【公報種別】特許法第１７条の２の規定による補正の掲載
【部門区分】第６部門第１区分
【発行日】令和5年6月1日(2023.6.1)

【国際公開番号】WO2020/243502
【公表番号】特表2022-534363(P2022-534363A)
【公表日】令和4年7月29日(2022.7.29)
【年通号数】公開公報(特許)2022-138
【出願番号】特願2021-567966(P2021-567966)
【国際特許分類】
Ｇ０１Ｎ 30/46(2006.01)
Ｇ０１Ｎ 27/62(2021.01)
Ｇ０１Ｎ 30/38(2006.01)
Ｇ０１Ｎ 30/26(2006.01)
Ｇ０１Ｎ 30/72(2006.01)
Ｂ０１Ｊ 20/287(2006.01)
Ｂ０１Ｊ 20/288(2006.01)
Ｇ０１Ｎ 30/34(2006.01)
Ｇ０１Ｎ 30/88(2006.01)
Ｈ０１Ｊ 49/00(2006.01)
Ｈ０１Ｊ 49/26(2006.01)
【ＦＩ】
Ｇ０１Ｎ 30/46 Ａ
Ｇ０１Ｎ 27/62 Ｘ
Ｇ０１Ｎ 27/62 Ｖ
Ｇ０１Ｎ 30/38
Ｇ０１Ｎ 30/26 Ｍ
Ｇ０１Ｎ 30/72 Ｃ
Ｂ０１Ｊ 20/287
Ｂ０１Ｊ 20/288
Ｇ０１Ｎ 30/26 Ａ
Ｇ０１Ｎ 30/34 Ｅ
Ｇ０１Ｎ 30/88 Ｅ
Ｈ０１Ｊ 49/00 ４００
Ｈ０１Ｊ 49/26

【手続補正書】
【提出日】令和5年5月24日(2023.5.24)
【手続補正１】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】００３４
【補正方法】変更
【補正の内容】
【００３４】
一例として、１つまたはそれ以上の脂質分析物（例えば、スフィンゴ脂質、コレステロール、およびトリグリセリド）を含むソースサンプルを、８０％メタノール、１５～２０％アセトニトリル、および０～５％水（例えば、８０％メタノール、１５％アセトニトリル、および５％水；または８０％メタノールおよび２０％アセトニトリル）を含む抽出溶媒で抽出する。抽出溶媒は、場合により１０ｍＭ酢酸アンモニウムおよび１％ギ酸を含んでもよい。抽出されたサンプルは、アセトニトリル、メタノール、および水を含む移動相

溶媒系を用いてＬＣシステムに装填され、脂質分析物は主要なマトリックス汚染物質（炭水化物、タンパク質、ヌクレオチドなど）から分離される。溶媒系は、１０ｍＭ酢酸アンモニウム、１％ギ酸、および０．５％トリフルオロ酢酸をさらに含んでもよい。第１のＬＣカラムはＮＰカラムであり、より低い極性の脂質が最初に溶出し、分流バルブを介して逆相カラムに向かうのに対して、より高い極性の脂質はＮＰカラムに保持される。次に、マトリックス汚染物質を担持するＮＰカラム流出液を除去するため、分流バルブを廃液位置に切り替える。次いで、分流バルブを元の位置に戻し、すでにＮＰカラムに保持されていたより高い極性の脂質を、さらなる分離のため二次元目に移動させる。バルブを切り替えるタイミングは、廃液または第２のカラムのいずれかへの溶媒の流れを調節するように調整される。ＲＰカラムでは、より高い極性の脂質分析物が最初に溶出されるのに対して、より低い極性の脂質分析物は疎水性の高い溶出溶媒が使用されるまでカラム内に保持される。分離された脂質分析物は、質量分析などの方法でさらに分析することができる。

【手続補正２】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】００６９
【補正方法】変更
【補正の内容】
【００６９】
【表５】

表５ 1D LC-MS/MS と新規な 2D-LC-MS/MS との比較

方法	抽出当たりの患者サンプル	抽出時間/バッチ	LC-MS/MS ラン時間/データ処理	80 サンプルの所要時間
セラミドおよび lyso-SPM 用の元の SPE および PPT 法	80 (4 プレート必要)	25 時間 (8 時間/日)	36 時間	8 日
セラミドおよび lyso-SPM 用の新規な 2D LC-MS/MS	80 (1 プレート必要)	1 時間	32 時間	2 日