で公知の高電場非対称波形イオン移動度分光分析(FAIMS)モジュールであり、同重イオンを含む、気相中の分子イオンの分離をミリ秒単位で達成することができる。質量分析前のイオン移動度気相分離は、たとえば同重体干渉による、特に少なくとも1つの高速LCチャンネルからのLC溶離液の場合の、不十分なクロマトグラフィー分離を補償することができる。さらに、質量分析計のためのイオン移動度インターフェースは、バックグラウンドおよび他の非特異的なイオンが質量分析計に入ることを防止することによって、バックグラウンド信号全体を減少させることができる。

【0072】

40

一実施形態によれば、制御装置は、イオン化源入力シーケンスを設定するようにさらにプログラムされる。「イオン化源入力シーケンス」という用語は、LC溶離液がイオン化源に入力される順序をいう。典型的には、イオン化源入力シーケンスは、LC溶離液出力シーケンスに対応する。しかしながら、たとえば、バイパスチャンネルもしくは異なる長さのチャンネルを使用することによって、または流速を変化させることによって、イオン化源入力シーケンスも変更され得る。これにより、制御装置は、LCチャンネル入力シーケンスを計画する際にさらに柔軟性を有することになる。

【0073】

一実施形態によれば、LC溶離液出力シーケンスにおけるLC溶離液は、基準期間当たり1つのLC溶離液の頻度で、または、1つもしくは複数の基準期間によって分離された

50

間隔でイオン化源に入力される。これは、イオン化源入力が存在する基準期間の中で、基準期間のシーケンスからなる同じタイムラインにおいて、LC溶離液がイオン化源に入力されることなく、空の基準期間が存在する可能性があることを意味する。

【0074】

制御装置は、LCチャンネル入力シーケンスおよびLC溶離液出力シーケンスを考慮し、それに応じてバルブ切り替えを制御することによって、基準期間当たり1つのLC溶離液のみがイオン化源に入力されるようにプログラムすることができる。

【0075】

本明細書では、臨床診断方法も開示する。この方法は、対象検体を含む試料を自動的に調製することを含む。

【0076】

この方法はさらに、調製された試料を、複数のLCチャンネルを備える液体クロマトグラフィ(LC)分離ステーションに入力することを含む。

【0077】

この方法はさらに、予め画定された試料調製ワークフローに試料を割り当てることを含み、予め画定された試料調製ワークフローのそれぞれは、予め画定された試料調製ステップのシーケンスを含み、対象検体に応じて完了のための予め画定された時間を必要とする。

【0078】

この方法はさらに、対象検体に応じて、調製された各試料についてLCチャンネルを割り当てることを含む。

【0079】

この方法はさらに、予想される溶離時間に基づいて、重複しないLC溶離液出力シーケンスにおいて、異なるLCチャンネルから対象検体が溶離するのを可能にする、調製された試料のためのLCチャンネル入力シーケンスを計画することを含む。

【0080】

この方法はさらに、LCチャンネル入力シーケンスと適合する調製試料出力シーケンスを生成する試料調製開始シーケンスを設定して開始することを含む。

【0081】

臨床診断方法の一実施形態によれば、複数のLCチャンネルは、より短いサイクル時間を有する少なくとも1つの高速LCチャンネルと、より長いサイクル時間を有する少なくとも1つの低速LCチャンネルとを備える。

【0082】

一実施形態によれば、この方法は、基準期間を設定することを含む。一実施形態によれば、この方法は、基準期間を、より短いサイクル時間と同程度の長さの設定することを含み、少なくとも1つの低速LCチャンネルは、基準期間と同程度の長さの、または基準期間より短い、対象検体の溶離のための溶離時間ウィンドウを有する。

【0083】

一実施形態によれば、より短いサイクル時間は60秒未満であり、より長いサイクル時間は60秒より長い。一実施形態によれば、より長いサイクル時間は基準期間のn倍であり、nは2以上の整数である。

【0084】

一実施形態によれば、臨床診断方法はさらに、基準期間ごとに新しい試料の調製を開始することを含み、試料調製開始シーケンス中の連続する試料の間に、場合によって、1つまたは複数の(空の)基準期間を伴う。

【0085】

一実施形態によれば、臨床診断方法はさらに、基準期間当たり1つの試料の調製を完了することを含み、調製試料出力シーケンス中の連続する調製された試料の間に、場合によって、1つまたは複数の(空の)基準期間を伴う。

【0086】

10

20

30

40

50

一実施形態によれば、この方法はさらに、基準期間または基準期間の倍数と同程度の長さの時間ウィンドウ内で生じる、予め画定された試料調製ワークフローの試料調製ステップまたは試料調製ステップのグループをスケジューリングすることを含む。この場合、この方法は、基準期間の倍数、すなわち基準期間の n 倍（ n は2以上の整数であり、 n は、異なる試料調製ワークフローについて異なってもよい）に対応するそれぞれの時間に、予め画定された試料ワークフローを完了することを含んでもよい。

【0087】

一実施形態によれば、臨床診断方法はさらに、基準期間当たり1つの調製試料をLCチャンネルのいずれかに入力することを含み、調製試料出力シーケンスのうちの連続するLCチャンネル試料入力の際に、場合によって、1つまたは複数の（空の）基準期間を伴う。

10

【0088】

一実施形態によれば、臨床診断方法はさらに、基準期間当たり1つのLC溶離液を出力することを含み、LC溶離液出力シーケンスの連続するLC溶離液の間に、場合によって、1つまたは複数の基準期間を伴う。

【0089】

少なくとも1つの低速LCチャンネルが、基準期間と同程度の長さの、または基準期間より短い、対象検体の溶離のための溶離時間ウィンドウを有するために、この方法は、少なくとも1つの低速LCチャンネルの適切なクロマトグラフィー条件を設定することを含む。適切なクロマトグラフィー条件を設定することは、移動相組成を調整すること、勾配形状を調整すること、最適な固定相を選択すること、ならびにクロマトグラフィーカラムの長さおよび直径を適合させることのいずれか1つまたは複数を含んでもよい。溶離時間ウィンドウの長さはさらに、移動相の流速を調節することによって、および/または流れを一時的に中断することによって、調節され得る。また、LCチャンネルのデッドボリュームの増加などの余分なカラム効果を使用することもできる。したがって、当業者は、対象検体にも応じて、所望の程度の分離および溶離時間ウィンドウの所望の長さを得るために、（たとえば、「Liquid Chromatography - Mass Spectrometry Methods; Approved Guideline」、c62-A、Vol.34、No.16、Clinical and Laboratory Standards Instituteに記載されているような）標準的な方法開発手順に従って、上記方法のいずれか、またはそれらの組み合わせを選択することができる。異なる検体に対して異なる最適クロマトグラフィー条件が存在する可能性があるため、できるだけ多くの検体について、または少なくとも検体の分類について適切な最良の妥協策は、たとえば対象検体の混合物を含む試料で異なる条件を試験することにより、少なくとも部分的に経験的に決定することができる。

20

30

【0090】

一実施形態によれば、臨床診断方法はさらに、LC溶離液出力シーケンスに従って、LC分離ステーションを質量分析計に接続するLC/MSインターフェースにLCチャンネルを交代で接続することを含む。

【0091】

一実施形態によれば、臨床診断方法はさらに、イオン化源と質量分析計との間のイオン移動度モジュール内で対象検体を分離することを含む。

40

【0092】

この方法は、イオン化プロセスを最適化すること、質量分析計を調整および較正することを含んでもよい。最適な性能は、典型的には、純粋な標準物質を使用して対象検体ごとに調整することによって得られる。したがって、この方法は、方法の切り替え中、たとえばイオン化源温度を変化させる間に最終的に時間がかかる平衡を防ぐために、すべての検体に対して最適ではないが、イオン化源および質量分析計の両方に対してできるだけ多くの対象検体について最良の妥協である最も適切な条件を見つけることを含んでもよい。

【0093】

一実施形態によれば、試料を自動的に調製することは、検体またはマトリックス選択性

50

基を担持する磁気ビーズで、または、まずマトリックス選択性基を担持するビーズで、次に検体選択性基を担持するビーズで試料を処理することを含む。

【0094】

検体選択性基を担持する磁気ビーズで試料を処理することは、対象検体を捕捉し、結合していないマトリックス成分を洗い流し、捕捉した検体をビーズから、より濃縮したマトリックスフリー溶液中に解放することによって、検体を濃縮する機能を有する。この方法は、たとえば米国特許第7,815,803号明細書に記載されるように、血漿、血清、全血または溶血などの複雑な液体生体試料から低分子量化合物を濃縮するために使用することができる。特に、それは、試料を、(低分子量化合物、たとえば1500Da未満の化合物に対して選択的で、特異的ではない)疎水性表面を有する官能性磁性粒子に接触させることと、粒子を有する試料を培養することと、それにより疎水性表面に検体を吸着させることと、磁場を印加することにより粒子を分離することと、液体を除去することと、任意で、粒子を洗浄し、粒子から化合物を溶離させることとを含む。

10

【0095】

一方、マトリックス選択性基を担持する磁気ビーズで試料を処理する方法は、主として、非常に豊富なタンパク質、リン脂質および約1500~2000Daの分画分子量を有する他のマトリックス成分から、それらをビーズに結合することによって、試料を除去することを意図しているが、対象検体は上清中に残り、さらなる分析に使用される。同様の方法が、たとえば、Journal Clinical Biochemistry、46(7)、652-655に記載されている。

20

【0096】

少なくともいくつかの試料について、検体濃縮技術およびマトリックス除去技術の両方の組み合わせは、試料から抽出することができる異なる検体の数を拡張し、不必要な希釈を回避し、マトリックスを除去するのにより効果的であるという利点を有し得る。

【0097】

他のおよびさらなる目的、特徴および利点は、原理をより詳細に説明するのに役立つ例示的な実施形態および添付図面の以下の説明から明らかになるであろう。

【図面の簡単な説明】

【0098】

【図1】臨床診断システムおよび臨床診断方法の概略図である。

30

【図2】臨床診断方法の要素を概略的に示す図である。

【図3】図2の臨床診断方法の第1の部分より詳細に示すフローチャートである。

【図4】図2の臨床診断方法の第2の部分より詳細に示すフローチャートであり、図3のフローチャートの続きである。

【図5】図2の臨床診断方法の第3の部分より詳細に示すフローチャートであり、図4のフローチャートの続きである。

【図6】図2の臨床診断方法の第4の部分より詳細に示すフローチャートであり、図5のフローチャートの続きである。

【図7】検体固有のワークフローの3つの例を示す図である。

【発明を実施するための形態】

40

【0099】

図1を参照して、臨床診断システム100の一例を説明する。臨床診断システム100は、対象検体を含む試料10の自動前処理および自動調製のための試料調製ステーション50を備える。試料調製ステーション50は、検体および/またはマトリックス選択性基を担持する磁気ビーズで試料を処理するための磁気ビーズ処理ユニット51を備える。臨床診断システム100は、複数のLCチャンネルC1-n、C'1-nを含む液体クロマトグラフィー(LC)分離ステーション60をさらに備え、C1-nは、より短いサイクル時間を有する高速LCチャンネルであり、C'1-nは、より長いサイクル時間を有する低速LCチャンネルであり、nは、1以上の任意の整数であってもよい。したがって、LC分離ステーション60は、より短いサイクル時間を有する少なくとも1つの高速LCチャネ

50

ルC 1と、より長いサイクル時間を有する少なくとも1つの低速LCチャンネルC' 1とを備えていてもよい。しかしながら、LC分離ステーション60は、nが少なくとも2である複数の高速LCチャンネルC 1 - nのみ、またはnが少なくとも2である複数の低速LCチャンネルC' 1 - nのみを備えていてもよい。

【0100】

この例では、LC分離ステーション60は、nが2である、より短いサイクル時間を有する2つの高速LCチャンネルC 1 - nと、nが4である、より長いサイクル時間を有する4つの低速LCチャンネルC' 1 - nを備える。ここで、それぞれのより短いサイクル時間およびより長いサイクル時間の相対的な長さは、図1のLCチャンネルC 1 - nおよびC' 1 - nをそれぞれ表すバーの異なる長さによって概略的に示される（縮尺通りではない）。より短いサイクル時間は、たとえば36秒であり、この時間は、基準期間を画定する。より長いサイクル時間は、基準期間のn倍であり、nは2以上の整数であり、たとえば8であり、288秒である。また、LCカラムを選択し、それに応じてクロマトグラフィー条件を設定することにより、対象検体の溶離のための低速LCチャンネルの溶離時間ウィンドウが、基準期間と同程度、または基準期間より短く設定される。

10

【0101】

2つの高速LCチャンネルC 1 - nは、高速捕捉および溶離オンライン液体クロマトグラフィーチャンネルであり、その1つは逆相カラムを備え、もう1つはたとえばHILICカラムを備える。低速LCチャンネルC' 1 - nは、たとえば、それぞれ2つの逆相カラムおよび2つのHILICカラムを備える超高速液体クロマトグラフィー（UHPLC）チャンネルである。

20

【0102】

臨床診断システム100は、調製された試料をLCチャンネルC 1 - n、C' 1 - nのいずれか1つに入力するための試料調製/LCインターフェース70をさらに備える。

【0103】

臨床診断システム100はさらに、予め画定された試料調製ワークフローに試料10を割り当てるようにプログラムされた制御装置80を備え、試料調製ワークフローのそれぞれは、予め画定された試料調製ステップのシーケンスを含み、対象検体に応じて完了のための予め画定された時間を必要とする。さらに、制御装置80は、対象検体に応じて、調製された各試料についてLCチャンネル（C 1 - n、C' 1 - n）を割り当て（予め予約し）、予想される溶離時間に基づいて、重複しないLC溶離液出力シーケンスE 1 - nにおいて、異なるLCチャンネルC 1 - n、C' 1 - nから対象検体が溶離することを可能にする、調製試料を入力するためのLCチャンネル入力シーケンスI 1 - nを計画するようにプログラムされる。制御装置80はさらに、LCチャンネル入力シーケンスI 1 - nに適合する調製試料出力シーケンスP 1 - nを生成する試料調製開始シーケンスS 1 - nを設定して開始するようにプログラムされる。

30

【0104】

図1において、試料調製開始シーケンスS 1 - nの各試料、調製試料出力シーケンスP 1 - nおよびLCチャンネル入力シーケンスI 1 - nの各調製試料、LC溶離液出力シーケンスE 1 - nの各LC溶離物が、重複しない隣接セグメントを含むシーケンスのセグメントにおいて示され、各セグメントは、概略的に1つの基準期間を表す。したがって、各シーケンスは、基準期間または時間単位のシーケンスであり、その長さは固定され、異なるシーケンスにわたって一定のままであり得る。特に、高速LCチャンネルのより短いサイクル時間は、この例では36秒という基準期間とすることができる。

40

【0105】

試料調製開始シーケンスS 1 - nにおける新しい試料の調製は、基準期間当たり1つの試料の頻度で、すなわちこの例では36秒ごとに、または、試料調製が開始されない、シーケンス内の空のセグメントによって示される、1つもしくは複数の基準期間によって分離された間隔で開始される。

【0106】

50

また、調製試料出力シーケンス P 1 - n における試料の調製は、基準期間当たり 1 つの調製試料の頻度で、または、試料調製が完了しない、シーケンス内の空のセグメントによって示される、1 つもしくは複数の基準期間によって分離された間隔で完了される。

【 0 1 0 7 】

また、調製試料は、LC チャンネル入力シーケンス I 1 - n に従って、基準期間当たり 1 つの LC チャンネル入力の頻度で、または、LC チャンネル入力が行なわれない、シーケンス内の空のセグメントによって示される、1 つもしくは複数の基準期間によって分離された間隔で、それぞれ割り当てられた LC チャンネルに入力される。

【 0 1 0 8 】

また、LC 溶離液出力シーケンス E 1 - n における LC 溶離液は、基準期間当たり 1 つの LC 溶離液の頻度で、または、LC 溶離液が出力されない、シーケンス内の空のセグメントによって示される、1 つもしくは複数の基準期間によって分離された間隔で出力される。

【 0 1 0 9 】

臨床診断システム 1 0 0 は、質量分析計 (MS) 9 0 と、LC 分離ステーション 6 0 を質量分析計 9 0 に接続するための LC / MS インターフェース 9 1 とをさらに備える。LC / MS インターフェース 9 1 は、イオン化源 9 2、および、イオン化源 9 2 と質量分析計 9 5 との間のイオン移動度モジュール 9 5 を含む。イオン移動度モジュール 9 5 は、高電場非対称波形イオン移動度分光分析 (FAIMS) モジュールである。質量分析計 9 0 は、タンデム質量分析計であり、特に、多重反応モニタリング (MRM) が可能な三重四重極質量分析計である。

【 0 1 1 0 】

LC チャンネル C 1 - n、C ' 1 - n は、LC / MS インターフェース 9 1 に交代で接続可能であり、制御装置 8 0 は、一度に 1 つの LC 溶離液をイオン化源 9 2 に入力するために、LC 溶離液出力シーケンス E 1 - n に従って、バルブスイッチ 6 1 を制御する。特に、LC 溶離液出力シーケンス E 1 - n における LC 溶離液は、LC 溶離液出力シーケンス E 1 - n に従って、基準期間当たり 1 つの LC 溶離液の頻度で、または、1 つもしくは複数の基準期間によって分離された間隔でイオン化源 9 2 に入力される。

【 0 1 1 1 】

イオン化源 9 2 は、ESI 源 9 3 および APC I 源 9 4 を含む二重イオン化源であり、LC 溶離液出力シーケンス E 1 - n における LC 溶離液およびそこに含まれる (1 つまたは複数の) 対象検体に応じて、最も適切な 2 つのイオン化源 9 3、9 4 のうちの 1 つを選択してもよい。制御装置 8 0 は、試料調製開始シーケンス S 1 - n を設定する際に、イオン化源 9 3、9 4 の頻繁な切り替えを防止するように、イオン化源 9 3、9 4 に応じて試料をグループ分け (シーケンス順に隣接して配置) することができる。イオン化源の切り替えは、たとえば、1 つまたは複数の空の基準期間中に計画されてもよい。

【 0 1 1 2 】

引き続き図 1 を参照すると、臨床診断方法も示されている。この方法は、対象検体を含む試料 1 0 を自動的に調製することと、複数の LC チャンネル C 1 - n、C ' 1 - n を含む液体クロマトグラフィー (LC) 分離ステーション 6 0 に調製試料を入力することとを含む。この方法はさらに、(図 2 ~ 図 4 においてより詳細に説明される) 予め画定された試料調製ワークフローに試料を割り当てることを含み、予め画定された試料調製ワークフローのそれぞれは、予め画定された試料調製ステップのシーケンスを含み、対象検体に応じて、場合によっては試料の種類に応じて、完了のための予め画定された時間を必要とする。この方法はさらに、対象検体に応じて、各調製試料について LC チャンネル C 1 ~ n、C ' 1 ~ n を割り当てること (図 5 においてより詳細に説明される) を含む。この方法はさらに、予想される溶離時間に基づいて、重複しない LC 溶離液出力シーケンス E 1 - n において、異なる LC チャンネル C 1 - n、C ' 1 - n から対象検体が溶離することを可能にする、調製試料の LC チャンネル入力シーケンス I 1 - n を計画することをさらに含む。この方法は、LC チャンネル入力シーケンス I 1 - n に適合する調製試料出力シーケンス P 1

10

20

30

40

50

- nを生成する試料調製開始シーケンスS 1 - nを設定し開始することをさらに含む。

【0113】

臨床診断方法は、基準期間当たり1つの試料の調製を開始することをさらに含み、試料調製開始シーケンスS 1 - nの連続する調製試料の間に、場合によって、1つまたは複数の基準期間を伴う。

【0114】

臨床診断方法は、基準期間当たり1つの試料の調製を完了することをさらに含み、調製試料出力シーケンスP 1 - nの連続する調製試料の間に、場合によって、1つまたは複数の基準期間を伴う。

【0115】

臨床診断方法は、基準期間当たり1つのLC溶離液を出力することをさらに含み、LC溶離液出力シーケンスE 1 - nの連続するLC溶離液の間に、場合によって、1つまたは複数の基準期間を伴う。

【0116】

臨床診断方法は、LC溶離液出力シーケンスE 1 - nに従って、LCチャンネルC 1 - n、C' 1 - nを、LC分離ステーション60を質量分析計90に接続するLC/MSインターフェース91に交代で接続することをさらに含む。

【0117】

臨床診断方法は、イオン化源92と質量分析計90との間のイオン移動度モジュール95内で対象検体を分離することをさらに含む。

【0118】

図2は、臨床診断方法の要素を概略的に表し、特に、試料の種類および/または試料中の対象検体に応じて、制御装置によって決定されるように試料が従うことができる、可能性のあるワークフロー経路の組み合わせを概略的に表している。

【0119】

たとえば、試料の種類、たとえば、全血、血漿、血清、尿に応じて、その試料の種類に最も適切な、いくつかの予め画定された試料種類依存前処理ワークフロー（パートI）の1つに試料を割り当てることができる。

【0120】

また、対象検体、たとえば、類似の化学構造または特性を有する個々の検体または検体のクラスに応じて、パートIの試料種類依存前処理に続いて、たとえばマトリックス除去法、検体濃縮法、またはその両方の組み合わせに基づく、その（1つまたは複数の）検体の種類に最も適切である、いくつかの予め画定された検体依存試料調製ワークフローの1つに試料を割り当てることができる（パートII）。

【0121】

また、対象検体に応じて、調製試料を、その（1つまたは複数の）種類の検体を分離し、または質量分析計に移送するのに最も適切な特定のLCチャンネルに割り当てることができる、特に、高速LCチャンネルまたは低速LCチャンネルに割り当てることができる（パートIII）。

【0122】

また、対象検体に応じて、LC溶離液は、最も適切なイオン化源の1つに、たとえばESI源またはAPCI源に入力することができ、FAIMSモジュールにおける分離を受けるか否かが可能である（パートIV）。また、質量分析計の経路を予め画定することができ、特に多重反応モニタリングを受ける（MRM）か否か（No MRM）を決定することができる。

【0123】

最後に、質量分析に続いて、データ評価、すなわち、各試料について各対象検体の同定および場合によっては定量を行うことができる。

【0124】

図3は、図2の臨床診断方法のパートI、特に試料前処理部分をより詳細に示すフロー

10

20

30

40

50

チャートである。制御装置は、まず、予め画定されたワークフローを試料Sに割り当てるか否か、または品質管理(QC)もしくは較正(Cal)を実行する必要があるか否かを決定する。QCおよび/または較正ワークフローは、試料ワークフローの1つと同じステップの少なくともいくつかにつき、いくつかのステップの追加または削除が可能である。この例の目的のために、試料種類依存前処理(PT)ワークフローのみを説明する。

【0125】

たとえば、試料が全血試料である場合、それは、予め画定された培養期間(Inc)が後に続く内部標準(IS)および溶血試薬(HR)の添加を含む2つの予め画定された試料PTワークフローの1つに割り当てられる。2つのワークフロー間の差異は、内部標準(IS)および溶血試薬(HR)が加えられる順序である。内部標準(IS)は、典型的には、たとえば、同位体標識されていてもよい、既知量の同じ(1つまたは複数の)対象検体である。これにより、相対的な比較が可能になり、(1つまたは複数の)検体が質量分析計に到達したときに、試料中に存在する(1つまたは複数の)対象検体の明白な同定および定量化が可能になる。

10

【0126】

試料が尿試料である場合、それは、予め画定された培養期間(Inc)が後に続く内部標準(IS)および酵素試薬(E)の添加を含む他の2つの予め画定された試料PTワークフローの1つに割り当てられる。この2つのワークフローの差異は、内部標準(IS)と酵素試薬(HR)が加えられる順序である。酵素試薬は、典型的には、グルクロニド切断、またはタンパク質切断、または検体もしくはマトリックスの任意の前処理に使用される試薬である。

20

【0127】

試料が血漿または血清である場合、それは、予め画定された培養期間(Inc)が後に続く内部標準(IS)の添加だけを含む他の予め画定されたPTワークフローに割り当てられる。任意で、溶解試薬(図示せず)の添加をさらに含んでもよい。

【0128】

上記の試料種類依存PTワークフローの全ては、希釈液(Dil)の添加を含んでもよい。しかしながら、希釈液(Dil)の添加は、上記の試料種類依存PTワークフローのいずれか1つまたは複数に特異的に関連していてもよい。

【0129】

図4は、図2の臨床診断方法のパートIIをより詳細に表すフローチャートであり、図3のフローチャートの続きである。特に、制御装置は、前処理された各試料を、前処理された試料中の(1つまたは複数の)対象検体に応じて、予め画定された検体依存試料調製ワークフローの1つに割り当てる。

30

【0130】

たとえば、前処理試料は、検体濃縮ワークフロー、マトリックス除去ワークフロー、または検体濃縮ワークフローが後に続くマトリックス除去ワークフローを受けることができる。

【0131】

検体濃縮ワークフローは、(1つまたは複数の)対象検体を捕捉するために、予め画定された培養期間(Inc)が後に続いて、検体選択性基を担持した磁気ビーズ(MB)を前処理試料に添加することを含み、磁気ビーズ(MB)の添加は、攪拌または混合を含んでもよい。(1つまたは複数の)対象検体に応じて、磁気ビーズ(MB)の添加に先立って、予め画定された培養期間(Inc)が後に続く、溶解試薬(LR)の添加が行なわれてもよい。溶解試薬(LR)は、赤血球の溶解、または結合タンパク質からの解放、または非特異的結合からの解放のための試薬であり得る。磁気ビーズ(MB)を用いた培養後、ワークフローは洗浄ステップ(W1)を含み、(1つまたは複数の)検体に応じて、場合によっては1つまたは複数の追加の洗浄ステップ(W2)を含む。洗浄ステップ(W1、W2)は、磁石または電磁石を備える磁気ビーズ処理ユニットによる磁気ビーズ分離(Bsep)、液体の吸引(Asp)、洗浄緩衝液(W.Buffer)の添加、

40

50

磁気ビーズの再懸濁 (R e s .)、別の磁気ビーズ分離ステップ (B S e p)、および液体の別の吸引 (A s p .) を含む一連のステップを含む。さらに、洗浄ステップは、洗浄サイクルの量および数または組み合わせを別にして、溶媒の種類 (水 / 有機 / 塩 / p H) に関して異なってもよい。

【 0 1 3 2 】

最後の洗浄ステップ (W 1、W 2) の後に、(1 つまたは複数の) 対象検体を磁気ビーズから解放するために、溶離試薬 (E R) が添加され、続いて磁気ビーズが再懸濁 (R e s .) され、予め画定された培養期間 (I n c .) が続けられる。次いで、結合していない磁気ビーズが分離され (B S e p .)、(1 つまたは複数の) 対象検体を含む上清が LC ステーションに直接移送されるか、または希釈液 (D i l .) の添加による希釈ステップの後に LC ステーションに移送され得る。たとえば溶媒の種類 (水 / 有機 / 塩 / p H) および量を変更することによって、異なる溶離手順 / 試薬も使用することができる。

10

【 0 1 3 3 】

マトリックス除去ワークフローは、(1 つまたは複数の) 対象検体を上清に残しながらマトリックス成分を捕捉するために、前処理された試料にマトリックス選択性基を担持した磁気ビーズ (M B) および沈殿試薬 (P R) を添加した後、予め画定された培養期間 (I n c .) が続き、その後、ビーズ分離 (B S e p .)、および (1 つまたは複数の) 対象検体を含む上清の LC ステーションへの直接的または希釈 (D i l .) 後の移送が続く。

【 0 1 3 4 】

(1 つまたは複数の) 対象検体に応じて、マトリックス除去ワークフローから得られる上清は、結合試料調製ワークフローに続いて、検体濃縮ワークフローを受ける。

20

【 0 1 3 5 】

図 5 は、図 2 の臨床診断方法のパート I I I をより詳細に表すフローチャートであり、図 4 のフローチャートの続きである。特に、制御装置は、各調製試料に LC チャネルを割り当てる。LC チャネルは、調製試料中の (1 つまたは複数の) 対象検体に応じて、高速 LC チャネル C 1 - n または低速 LC チャネル C ' 1 - n のいずれかとすることができる。あるいは、調製試料は、高速および低速 LC チャネル C 1 - n、C ' 1 - n のいずれかをバイパスし、フローインジェクションキャピラリーを通過することができる。次に、制御装置は、液体修飾剤が必要であるか否かを決定した後、LC 溶離液出力シーケンスに従って LC 溶離液を LC / M S インターフェースに順次送る。

30

【 0 1 3 6 】

図 6 は、図 2 の臨床診断方法のパート I V をより詳細に表すフローチャートであり、図 5 のフローチャートの続きである。特に、制御装置は、LC 溶離液中の (1 つまたは複数の) 対象検体に応じて、E S I 源または A P C I 源のいずれかである、2 つのイオン化源のうちの一つに各 LC 溶離液を割り当てる。次に、制御装置は、質量分析の前にイオン移動度分離 (I o n M .)、特に F A I M S がどうかを決定する。この場合、ガス修飾剤 (G . M o d) がどうかも決定される。最終決定において、三重四重極 (Q 1、Q 2、Q 3) 質量分析計の経路が決定され、特に多重反応モニタリング (M R M) が必要な場合に経路が決定される。次いで、検出の後にデータ評価が続く。

40

【 0 1 3 7 】

要約すると、各試料、特に、各検体または対象検体の各グループについて、特定のワークフロー経路をマスターテーブルまたはメモリに予め画定することができる。異なるワークフロー経路は、LC チャネル入力シーケンス I 1 - n を計画し、試料調製開始シーケンス S 1 - n を設定するとき、完了のために異なる時間を必要とする異なるステップ数および / または異なるステップを含み得るので、制御装置は、予め画定された異なるワークフロー経路および各ステップの時間を含むそれぞれの継続時間を考慮し、そして、競合を回避し、スループットを最大化する最も便利なシーケンス、たとえば空の基準期間が最も少ないシーケンスを選択する。

【 0 1 3 8 】

50

図7は、マスターテーブルまたはメモリに予め画定された検体固有のワークフロー経路の3つの一般的な例を提供し、それぞれが、一般的に選択可能な選択肢の中からの選択肢の選択を含む(簡略化のために最も関連性の高い選択肢のみを示す)。これらの一般的な選択可能な選択肢は、たとえば、内部標準(I S)の添加またはI Sの無添加(no I S); 酵素試薬(E)または2つの溶解試薬(L R # 1、L R # 2)のうちの1つの添加; 濃縮または除去ワークフロー; 検体のグループに対して選択的であるか(たとえば、極性、非極性、荷電、非荷電)、または選択された検体に対して特異的である(特異的結合剤)、異なる種類の磁気ビーズ(M B A、M B B、M B C、M B D)のうちの1つの種類; 異なる種類の洗浄液(水/有機/塩/p H)、異なる種類の洗浄サイクルの量、数またはその組み合わせを含む、異なる予め画定された洗浄手順(W # 1、W # 2、W # 3、W # 4); L Cチャンネルの種類(低速L C、高速L C、またはフローインジェクション分析(F I A)); 異なる種類(水/有機/塩/p H)または容量の溶離液を含む、異なる予め画定された溶離手順(e l u t i o n # 1、e l u t i o n # 2、e l u t i o n # 3、e l u t i o n # 4); イオン化源の種類(E S I、A P C I); F A I M Sまたは非F A I M Sの選択肢; M S M R M # 1、M S M R M # 2、M S M R M # 3、M S M R M # 4、M S M R M # 5として短くまとめられた、異なる予め画定された質量分析法取得手順(イオン化、イオン移送、イオン選択およびフラグメンテーション、検出およびデータ取得のための設定)のうちの1つ、である。

10

【0139】

対象検体がたとえばテストステロンである場合、テストステロン特有のワークフローは、内部標準(I S)の添加、溶解試薬(L R # 1)の添加、濃縮ワークフロー、テストステロン選択性磁性ビーズ(M B C)の添加、予め画定された洗浄手順の1つ(W # 2)、予め画定された溶離手順の1つ(e l u t i o n # 1)、低速L Cチャンネルへの注入、E S IおよびF A I M Sの使用、および予め画定された質量分析法取得手順の1つ(M S M R M # 4)を含む。

20

【0140】

対象検体がたとえばベンゾジアゼピンである場合、ベンゾジアゼピン特有のワークフローは、内部標準(I S)の添加、酵素試薬(E)の添加、濃縮ワークフロー、ベンゾジアゼピン選択性磁性ビーズ(M B B)の添加、予め画定された溶離手順の1つ(e l u t i o n # 2)、高速L Cチャンネルへの注入、E S IおよびF A I M Sの使用、予め画定された質量分析法取得手順の1つ(M S M R M # 1)を含む。

30

【0141】

対象検体がたとえばラパマイシンである場合、ラパマイシン特有のワークフローは、内部標準(I S)の添加、溶解試薬(L R # 2)の添加、除去ワークフロー、マトリックス選択性磁気ビーズ(M B A)の添加、予め画定された洗浄手順の1つ(W # 3)、予め画定された溶離手順の1つ(e l u t i o n # 3)、高速L Cチャンネルへの注入、E S IおよびF A I M Sの使用、予め画定された質量分析法取得手順の1つ(M S M R M # 1)を含む。

【0142】

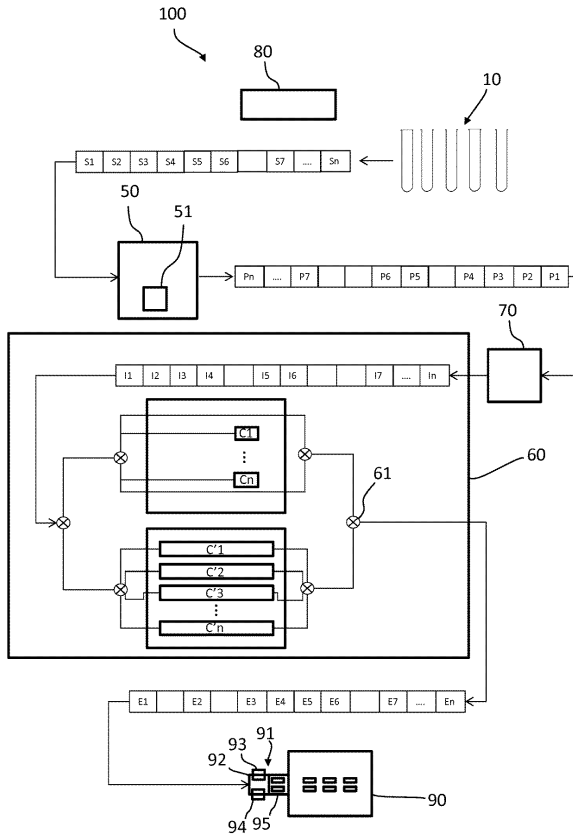
同様に、ワークフロー経路は、任意の対象試料/検体または対象検体グループについて予め画定することができる。

40

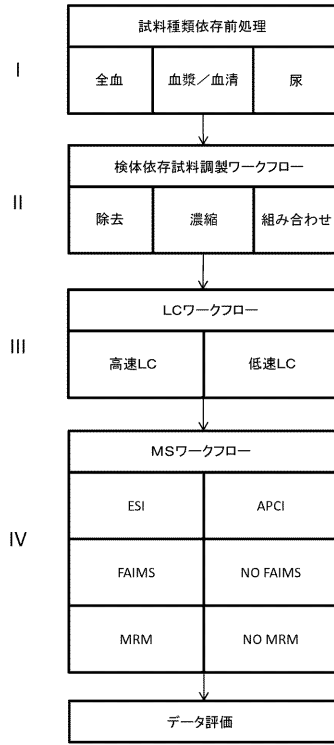
【0143】

開示された実施形態の修正および変形は、上記の説明に照らして確実に可能である。したがって、添付の特許請求の範囲内において、本発明は上記の実施例で具体的に発明されたものとは別の方法で実施することができることが理解される。

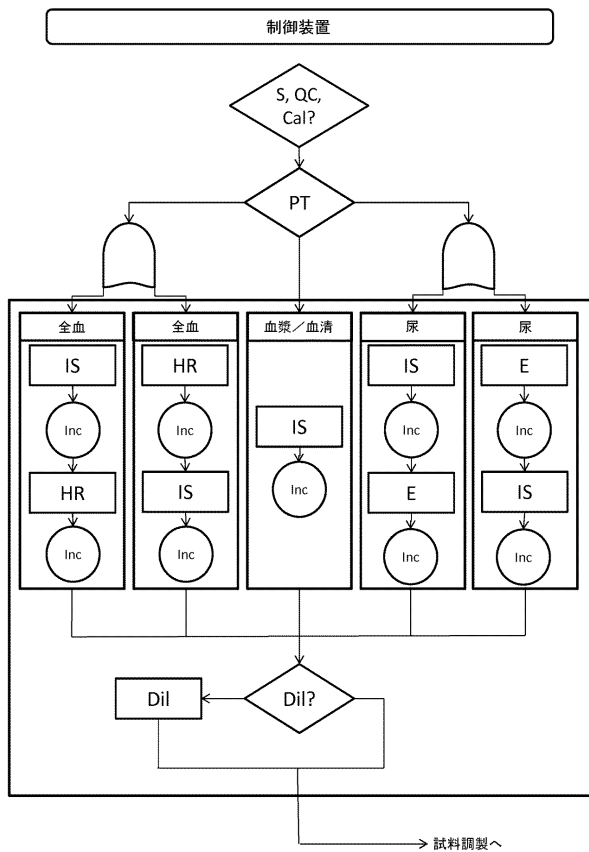
【図1】



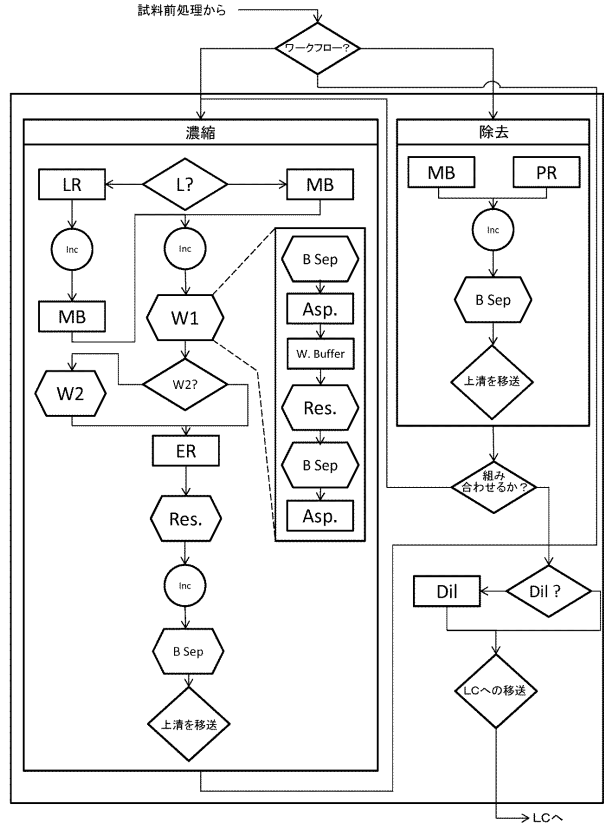
【図2】



【図3】

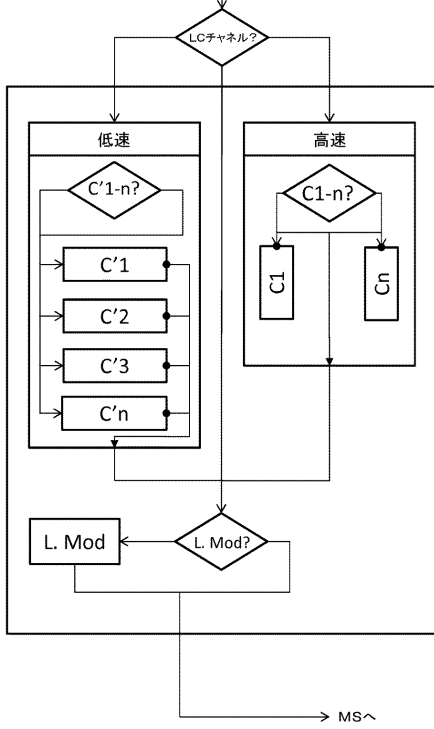


【図4】



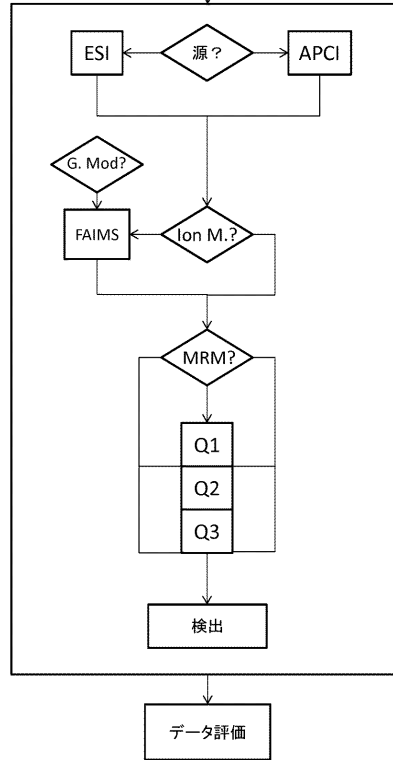
【図5】

試料調製から



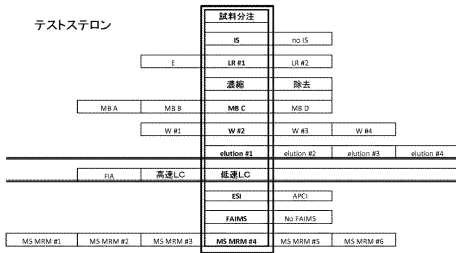
【図6】

LCから

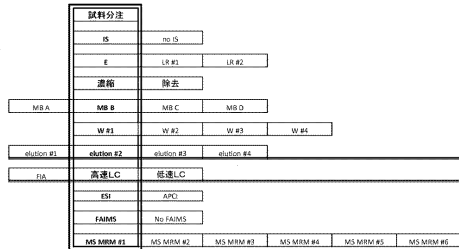


【図7】

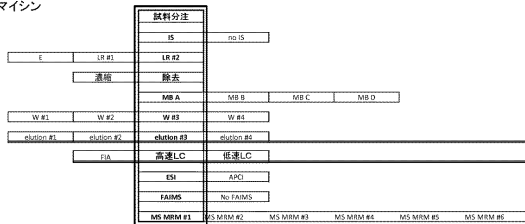
テストステロン



ベンゾジアゼピン



ラバマイシン



フロントページの続き

(51)Int.Cl. F I
G 0 1 N 30/24 A

(72)発明者 クプサー、ペーター
ドイツ連邦共和国、8 2 4 0 4 ミュンヘン、テルツァー シュトラーセ 7

(72)発明者 ティーレ、ローラント
ドイツ連邦共和国、8 2 4 0 4 ジンデルスドルフ、オーベルリーダーン 2

審査官 高田 亜希

(56)参考文献 特表2013-541718(JP,A)
特表2006-527370(JP,A)
米国特許出願公開第2013/0295597(US,A1)
米国特許出願公開第2006/0127284(US,A1)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)
G 0 1 N 3 0 / 0 0 - 3 0 / 9 6
G 0 1 N 2 7 / 6 0 - 2 7 / 9 2
G 0 1 N 1 / 0 0 - 1 / 4 4
G 0 1 N 3 5 / 0 0 - 3 7 / 0 0
J S T P l u s / J M E D P l u s / J S T 7 5 8 0 (J D r e a m I I I)