

【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】平成24年1月12日(2012.1.12)

【公表番号】特表2011-510272(P2011-510272A)

【公表日】平成23年3月31日(2011.3.31)

【年通号数】公開・登録公報2011-013

【出願番号】特願2010-542434(P2010-542434)

【国際特許分類】

G 0 1 N 27/62 (2006.01)

【F I】

G 0 1 N 27/62 V

【手続補正書】

【提出日】平成23年11月16日(2011.11.16)

【手続補正 1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

質量分析基体であって、  
スポットのアレイを含む支持体を含み、  
該スポットの一部または全ては、質量分析条件下で形成される付加物の量を低減させる量  
のアスコルビン酸またはその塩、互変異体もしくは類似体を含む、マトリックス支援レー  
ザー脱離 / イオン化 (MALDI) 質量分析法のためのマトリックスを含む、基体。

【請求項 2】

各スポットは直径が約 200 マイクロメートルから約 1 ミリメートルである、請求項 1 に  
記載の基体。

【請求項 3】

スポットの中心間距離が約 2.25 ミリメートルである、請求項 1 または 2 に記載の基体  
。

【請求項 4】

スポットの中心間距離が約 1.125 ミリメートルである、請求項 1 または 2 に記載の基  
体。

【請求項 5】

各スポットの厚さが約 10 マイクロメートルから約 100 マイクロメートルである、請求  
項 1 ~ 4 のいずれか 1 項に記載の基体。

【請求項 6】

前記マトリックスがアスコルビン酸またはその塩、互変異体もしくは類似体からなる、請  
求項 1 ~ 5 のいずれか 1 項に記載の基体。

【請求項 7】

前記スポットの一部または全てが核酸分析物を含む、請求項 1 ~ 6 のいずれか 1 項に記載  
の基体。

【請求項 8】

前記核酸がデオキシリボ核酸である、請求項 7 に記載の基体。

【請求項 9】

前記核酸がリボ核酸である、請求項 7 に記載の基体。

【請求項 10】

前記マトリックスが約 5 mM から約 50 mM のアスコルビン酸またはその塩、互変異性体もしくは類似体を含む、請求項 1 ～ 9 のいずれか 1 項に記載の基体。

【請求項 11】

前記マトリックスが約 5 mM から約 50 mM のアスコルビン酸を含む、請求項 10 に記載の基体。

【請求項 12】

前記マトリックスが 3 - ヒドロキシピコリン酸 ( 3 - H P A ) を含む、請求項 1 ～ 11 のいずれか 1 項に記載の基体。

【請求項 13】

前記マトリックスがクエン酸ジアンモニウム ( D A C ) を含む、請求項 1 ～ 12 のいずれか 1 項に記載の基体。

【請求項 14】

前記支持体がビーズ、チップ、毛細管、プレート、膜、ウエハ、コーム、ピン、ピットを有するウエハ、ピットもしくはナノリットルウェルのアレイおよび実質的に平坦な表面からなる群より選択される、請求項 1 ～ 13 のいずれか 1 項に記載の基体。

【請求項 15】

前記支持体がシリコンウエハである、請求項 1 ～ 14 のいずれか 1 項に記載の基体。

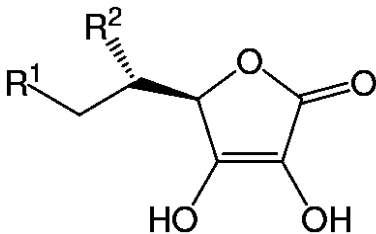
【請求項 16】

前記支持体が、親水性位置を囲む疎水性領域を有する実質的に平坦な表面であり、該位置の一部または全てがスポットを含む、請求項 1 ～ 15 のいずれか 1 項に記載の基体。

【請求項 17】

前記アスコルビン酸の類似体が以下の式：

【化 2】



に従うものであり、ここで：

$R^1$  および  $R^2$  は独立に OH、ハロゲン、 $R^3$ 、 $OR^3$ 、アジド、シアノ、 $CH_2R^3$ 、 $CHR^3R^4$ 、 $SR^3$ 、 $NR^3R^4$  であり；そして

$R^3$  および  $R^4$  は独立に H、アルキル、アセチレンもしくはシアノ、または任意に置換されたアリール炭素環式環、アリール複素環、非アリール炭素環式環もしくは非アリール複素環である、請求項 1 ～ 10 および 12 ～ 16 のいずれか 1 項に記載の基体。

【請求項 18】

質量分析計および請求項 1 ～ 17 のいずれか 1 項に記載の質量分析基体を備える、質量分析システム。

【請求項 19】

方法であって、

( a ) 核酸と、アスコルビン酸またはその塩、互変異性体もしくは類似体を含む添加剤とを含む組成物を提供するステップと

( b ) 質量分析法によって該核酸を分析するステップと

を包含し、ここで、質量分析条件下で形成される付加物が低減される、方法。

【請求項 20】

前記添加剤がアスコルビン酸またはその塩、互変異性体もしくは類似体からなる、請求項 19 に記載の方法。

【請求項 21】

前記添加剤がアスコルビン酸からなる、請求項 20 に記載の方法。

【請求項 22】

前記添加剤がシュウ酸アンモニウムをさらに含む、請求項 19 または 20 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 23】

前記核酸がデオキシリボ核酸である、請求項 19 ~ 22 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 24】

前記核酸がリボ核酸である、請求項 19 ~ 22 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 25】

前記質量分析法が、マトリックス支援レーザー脱離/イオン化飛行時間型 (MALDI-TOF) 質量分析法、レーザー脱離質量分析法 (LDMS)、エレクトロスプレー (ESI) 質量分析法、イオンサイクロトロン共鳴 (ICR) 質量分析法、およびフーリエ変換質量分析法からなる群より選択される、請求項 19 ~ 24 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 26】

前記組成物がマトリックス支援レーザー脱離/イオン化 (MALDI) 質量分析法用のマトリックスを含む、請求項 19 ~ 25 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 27】

前記マトリックスが 3 - ヒドロキシピコリン酸 (3 - HPA) を含む、請求項 26 に記載の方法。

【請求項 28】

前記マトリックスがクエン酸ジアンモニウム (DAC) を含む、請求項 26 に記載の方法。

【請求項 29】

前記組成物が約 5 mM から約 50 mM のアスコルビン酸またはその塩、互変異性体もしくは類似体を含む、請求項 19 ~ 28 のいずれか 1 項に記載の方法。

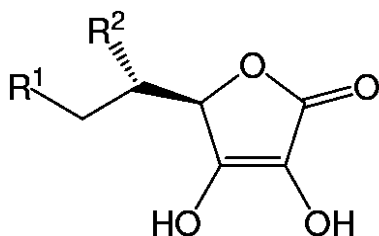
【請求項 30】

前記組成物が約 5 mM から約 50 mM のアスコルビン酸を含む、請求項 19 ~ 28 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 31】

前記アスコルビン酸の類似体が以下の式：

【化 3】



に従うものであり、ここで：

$R^1$  および  $R^2$  は独立に OH、ハロゲン、 $R^3$ 、 $OR^3$ 、アジド、シアノ、 $CH_2R^3$ 、 $CH(R^3)R^4$ 、 $SR^3$ 、 $NR^3R^4$  であり；そして

$R^3$  および  $R^4$  は独立に H、アルキル、アセチレンもしくはシアノ、または任意に置換されたアリール炭素環式環、アリール複素環、非アリール炭素環式環もしくは非アリール複素環である、請求項 19、20 および 22 ~ 29 のいずれか 1 項に記載の方法。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0018

【補正方法】変更

【補正の内容】

## 【 0 0 1 8 】

本発明の方法および組成物によって改善され得る質量分析法分析の例は、核酸シーケンシング、遺伝子型同定またはメチル化分析を含むがこれに限定されない。分析は、質量分析法によって行なわれる定性分析または定量分析であってもよい。

本発明の好ましい実施形態では、例えば以下が提供される：

( 項目 1 )

質量分析法によって分析される分析物を含むサンプルにおける付加物形成を低減させるための方法であって、質量分析法による該分析物の分析の前に、アスコルビン酸またはその塩、互変異性体もしくは類似体を含む付加物低減添加剤を該サンプルに加えるステップを含む、方法。

( 項目 2 )

前記付加物低減添加剤はシュウ酸アンモニウムをさらに含む、項目 1 に記載の方法。

( 項目 3 )

前記分析物は核酸である、項目 1 に記載の方法。

( 項目 4 )

前記核酸はデオキシリボ核酸である、項目 3 に記載の方法。

( 項目 5 )

前記核酸はリボ核酸である、項目 3 に記載の方法。

( 項目 6 )

質量分析法による前記分析は、マトリックス支援レーザー脱離 / イオン化飛行時間型 (MALDI-TOF) 質量分析法、レーザー脱離質量分析法 (LDMS)、エレクトロスプレー (ES) 質量分析法、イオンサイクロトロン共鳴 (ICR) 質量分析法、およびフーリエ変換質量分析法からなる群より選択される、項目 1 に記載の方法。

( 項目 7 )

質量分析法によって分析される分析物を含むサンプルにおける付加物形成を低減させるための方法であって、質量分析法による該分析物の分析の前に、アスコルビン酸またはその塩、互変異性体もしくは類似体を含む付加物低減添加剤をマトリックスに加えるステップを含む、方法。

( 項目 8 )

質量分析法による前記分析物の分析の前に、前記付加物低減添加剤を該分析物にも加えるステップをさらに含む、項目 7 に記載の方法。

( 項目 9 )

前記付加物低減添加剤はシュウ酸アンモニウムをさらに含む、項目 7 または 8 に記載の方法。

( 項目 1 0 )

前記マトリックス組成物は 3 - ヒドロキシピコリン酸 ( 3 - H P A ) を含む、項目 7 または 8 に記載の方法。

( 項目 1 1 )

前記マトリックス組成物はクエン酸ジアンモニウム ( D A C ) を含む、項目 7 または 8 に記載の方法。

( 項目 1 2 )

前記分析物は核酸である、項目 7 または 8 に記載の方法。

( 項目 1 3 )

質量分析法において用いるために好適な基体を調製するための方法であって、付加物低減添加剤を含むマトリックス材料を該基体上に堆積させるステップを含み、該付加物低減添加剤はアスコルビン酸またはその塩、互変異性体もしくは類似体を含む、方法。

( 項目 1 4 )

前記基体を密封するステップをさらに含む、項目 1 3 に記載の方法。

( 項目 1 5 )

酸化を最小限にするために薬剤またはガスによって前記基体进行处理するステップをさら

に含む、項目 1 3 に記載の方法。

( 項目 1 6 )

前記基体はシリカを含む、項目 1 3 に記載の方法。

( 項目 1 7 )

前記付加物低減添加剤はシュウ酸アンモニウムをさらに含む、項目 1 3 に記載の方法。

( 項目 1 8 )

質量分析法によって分析される組成物であって、分析物と付加物低減添加剤とを含む、組成物。

( 項目 1 9 )

前記付加物低減剤は、アスコルビン酸またはその塩、互変異性体もしくは類似体を含む、項目 1 8 に記載の組成物。

( 項目 2 0 )

シュウ酸アンモニウムをさらに含む、項目 1 9 に記載の組成物。

( 項目 2 1 )

マトリックス組成物と、アスコルビン酸またはその塩、互変異性体もしくは類似体とを含む、組成物。

( 項目 2 2 )

マトリックス組成物と、アスコルビン酸またはその塩、互変異性体もしくは類似体と、シュウ酸アンモニウムとを含む、組成物。

( 項目 2 3 )

質量分析法による分析に好適な組成物であって、分析物と付加物低減添加剤とを含み、該添加剤はアスコルビン酸またはその塩、互変異性体もしくは類似体と、シュウ酸アンモニウムとを含む、組成物。

( 項目 2 4 )

質量分析法のための標的部位であって、基体と、アスコルビン酸またはその塩、互変異性体もしくは類似体およびシュウ酸アンモニウムを含む付加物低減添加剤とを含む、標的部位。

( 項目 2 5 )

マトリックス材料をさらに含む、項目 2 4 に記載の標的部位。

( 項目 2 6 )

質量分析法分析のための分析物を調製するための方法であって、分析物を含む溶液を、アスコルビン酸またはその塩、互変異性体もしくは類似体を含む組成物と接触させることによって、質量分析法分析のためのサンプルを調製するステップと；

該サンプルを質量分析計に導入するステップとを含む、方法。

( 項目 2 7 )

前記組成物はシュウ酸アンモニウムを含む、項目 2 6 に記載の方法。

( 項目 2 8 )

前記分析物は核酸である、項目 2 6 に記載の方法。

( 項目 2 9 )

前記核酸はデオキシリボ核酸である、項目 2 8 に記載の方法。

( 項目 3 0 )

前記核酸はリボ核酸である、項目 2 8 に記載の方法。

( 項目 3 1 )

前記質量分析法分析は、マトリックス支援レーザー脱離 / イオン化飛行時間型 ( M A L D I - T O F ) 質量分析法、レーザー脱離質量分析法 ( L D M S )、エレクトロスプレー ( E S ) 質量分析法、イオンサイクロトロン共鳴 ( I C R ) 質量分析法、およびフーリエ変換質量分析法からなる群より選択される、項目 2 6 に記載の方法。

( 項目 3 2 )

質量分析法によって分析物を分析するための方法であって、  
サンプルを質量分析計に導入するステップであって、該サンプルは分析物と、アスコル  
ビン酸またはその塩、互変異性体もしくは類似体とを含む、ステップ、ならびに  
質量分析法によって該サンプルを分析するステップ  
を含む、方法。

(項目 3 3)

前記サンプルはシュウ酸アンモニウムをさらに含む、項目 3 2 に記載の方法。

(項目 3 4)

前記分析物は核酸である、項目 3 2 に記載の方法。

(項目 3 5)

前記核酸はデオキシリボ核酸である、項目 3 4 に記載の方法。

(項目 3 6)

前記核酸はリボ核酸である、項目 3 4 に記載の方法。

(項目 3 7)

前記質量分析法分析は、マトリックス支援レーザー脱離 / イオン化飛行時間型 (MALDI - TOF) 質量分析法、レーザー脱離質量分析法 (LDMS)、エレクトロスプレー (ES) 質量分析法、イオンサイクロトロン共鳴 (ICR) 質量分析法、およびフーリエ変換質量分析法からなる群より選択される、項目 3 2 に記載の方法。

(項目 3 8)

スポットのアレイを含む基体であって、各スポットは (i) マトリックス支援レーザー脱離 / イオン化 (MALDI) 質量分析法のためのマトリックスと、(ii) アスコルビン酸またはその塩、互変異性体もしくは類似体とを含む、基体。

(項目 3 9)

各スポットはシュウ酸アンモニウムをさらに含む、項目 3 8 に記載の基体。

(項目 4 0)

前記スポットの 1 つまたはそれ以上は分析物をさらに含む、項目 3 8 に記載の基体。

(項目 4 1)

前記分析物は核酸である、項目 4 0 に記載の基体。

(項目 4 2)

前記核酸はデオキシリボ核酸である、項目 4 1 に記載の基体。

(項目 4 3)

前記核酸はリボ核酸である、項目 4 1 に記載の基体。

(項目 4 4)

前記マトリックスは 3 - ヒドロキシピコリン酸を含む、項目 3 8 に記載の基体。

(項目 4 5)

前記基体はチップである、項目 3 8 に記載の基体。

(項目 4 6)

前記チップはシリコンチップである、項目 4 5 に記載の基体。