

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl⁷

H01J 49/04

H01J 49/16



[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 200380103424.0

[43] 公开日 2005 年 12 月 21 日

[11] 公开号 CN 1711622A

[22] 申请日 2003.10.7

[21] 申请号 200380103424.0

[30] 优先权

[32] 2002.11.18 [33] US [31] 10/299,962

[86] 国际申请 PCT/US2003/031839 2003.10.7

[87] 国际公布 WO2004/047142 英 2004.6.3

[85] 进入国家阶段日期 2005.5.16

[71] 申请人 3M 创新有限公司

地址 美国明尼苏达州

[72] 发明人 K·B·伍德 R·P·约翰斯通

P·M·别西纳

[74] 专利代理机构 上海专利商标事务所有限公司

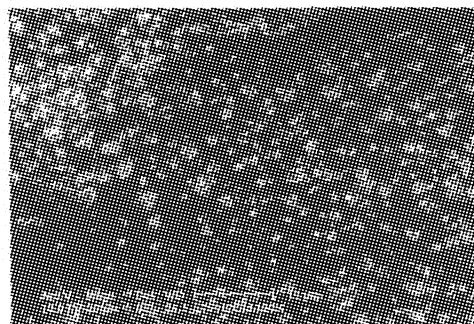
代理人 朱黎明

权利要求书 4 页 说明书 22 页 附图 56 页

[54] 发明名称 具有微结构的聚合物基材

[57] 摘要

介绍了对各种组合物进行高能脱附/离子化的方法和设备。本发明方法和设备一般采用结构化基材,如微米级和纳米级结构膜,任选与一个或多个表面涂层组合使用,以促进对分析物的脱附。这样促进脱附在分析领域如采用基材激光脱附的质谱分析特别有用。



1. 一种微结构聚合物制品，它包括：
具有第一表面的聚合物基材；所述聚合物基材第一表面上的许多微结构；位于至少部分微结构上的涂层；其中，所述聚合物制品用于接收分析物，然后将所述分析物脱附。
2. 如权利要求 1 所述的微结构聚合物制品，其特征在于，所述涂层基本上是非挥发性的。
3. 如权利要求 1 所述的微结构聚合物制品，其特征在于，所述制品在部分微结构上包括至少两个涂层。
4. 如权利要求 3 所述的微结构聚合物制品，其特征在于，至少一个涂层包含金属或金属氧化物。
5. 如权利要求 3 所述的微结构聚合物制品，其特征在于，至少一个涂层包含金属或金属氧化物，至少一个涂层包含类金刚石玻璃。
6. 如权利要求 3 所述的微结构聚合物制品，其特征在于，至少一个涂层是亲水的。
7. 如权利要求 1 所述的微结构聚合物制品，其特征在于，所述涂层包含微粒。
8. 如权利要求 1 所述的微结构聚合物制品，其特征在于，所述聚合物基材包含热塑性材料。
9. 如权利要求 1 所述的微结构聚合物基材，其特征在于，所述聚合物基材选自聚碳酸酯和聚丙烯。
10. 如权利要求 1 所述的微结构聚合物基材，其特征在于，所述聚合物基材包含复合聚合物材料。
11. 如权利要求 1 所述的微结构聚合物基材，其特征在于，所述聚合物基材包含聚合物的混合物。
12. 如权利要求 1 所述的微结构聚合物基材，其特征在于，所述微结构至少有两个维度，最大特征长度为 200 微米。
13. 如权利要求 1 所述的微结构聚合物基材，其特征在于，所述微结构的密度至少为 1000 个微结构/平方毫米。
14. 如权利要求 1 所述的微结构聚合物基材，其特征在于，所述微结构的密度至少为 2500 个微结构/平方毫米。

15. 如权利要求 1 所述的微结构聚合物基材, 其特征在于, 所述涂层包含石墨。

16. 如权利要求 1 所述的微结构聚合物基材, 其特征在于, 所述涂层包含位于聚合物基材上的金属或金属氧化物层。

5 17. 如权利要求 1 所述的微结构聚合物基材, 其特征在于, 所述涂层包含类金刚石玻璃。

18. 如权利要求 1 所述的微结构聚合物基材, 其特征在于, 所述许多微结构上的涂层以不连续图案存在。

19. 如权利要求 18 所述的微结构聚合物基材, 其特征在于, 所述不连续图案
10 包括斑点, 其中, 所述斑点的构造适合接收和容留分析物。

20. 如权利要求 19 所述的微结构聚合物基材, 其特征在于, 所述斑点经过处理后, 亲水性增强。

21. 如权利要求 19 所述的微结构聚合物基材, 其特征在于, 所述基材的构造和排布适合在质谱分析中承载样品。

15 22. 一种接收分析材料样品的器件, 所述器件包括:

具有基本上无孔的分析物接收表面的基材;

许多微结构, 其构造和排布适合将分析物脱附。

23. 如权利要求 22 所述的器件, 其特征在于, 所述基材包含聚合物材料。

24. 如权利要求 22 所述的器件, 其特征在于, 所述分析物接收表面包含金属
20 或金属氧化物。

25. 如权利要求 22 所述的器件, 其特征在于, 所述分析物接收表面包含石墨。

26. 如权利要求 22 所述的器件, 其特征在于, 所述分析物接收表面包含类金刚石玻璃。

27. 如权利要求 22 所述的器件, 其特征在于, 它还包含位于聚合物基材上的
25 金属层和位于金属层上的类金刚石玻璃, 所述金属层位于聚合物基材和类金刚石玻璃之间。

28. 如权利要求 22 所述的器件, 其特征在于, 所述微结构具有至少两个维度, 最大特征长度小于 200 微米。

29. 如权利要求 22 所述的器件, 其特征在于, 它还包含叠加在微结构上的不
30 连续涂层。

30. 如权利要求 22 所述的器件, 其特征在于, 它还包括鉴定装置。

31. 如权利要求 22 所述的器件, 其特征在于, 它还包括鉴定条形码。

32. 如权利要求 22 所述的器件, 其特征在于, 它还包括鉴定射频鉴别标签。

33. 用于接收分析物材料的器件, 所述器件包括至少两个层, 所述层包括:

5 第一聚合物基材层; 第二基本不挥发的材料层, 第二层位于第一层上, 形成基材的上表面; 其中, 所述基材的上表面包括许多结构, 其构造和排布适合促进分析材料的脱附。

34. 如权利要求 33 所述用于接收分析材料样品的器件, 其特征在于, 所述聚合物基材基本上无孔。

10 35. 如权利要求 33 所述用于接收分析材料样品的器件, 其特征在于, 所述第二层包含金属或金属氧化物。

36. 用于接收分析材料样品的器件, 所述器件包括:

具有第一表面、基本上无孔的聚合物基材;

位于聚合物基材第一表面上的许多微结构;

位于聚合物基材第一表面上的许多微结构上的非挥发层。

15 37. 如权利要求 36 所述用于接收分析材料样品的器件, 其特征在于, 所述基材适合接收分析物, 然后将分析物脱附。

38. 一种微结构聚合物制品, 它包括:

20 具有第一表面的聚合物基材; 聚合物基材上的许多结构, 所述结构的特征尺寸至少为 100 微米; 所述聚合物基材第一表面上的许多微结构, 所述微结构与所述结构交织在一起, 比所述结构至少小 50%; 至少部分所述许多结构和许多微结构上的涂层; 其中, 所述聚合物制品的构造适合接收分析物, 然后将分析物脱附。

39. 如权利要求 38 所述的微结构聚合物制品, 其特征在于, 所述微结构至少有两个维度, 最大特征长度小于 50 微米。

25 40. 如权利要求 38 所述的微结构聚合物制品, 其特征在于, 所述涂层包含金属或金属氧化物。

41. 如权利要求 1 所述的微结构聚合物制品, 其特征在于, 所述基材包含聚碳酸酯或聚丙烯。

42. 一种不存在基质时分析材料的方法, 所述方法包括:

30 提供分析材料; 提供无孔微结构基材; 在不存在基质的情况下在无孔基材上沉积分析材料; 使分析材料暴露在能源下, 使分析材料脱附。

43. 如权利要求 42 所述的方法, 其特征在于, 所述能源包括激光束。

44. 如权利要求 42 所述的方法, 其特征在于, 所述微结构在至少两个维度上具有小于 200 微米的特征长度。

45. 如权利要求 42 所述的方法, 其特征在于, 无孔基材还包括金属或非金属涂层。

5 46. 如权利要求 42 所述的方法, 其特征在于, 无孔基材包含聚碳酸酯或聚丙烯。

具有微结构的聚合物基材

5 发明领域

本发明涉及用于先吸附后脱附分子的基材。更具体地说，本发明涉及用于接受和释放分析样品的基材，如在质谱分析中。

发明背景

10 基质辅助激光脱附与离子化(MALDI)已经发展成为一个重要的工具，用于分析为数众多的组合物，特别是复杂的生物材料。MALDI 用化学基质悬浮并保留一种或多种分析物，然后对基质和分析物进行激光脱附和离子化，通常在质谱仪中进行。在 MALDI 当前所用的有机基质开发出来之前，要在对被分析分子进行离子化时使它保持完整，即不使分子破碎是非常困难的。

15 经过几年努力，已经开发出许多基质，它们能满足成功地进行激光吸附和分析物离子化的要求，不会导致分析物破碎，尽管对这些要求我们还知之甚少。这些基质的应用变得很重要，因为它们可以分析用激光脱附和离子化方法难以分析的有机组合物。

MALDI 已成功用于鉴定肽、蛋白质、合成聚合物、低聚核苷、碳水化合物和其他大分子。遗憾的是，常规 MALDI 在分析许多小分子时存在很多缺陷，因为化学基质的信号会干扰被分析分子的信号。图 1 和 2 示出了两个常见基质 2,5-二羟基-苯甲酸(DHBA)和 α -氰基-4-羟基肉桂酸(α -CHCA)的质谱。这些质谱上的许多峰可能干扰对其他材料的质谱分析。

除了信号干扰外，化学基质还有其他许多不利后果。例如，基质会使样品制备复杂化，而额外的处理步骤和材料可能污染样品。基质和分析物必须可溶于相同的溶剂，这进一步使样品的制备变得复杂。基质还使界面分离技术的应用更加困难，样品点不均匀会引起样品分布的“厚此薄彼”现象，分析物和基质晶体聚集体在样品滴周边的量较多，导致质谱的重复性下降。

样品和基质的共晶化也经常带来麻烦，可能使蛋白质变性或团聚。此外，对于指定样品，哪个基质合适并不总是很清楚。例如，对肽和蛋白质有效的基质往往对低聚核苷或聚合物没有作用。此外，正离子检测模式和负离子检测模

式可能需要不同的基质。因此,要找到最佳基质可能需要通过大量的试验和误差检查来寻找。

MALDI 的另一个困难是当前所用脱附基材通常是金属板。这些金属板比较昂贵,用过后通常必须进行清洁,然后才能再次使用。清洁金属板既费时,又可能引起污染,还不能用基材作存储器件,保留分析样品以便进一步分析。因此,需要一种方法和设备,它少用或不用基质。

1999 年,Wei 等在美国专利 6288390 中介绍了不用基质的方法。Wei 介绍了硅晶片的使用,硅晶片在光照和稳恒电流下用 HF/乙醇溶液进行过电化学蚀刻。溶胶中的样品直接涂布到硅上,不用加入任何基质。这种新方法记作硅上脱附/离子化(DIOS),可对质量在 100-6000Da 范围内的分子进行离子化,不受基质干扰。但是,用 DIOS 得到的一些质谱难于重复,DIOS 片的存储寿命通常比较短。此外,DIOS 片比较昂贵,因为生产所用材料和工艺费用高。

因此,仍然需要一种设备和方法,与传统上使用的技术相比能改进激光脱附。还需要一种廉价的分析物脱附基材,这样用过后就可以扔掉或存档。

发明概述

本发明涉及对各种组合物进行高能脱附/离子化的设备和方法。本发明方法采用具有微结构的基材,任选与一种或多种表面涂层一起使用,以改进分析物的脱附。这种改进脱附具有许多用途。例如,用微结构基材可以在不用化学基质的情况下进行脱附。在某些无基质应用中,特别是在分析小分子(如分子量小于 1000 的分子)时,本发明方法较之传统基于基质的方法,具有极佳的表现(例如高信噪比和/或更好的分辨率)。

另一方面,微结构基材也可在有基质的情况下进行脱附,但较之采用传统脱附基材的基于标准基质的方法,它具有极佳的表现。例如,采用微结构基材时,涂布的分析物/基质液滴与不用微结构基材相比,干燥后更均匀。同样,在某些应用中,也可以采用少量基质,从而降低了来自基质的信号噪音。这种特点适合样品的自动沉积、定位和分析。另外,用微结构基材形成的离子附加物(如钾和钠)更少,得到更简单、更易于解释的质谱。

本发明还包括结构化基材,如微结构和纳米结构基材,它由聚合物材料组成,如聚丙烯和聚碳酸酯膜。这些结构化基材接收并保留样品,留待以后作脱附基材。这些结构化基材可含有涂布在样品接收面上的非挥发性材料层,如无

机涂层和有机(含碳)涂层,无机涂层包括金属、金属氧化物和合金,有机涂层包括石墨、硅酮、硅烷衍生物、类金刚石玻璃(DLG)和聚对二甲苯。

本发明的具体实施方式涉及含有结构化表面的制品。所述制品包含具有许多微结构的聚合物基材,在特定实施方式中,在至少部分微结构上包含非挥发性涂层。

在某些实施方式中,微结构基材包含热塑性材料,可由一种或多种聚合物如聚碳酸酯和/或聚丙烯制备。同样,基材可包括至少两层,所述层包括第一层聚合物基材和第二层非挥发性材料,第二层位于第一层上,形成基材的上表面;其中基材上表面具有许多微结构。第二层在此亦称涂层,可用各种方法形成,包括层压、电沉积、刮涂等。微结构可在基材中形成,然后涂敷第二层。或者,可先在基材上形成第二层,然后在基材中形成微结构。或者,在某些实施方式中,微结构可在第二层当中形成。

本发明还提供了由廉价原料制成的脱附基材。由于在生产上比较经济,它用过之后可以丢弃,或者用作存储器件保存分析样品。

本发明的方法和设备有许多应用,包括蛋白质学领域的应用。蛋白质学研究的是蛋白质的位置、相互作用、结构和功能,鉴定和表征存在于健康和患病生物样本中的蛋白质。其他应用包括 DNA 分析、小分子分析、自动高通量质谱分析,以及与分离技术组合,如电泳、固定亲合色谱或液相色谱。

本发明的其他特征和优点从下面对本发明的详细描述和如权利要求中可以看出。上面对本发明原理的概述并未穷尽本发明的每一个示例性实施方式或每一个实际操作方式。下面的详述在这里介绍的原理的基础上,提供了一些更具体的实施方式实例。

附图

下面将结合附图对本发明进行更详尽的阐述。

图 1 是基质 2,5-二羟基-苯甲酸(DHBA)的质谱。

图 2 是基质 α -氰基-4-羟基肉桂酸(α -CHCA)的质谱。

图 3 是根据本发明实施方式用于质谱分析的设备示意图。

图 4 是根据本发明制备的第一微结构基材的扫描电子显微图。

图 5 是根据本发明制备的第二微结构基材的扫描电子显微图。

图 6 是根据本发明制备的第三微结构基材的扫描电子显微图。

图 7 是根据本发明制备的第四微结构基材的扫描电子显微图。

图 8 是根据本发明制备的第五微结构基材的扫描电子显微图。

图 9 是含 α -CHCA 基质的醋氨酚的质谱。

图 10 是来自含 A 型微结构表面和铝膜的聚丙烯的醋氨酚的质谱。

5 图 11 是含 α -CHCA 基质的抗坏血酸的质谱。

图 12 是来自含 A 型微结构表面和铝膜的聚丙烯的抗坏血酸的质谱。

图 13 是含 α -CHCA 基质的青霉素的质谱。

图 14 是来自含 A 型微结构表面和铝膜的聚丙烯的青霉素的质谱。

图 15 是来自含 A 型微结构表面和铝膜的聚丙烯的氯压定的质谱。

10 图 16 是来自涂铝的粗糙聚丙烯的氯压定的质谱。

图 17 是来自含 A 型微结构表面和铝膜的聚丙烯的物质 P 的质谱。

图 18 是来自涂铝的粗糙聚丙烯的物质 P 的质谱。

图 19 是来自含 A 型微结构表面的聚丙烯的血管紧张肽 II 的质谱。

图 20 是来自涂铝的粗糙聚丙烯的血管紧张肽 II 的质谱。

15 图 21 是来自涂 Al/H-DLG 的光滑聚丙烯的氯压定的质谱。

图 22 是来自涂 Al/H-DLG 的粗糙聚丙烯的氯压定的质谱(经过硅酮带加工)。

图 23 是来自涂 Al/H-DLG 的粗糙聚丙烯的氯压定的质谱(经过金属辊加工)。

20 图 24 是来自涂 Al/H-DLG、含 A 型微结构表面的聚丙烯的氯压定的质谱。

图 25 是来自涂 Al/H-DLG 的光滑聚丙烯的物质 P 的质谱。

图 26 是来自涂 Al/H-DLG 的粗糙聚丙烯的物质 P 的质谱(经过硅酮带加工)。

图 27 是来自涂 Al/H-DLG 的粗糙聚丙烯的物质 P 的质谱(经过金属辊加工)。

图 28 是来自涂 Al/H-DLG 的 PPTYPE A 的物质 P 的质谱(经过硅酮带加工)。

25 图 29 是来自含 A 型微结构表面的无涂层聚丙烯的氯压定的质谱。

图 30 是来自含 A 型微结构表面的无涂层聚丙烯的缓激肽(1000ng/ μ L)的质谱。

图 31 是来自涂 H-DLG、含 A 型微结构表面的聚丙烯的氯压定的质谱。

图 32 是来自涂 Al、含 A 型微结构表面的聚丙烯的氯压定的质谱。

30 图 33 是来自涂 Al、含 A 型微结构表面的聚丙烯的缓激肽(1000ng/ μ L)的质谱。

图 34 是来自涂 Al、含 A 型微结构表面的聚丙烯的缓激肽(100ng/μL)的质谱。

图 35 是来自涂 Al/H-DLG、含 A 型微结构表面的聚丙烯的氯压定的质谱。

图 36 是来自涂 Al/H-DLG、含 A 型微结构表面的聚丙烯的氟哌啶醇的质谱。

5 图 37 是来自涂 Al/H-DLG、含 A 型微结构表面的聚丙烯的哌唑嗪的质谱。

图 38 是来自涂 Al/H-DLG、含 A 型微结构表面的聚丙烯的缓激肽的质谱。

图 39 是来自含 A 型微结构表面且新涂有铝的聚丙烯的氯压定的质谱。

图 40 是来自含 A 型微结构表面且涂有铝并老化 5 个月的聚丙烯的氯压定的质谱。

10 图 41 是来自含 A 型微结构表面且新涂有铝的聚丙烯的哌唑嗪的质谱。

图 42 是来自含 A 型微结构表面且涂有铝并老化 5 个月的聚丙烯的哌唑嗪的质谱。

图 43 是来自涂有胶体石墨的光滑聚碳酸酯的氯压定的质谱。

15 图 44 是来自含 B 型微结构表面且涂有胶体石墨的聚碳酸酯的氯压定的质谱。

图 45 是来自涂有胶体石墨的光滑聚碳酸酯的血管紧张肽 II 的质谱。

图 46 是来自含 B 型微结构表面且涂有胶体石墨的聚碳酸酯的血管紧张肽 II 的质谱。

20 图 47 是来自含 B 型微结构表面且涂有胶体石墨的聚碳酸酯的氯压定的质谱。

图 48 是来自含 B 型微结构表面且涂有胶体石墨的聚碳酸酯的血管紧张肽 II 的质谱。

图 49 是来自含 B 型微结构表面且不含涂层的聚碳酸酯的氯压定的质谱。

25 图 50 所示表格列出了来自涂 Al/H-DLG、含 A 型微结构表面的聚丙烯的各种分析物的信噪比-离子化模式。

图 51 是来自涂 Al/H-DLG 的结构中结构膜的氯压定质谱。

图 52 是来自涂 Al/H-DLG 的结构中结构膜的缓激肽质谱。

图 53 是来自含 A 型微结构表面并用 CHCA 基质稀释 10 倍的无涂层聚丙烯的氯压定质谱。

30 图 54 是来自含 A 型微结构表面并用 CHCA 基质稀释 40 倍的无涂层聚丙烯的氯压定质谱。

图 55 是来自含 A 型微结构表面、铝膜的聚丙烯并含 α -CHCA 基质的 Calmix-I 质谱。

图 56 是来自不锈钢板并含 α -CHCA 基质的 Calmix-I 质谱。

图 57 是来自含 A 型微结构表面、铝膜的聚丙烯并含 α -CHCA 基质的 Calmix-I 扩展质谱。

图 58 是来自不锈钢板并含 α -CHCA 基质的 Calmix-I 扩展质谱。

虽然本发明的原理具有各种可改进和可替代形式，但其细节作为实例蕴含于附图之中，并将进行详细叙述。但应当理解，其目的不是将本发明限制在所述特定实施方式上。相反，其用意是涵盖所有的改进形式、等价形式和替代形式，只要它们可归入本说明书和如权利要求书所限定的主旨和范围。

发明详述

A. 一般情况

本发明涉及分析各种组合物的方法和设备，特别是对样品进行高能脱附/离子化的方法和设备。例如，对样品进行激光脱附和离子化的质谱分析就是本发明的合适应用。本发明用微结构基材，如具有微米级和纳米级结构的聚丙烯和聚碳酸酯膜作为脱附基材。这些结构化基材可包括在它们的样品接收面上涂有非挥发性物质层的膜，如无机涂层和有机(含碳)涂层，无机涂层包括金属、金属氧化物和合金，有机涂层包括石墨、硅酮、硅烷衍生物、类金刚石玻璃(DLG)和聚对二甲苯。本发明制备的基材通常有这样一种结构，它们能比无结构基材更有效地促进样品的脱附。结构化基材的作用是获得、提高或促进有效脱附和离子化，而不会发生破裂。除了分析时没有基质信号带来的麻烦之外，在某些实施方式中，如分析小分子时，本发明方法与传统方法和设备相比具有极佳的性能(例如，信噪比高)。

下面将从不同方面详细介绍本发明，包括表面结构和形貌、涂层组合物、基材材料和其他方面。

B. 微结构表面

本发明制备的基材通常具有微结构表面，在某些情况下为微米结构或纳米结构表面。在本发明中，微结构膜是至少在一个面上具有所需表面形貌(即非平面)。微结构包括特征构造，特征构造中至少有两维是精细结构，如美国专利申

请公开 2001/0051264 A1 所述, 该文献在此以其完整内容引为参考。在本说明书中, “精细”是指特征结构足够小, 裸眼需要在光学仪器辅助下才能确定其形状。

在某些实施方式实例中, 本发明所述微结构膜可以定义为三个可能维度中至少有两维(凹进/凸出膜平面, 沿膜平面的每个方向)的物理特征尺寸不超过 200 微米。在这些一般规定下, 本发明的膜可以更具体地描述为具有所需特征尺寸(如沿任何维度测定的长度)和特征密度(单位膜面面积上的特征结构数目)的表面特征结构。在此说明书中, 特征结构可以是任何不同于平整表面的结构。特征结构可包含凸起(例如节、柱、包、脊)或凹陷(例如孔、坑、沟、缝)。微结构表面也可以同时具有凸起和凹陷特征(例如沟和脊, 棱锥形凸起和凹陷)。对于脊、沟或交叉平面, “特征结构”可以是这些脊、沟或平面的角落或交叉线。

所述特征可以是这样一种特征, 即全部三个维度(即膜平面向里和向外, 沿膜面的每个正交方向)上的特征长度相近。反过来, 所述特征可以是这样一种特征, 即一个或多个方向上的特征长度比其他方向长一些, 甚至长得多(例如在脊或沟这样的特征结构中)。

在本发明的某些实施方式中, 微结构特征包括在一个或多个方向上的最大特征长度为 200 微米。在某些实施方式中, 最大特征长度是 50 微米, 而在其他实施方式中, 特征长度小于 10 微米。在某些实施方式中, 微结构膜包括一个或多个方向上的最小特征长度为 1 纳米的膜。在其他实施方式中, 最小特征长度是 10 纳米, 而在另外的实施方式中, 最小特征长度是 100 纳米。另外, 在某些实施方式中, 微结构的特征密度宜为不少于 100 个特征结构/每平方毫米膜, 更宜大于 1000 个特征结构/平方毫米, 最好大于 10000 个特征结构/平面毫米。

本发明微结构基材的实例示于图 4、5、6、7 和 8 所示扫描电子显微图。记作 A 型结构的第一种结构如图 4 所示, 其特征结构的尺寸为几百纳米至几微米。称作 B 型结构的第二种结构如图 5 所示, 其特征结构的尺寸范围为数微米。图 6 所示第三种结构是所谓的粗精整聚丙烯膜, 其特征尺寸范围为数百纳米至数微米。图 7 所示第四种结构是另一种粗精整聚丙烯膜, 其特征尺寸范围为数微米。

较小尺度的特征结构可叠加在较大尺度的特征结构之上, 如图 8 所示实例。较大尺度的精细特征结构不仅可以促进脱附, 而且在某些情况下还具有不同的

功能。例如，较大尺度的特征结构可以划出特定区域用于放置样品，可作为物理屏障将沉积样品限定在所需区域，或者作为增强肋状结构为膜提供更高的强度和硬度。

特征结构可以有规律地重复，如图8所示结构，也可以“随机”排列，如图4、5、6和7所示。特征结构可存在于膜的全部区域，也可以只存在于沉积样品的区域。

本发明的微结构膜通常这样产生：使可成型前体(如液体)与模具接触，所述模具具有所需结构的逆(相反)形貌，然后让前体固化成具有所需结构的固体膜。这样的一种方法是提供熔融塑料形式的膜前体，使之在与模具接触的同时冷却固化。这种挤出/浮雕方法允许使用与原来的某些基材相比没那么容易受到污染，也较少产生不利副产物的材料。另一种方法是采用现成的膜，将其加热到软化点，使之与模具接触，然后将其冷却(浮雕)。另一种方法是使现成的膜与模具接触，通过加压(研光)使膜表面与模具贴合。还有一种方法是提供液浆形式的膜前体，所述液浆由可固化、可聚合或可交联分子组成，然后在与模具接触的时候固化。

可以制备带特征结构的膜，所述特征结构具有所需特征长度和密度，并由所用模具决定。在挤出浮雕方法中，模具通常是圆柱体(辊)或带的形式。采用具有各种形貌的圆柱体或辊可得到具有各种微结构的膜。例如，将熔融聚合物挤出到极光滑的表面上(如挤出中常用的抛光金属辊)通常得到这样的膜，它是用于本发明的光滑、有光泽且基本上没有特征的非结构化膜。如果对模具不作特别的表面修饰而使之极其光滑(例如粗精整金属辊或带)，则在模具上挤出得到的膜将具有微结构形貌，而不是光滑的膜。这种膜在某些情况下可促进分析物的脱附。

在粗糙模具(例如布或覆盖织物的辊)或特地经过粗糙处理的模具(例如经过喷沙、打磨、蚀刻等处理的辊或带)上挤出也能得到具有更多微结构形貌的膜，而不是光滑膜。在特地为本申请提供膜而设计的模具上挤出将得到这样的微结构形貌，它具有特征长度和特征密度的最佳组合。这种模具可用相当多的方法制备，包括物理研磨、钻孔、化学加工、平版印刷、激光烧蚀、等离子体处理、雕刻、化学蚀刻、活性离子蚀刻、化学蒸汽沉积、物理蒸汽沉积和电化学沉积。这种膜的实例见图4和5所示结构，通常对于相当多的分析物来说它们都是最有用的，其细节将在实施例中叙述。

在另一种实施方式中，可对无特征结构的光滑膜进行加工，得到所需特征结构。例如，可对光滑膜进行研磨或修饰，以产生特征结构，所述修饰方法如浮雕、喷沙、激光烧蚀、电晕处理、等离子体处理或火焰处理。在特定情况下，可以涂布光滑膜，然后处理形成所需结构(例如通过浮雕或研光)，只要形成结构的过程不对涂层造成破坏或不利影响。

在另一种实施方式中，也可以给基材上一个涂层，该涂层本身形成适用于本发明的特征结构。例如，可以以颗粒的形式沉积铝层，而不是形成光滑层。也可以给膜涂上一个涂层，以此提供特征结构(例如氧化硅或其他微粒涂层)，然后在特征结构上面涂布非挥发性涂层。

C. 涂层

本发明的微结构膜宜与一个或多个涂布在微结构膜顶部的涂层结合起来使用，以促进脱附。涂层还有其他作用，例如，涂层可作为保护性或耐磨屏蔽层。

适用于本发明的涂层包含无机材料，如金属，例如铝、金、银、镍、钛、钯和铂；金属氧化物，例如二氧化钛、氧化硅和氧化锆；金属或金属氧化物合金，如铬镍铁合金或氧化锡铟。其他有用的涂层包含有机材料，如石墨；碳黑；称作类金刚石碳(DLC)的系列材料，如美国专利 6265068 所述；类金刚石玻璃(DLG)，如题为类“金刚石玻璃薄膜”的 PCT 公开 WO 0166820 所述(上述文献在此引为参考)；硅烷和硅烷衍生物；还有聚对二甲苯。涂层在性质上可以是共形涂层(如聚对二甲苯和 DLG)或微粒涂层(如石墨)。

这种表面涂层在用于激光脱附的条件下通常是非挥发性的。也就是说，涂层要么挥发性可忽略不计，要么挥发掉的物质分子量太低(例如可从石墨发射的碳簇，或可从铝发射的铝离子)，它们不干扰待测分析物。就这一点而言，涂层与常规基质存在区别。虽然基质材料通常认为是“非挥发性的”，因为它们的环境条件下的挥发或升华速度很慢，但它们在实际的激光脱附过程中挥发明显，挥发物质具有相当高的分子量，可以干扰或模糊分析物信号。

挥发性上的这种基本差异部分源自这样一个事实，即本发明涂层通常以大尺度网络形式存在，它们在许多倍分子长度上彼此相连。这种连接可存在于沿着膜表面和/或垂直于膜的一个或两个方向上。例如，在所采用的石墨涂层中，石墨微粒由数以百万计的碳原子组成，它们通过共价键在微米级的距离上相连

接。又如，在所采用的金属涂层中，金属涂层由数以百万计的金属原子组成，它们通过金属键在微米级甚至毫米级的距离上相连。相反，基质通常以晶体形式涂布，晶体由彼此不通过化学键相连的单个分子组成；或者以分子形式涂布，一个个分子孤立地束缚在基材表面上的固定位上，彼此间没有通过化学键相连。

涂层可用各种方法涂布到微结构膜上，所述方法包括蒸气涂、溅涂、等离子体涂、真空升华、化学气相沉积、阴极弧沉积等。这些方法特别适合涂布金属或金属氧化物。像石墨这样的涂层最容易以石墨分散体的形式涂布，可以用任何涂布液体的熟知方法(刮涂、喷涂、浸涂、旋涂等)涂布到基材上。

宜以不连续形式形成涂层，而不是在整个微结构表面上形成连续涂层。例如，涂层可以在离散位置上形成，例如形成斑点。在多层涂层中，一个涂层可以是离散的，而其他涂层可以是连续的，根据具体情况下的需要而定。不连续涂层具有若干功能。例如，它们可以划出特定区域，用以沉积分析物样品，一旦带有样品的膜放到质谱仪上后，就可以对这些区域进行定位。也可以用涂层使微结构膜的表面能不连续，从而便于在所需区域包含沉积的分析样品，并防止样品在过宽的区域上发生毛细作用或铺展。

这种涂层可通过许多方法以离散形式涂布。如果用蒸气涂方法涂布，可用掩模，如多孔网或膜将涂层限制在掩模所限定的区域。在需要多层定位离散涂层(例如包含斑点的重叠多层涂层)的情况下，可在涂布不同层的过程中将掩模加到膜上(例如通过粘合剂)，这样各层就可根据要求叠加在一起。最后一个层涂布完成后，除去掩模。在另一种实施方式中，多孔掩模本身可保留在膜上，在此情况下，它起阱的作用，用来保留放置在阱中的分析物滴。为此也可以提供多孔层，它对确定涂层没有任何作用。对于石墨这样的涂层，熟知的液体涂布方法，如凹版式涂布法可用来以不连续方式沉积石墨。

D. 基材

本发明依赖于可形成或产生微结构表面的基材材料。许多材料都适合用作本发明的基材。一般地，基材是聚合物材料，虽然也可以采用具有本发明所述性质的非聚合物材料。基材通常无孔或基本上无孔。

本发明微结构膜相对于目前可得到的多孔材料(例如 DIOS 片)来说具有许多优点，因为这种多孔材料在存储或使用过程中容易从空气中摄取杂质，从而

引起污染。相反，微结构材料在某些实施方式中不容易受到这种污染，因为它们通常是无孔的。

相当多的聚合物材料都适用于本发明，它们包括热塑性材料(如聚烯烃，包括聚丙烯和聚乙烯)和热固性(可固化)材料。合适的材料包括结晶、半结晶、无定形或玻璃态聚合物。也可以采用共聚物。

对这种聚合物可作适当填充或改性，只要填充剂不明显影响分析物脱附性质的提高。可以采用相当多的填充剂和添加剂，它们可带来许多功能和性质。举例来说，它们包括能提高强度和/或模量的填充剂，能提高抗氧化能力、热稳定性或 UV 稳定性的添加剂，加工添加剂(例如提高挤出形状)、颜料和着色剂等。

这样就可以调节本发明所用聚合物材料，使之具有相当多的物理、化学、光学、电学和热学性质。

E. 器件装置和特征

本发明包含具有特定结构和任选涂层的基材，用于提高脱附性，特别是在质谱分析中。在典型的应用中，将膜贴到标准金属板上，插入质谱仪器。因此，本发明具有许多有用的实施方式。宜在膜的背面(无微结构)涂一层粘合剂，以便于将膜贴在金属板上。粘合剂可以是层压粘合剂或双面胶。层压粘合剂可贴在微结构膜的下面，剥离衬垫保留在粘合剂底部。使用者只需揭掉剥离衬垫，就可以借助粘合剂将膜直接贴在板上。或者，可为使用者单独提供一片层压粘合剂，然后将粘合剂涂布在金属板上，除去衬垫，并将微结构膜贴在粘合剂顶部。

粘合剂应当仔细挑选，以免它容留或产生任何可污染微结构基材的杂质。此外，在某些情况下，粘合剂宜具有导电性。这种导电粘合剂容易得到，例如 3M 公司(Maplewood, Minnesota)生产的导电粘合剂 9713。粘合剂可以这样选择，它们可永久粘在微结构膜下面，也可以是能够掀掉的。

一般地，任选在下方带有粘合剂的微结构膜可以包装好，然后提供为客户。这种包装可由任何能保护膜的部件构成，它不会给膜带来污染。例如，可将膜包装在塑料袋或塑料箱中。作为附加保护措施，可在膜的上表面(含微结构)顶部放置保护衬垫。

在另一种实施方式中，可在微结构膜上加条形码，这样膜样品就容易鉴别

和留档。在这种情况下,可在工作区(即沉积样品的区域)之外留一块地方,供加条形码之用。

F. 样品的制备和使用基材的方法

- 5 本发明特别适用于质谱分析。用激光短脉冲冲击打沉积在基材上的分析物斑点,使样品脱附并离子化。离子形成后,在到达检测器之前由一个或多个电场加速。到达检测器所花时间,或者微粒撞击检测器的位置,都可以用来确定微粒的质量。

飞行时间分析(TOF)是可以采用的一种质谱方法。图 3 所示为飞行时间设备的示意图。对于分子量小于 10000Da 的分子,用反射子模式压缩到达检测器的离子的动能分布。可发展此方法,提高质谱的分辨率,主要用于分子量小于 10000Da 的分子。这种较高的分辨率往往带来灵敏度的下降和限定质量范围的缩小。

15 G. 实施例

通过下面的实施例可进一步理解本发明。

对于这些实施例,基材用聚合物熔融加工法制备。具有图 4 所示“A 型”形貌的塑料膜通过将 Exxon 聚丙烯 3445 挤出到具有所需结构的硅酮带工具上制备。硅酮带工具这样制备,通过旋转浇注法使液态硅酮与金属工具接触,然后让硅酮固化。金属工具用气相沉积法制备,如国际专利 WO 01/68940 所述,在此引为参考。聚合物在 400°F 的熔融温度下挤出,工具温度设定在 125°F。咬合压力设定为 20psi,线速设定在 5fpm。聚丙烯冷却后从工具上取下。聚丙烯挤出物复制了工具的特征,得到的表面具有随机特征结构,特征尺寸从数百纳米到数微米。

25 具有图 5 所示“B 型”形貌的塑料膜用压模法制备。将一片厚 0.014”的 Markrolon 2407 聚碳酸酯膜(Bayer AG 生产)放在平整的抛光金属压板和具有特定结构的金属工具之间。金属工具通过在平整金属表面上电化学沉积金属制备。将工具、膜和压板堆放入 Wabash 压模机。压模机的压盘设定在 190℃,合上压盘,在样品上得到 50psi 的压力。在此条件下压样品 2 分钟,然后将样品上的压力增加到 200psi。此条件保持 3 分钟,然后冷却系统。样品保持在 200psi 的压模机中,直到压盘温度达到 80℃,然后打开压模机,取出样品。聚碳酸酯

30

膜的特征尺寸在数微米范围内。

粗精整膜(图 6)通过将 Exxon 聚丙烯 3445 挤出到粗精整硅酮带上制备,所用条件与上面制备 A 型图案的相同。粗精整聚丙烯具有特征结构,其特征尺寸在数百纳米至数微米之间。其特征结构与 A 型结构相比,通常不那么突出,精度也没有那么高。

另一种粗精整膜(图 7)通过将聚丙烯挤出到未抛光的粗精整金属辊上制备,条件同典型的聚丙烯挤出条件。这种膜具有特征结构,其特征尺寸通常在数微米范围内,特征密度通常低于 A 型结构。

具有规整的、非随机结构中结构特征的膜(图 8)通过将 Dow Chemical 7C50 高抗冲聚丙烯共聚物挤出到具有所需结构之逆结构的金属工具辊上制备。共聚物树脂通过 Killion 单螺杆(1.25 英寸)挤出机挤出,模具温度设定为 480°F。熔融树脂从模具出来,拉到在压力作用下闭合的两个咬合辊之间。一个辊是橡皮涂敷承压辊,另一个是具有微结构图案的金属工具辊。承压辊维持在 100°F,工具辊维持在 230°F。卷动速度在约 9.8-12.1 英尺/分钟之间。

金属工具辊刻有四组槽,其中两组是平行槽,各组之间彼此垂直,以下称作主槽。这两组垂直的螺旋槽与辊轴之间的夹角约为 45°,深度约为 60 微米(或微米),底部宽度约为 18 微米,顶部宽度约为 34 微米,彼此间隔约为 250 微米。第三组槽与辊轴的夹角约为 90°,深度在约 2-4 微米(或微米),底部宽度约为 4 微米,顶部宽度约为 7 微米,彼此间隔约为 25 微米。第四组槽平行于辊轴,深度约为 5 微米(或微米),底部宽度约为 5 微米,顶部宽度约为 7 微米,彼此间隔约为 25 微米。第三和第四组槽统称辅槽。

在浮雕过程中,熔融聚丙烯树脂填满上面的槽结构并固化,这样就形成微结构膜,其特征结构与上述槽相反。也就是说,膜看上去是小尺度的垂直脊栅格叠加在较大尺寸的垂直脊栅格中,如图 11 所示,并如案号为 57837US02 和 57838US02 的美国专利所述,在此将其引为参考。

通过在抛光金属辊上挤出聚丙烯制备具有光滑表面的非结构化聚丙烯膜,挤出条件与上面制备 A 型图案所用条件相同。表面通常是平整的,没有特征结构。

在聚碳酸酯标准挤出条件下,通过在抛光金属辊上挤出聚碳酸酯制备具有光滑表面的非结构化聚碳酸酯膜。表面通常是平整的,没有特征结构。

用 NRC 3115 钟罩(bell jar)在膜上涂布金属和金属氧化物涂层。对于铝,沉

积厚度约为 950Å。DLG(类金刚石玻璃)用等离子体-热蒸气涂布机涂布，方法如 PCT 公开 WO 0166820 所述。DLG 涂层的厚度约为 1100 Å。在某些情况下，需要对 DLG 涂层进行后处理，使之亲水(记作 H-DLG)，如同一文献所述。在某些情况下，两种涂层均是连续的；而在其他情况下，一种或两种涂层在涂布过程中用掩模沉积在离散区域(例如沉积成斑点)。掩模可以是缺损部分区域的金属箔，也可以是同样缺损部分区域的聚合物膜。在某些情况下，掩模用粘合剂粘附到微结构膜上，特别是当需要在离散区域沉积叠加、预定的涂层时。具体的涂层图案将在具体实施例中介绍。涂布完成后除去掩模。

所有的质谱实验均在 Applied Biosystems (Framingham, MA) Voyager-DE STR 飞行时间质谱仪上进行。用双面胶将膜贴到商购的金属 MALDI 板上。采用脉冲频率为 3Hz 的 337nm 脉冲氮激光，激光强度设定为阈值。下表列出了主要的仪器参数：

极性	正极(另有说明者除外)
操作模式	反射
萃取模式	延迟
加速电压	小分子为 18000-20000V；肽为 20000-24000V
栅电压	76-87.5%
萃取延迟时间	150ns
激光脉冲数	150 个/质谱

质谱数据用 Data Explore™(4.0 版本)处理。测定分辨率(R)和信噪比(S/N)之前，对所有质谱应用“噪音过滤/光滑”功能，相关因子为 0.7。

实施例 1

此实施例说明了在含化学基质和不含化学基质的情况下微结构基材的应用。

根据前面所述方法制备具有 A 型结构的聚丙烯膜(以下称 PPTYPE A)。用 ReMount™可去除喷涂粘合剂将带有孔径为 1.19mm 的 10x10 栅格阵列的金属掩模贴到膜上带微结构的一面。然后在膜上蒸气涂布铝，如前所述，接着除去金属掩模。这样得到的膜包含直径为 1.19mm 的铝斑。(涂铝 PPTYPE A 以下称含有 A 型微结构表面和铝膜的聚丙烯)。

分析样品用 0.1mg 三种常见药物制备：醋氨酚(151.17Da)、抗坏血酸(176.12Da)和青霉素(389Da)。将这些药物溶解在 1.0ml 1:1:0.001 甲醇/水/三氟乙酸溶液中。用吸液管直接将每种分析液各移 0.5 μ L 到膜上的一个铝斑上。分析样品分别在加入了 0.5 μ L 基质 α -氰基-4-羟基肉桂酸(α -CHCA)和不加基质时滴加。样品在空气中干燥约 15 分钟。

图 9 所示为加入了 α -CHCA 基质的醋氨酚质谱。检测器检测到的都是基质信号，观察不到分析物峰。图 10 所示为来自含 A 型微结构表面和铝膜的聚丙烯的醋氨酚质谱，未加基质。在 m/z 152.51 处可以清楚地看到分子离子，在 m/z 174.53 和 m/z 190.54 处分别是钠和钾加合物。此质谱基本上没有噪音，因而很容易鉴定分析物。

图 11 所示为加入了 α -CHCA 基质的抗坏血酸质谱。同样，检测器检测到的都是基质信号，观察不到分析物峰。图 12 所示为来自含 A 型微结构表面和铝膜的聚丙烯的抗坏血酸质谱，未加基质。在 m/z 177.53 处可以清楚地看到分子离子，在 m/z 199.53 和 m/z 215.57 处分别是钠和钾加合物。此方法分辨率高，可以看到分子的同位素形式。

图 13 所示为加入了 α -CHCA 基质的青霉素质谱。分子离子在 m/z 390.03 处，但在基质噪音中难以鉴定。图 14 所示为来自 PPTYPE A-A1 的青霉素质谱，未加基质。在 m/z 389.93 处很容易分辨出分子离子，信噪比与加基质的质谱相比高出 40 倍。

实施例 2

此实施例说明了具有 A 型结构和粗精整结构的涂铝聚丙烯的应用。

粗精整聚丙烯通过在粗精整金属辊上挤出聚丙烯树脂制备，如前所述。具有 A 型结构的聚丙烯按照前述方法制备。两种膜均按前述方法涂布铝连续层。

从 Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO)购买一种小分子氯压定(266.6Da)和两种肽，物质 P(1347.6Da)和血管紧张肽 II(1046.2Da)，使用前不进一步纯化。在含 0.1%三氟乙酸的 50:50 高效液相色谱纯丙烯腈/水混合物中加入 100ng/ μ L 分析物，制备小分子溶液。在含 0.1%三氟乙酸的 50:50 甲醇/水混合物中加入 1000ng/ μ L 分析物，制备两种肽溶液。用吸液管将体积为 0.5-3.0 μ L 的分析物直接移到膜上，然后在室温下干燥约 15 分钟。

图 15 所示为来自具有 A 型结构的聚丙烯的氯压定质谱；图 16 所示为粗精

整聚丙烯的质谱。A 型微结构膜的信噪比高出粗精整聚丙烯三倍。此外，来自 A 型微结构膜的质谱有一条清晰的基线，因为微结构膜允许使用阈值较低的激光强度。

图 17 所示为来自具有 A 型结构的聚丙烯的物质 P 的质谱；图 18 所示为来自粗精整聚丙烯的物质 P 的质谱。A 型微结构膜上的信噪比高 20 倍以上。此外，A 型微结构膜的激光强度阈值较低，这使得质谱更加清晰，更容易鉴别目标分析物。

图 19 所示为来自 A 型结构的聚丙烯的血管紧张肽 II 的质谱；图 20 所示为来自粗精整聚丙烯的血管紧张肽 II 的质谱。如上面的质谱所示，A 型微结构膜具有更高的信噪比和更清晰的基线。

实施例 3

此实施例说明了用各种结构的膜作质谱分析的结果。在所有情况中，膜是聚丙烯膜，涂层是铝上面加亲水 DLG (H-DLG)。这些结构是：无结构(通过挤出到抛光金属板上制备)、粗精整(通过挤出到粗精整硅酮带上制备)、粗精整(通过挤出到未抛光粗精整金属辊上制备)A 型结构，均如前所述制备。

用 ReMount™ 可去除喷涂粘合剂将含有直径为 2.00mm 孔的金属掩模贴到每块膜上。用前述方法和设备在样品上依次涂布铝和 H-DLG，然后除去掩模。所得膜包含直径为 2.00mm 的叠加铝和 H-DLG 斑。

从 Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO) 购买一种小分子氯压定 (266.6Da) 和一种肽物质 P (1347.6Da)。在含 0.1% 三氟乙酸的 50:50 高效液相色谱纯甲醇/水混合物中加入 20ng/μL 氯压定，在含 0.1% 三氟乙酸的 50:50 高效液相色谱纯甲醇/水混合物中加入 100ng/μL 物质 P，制备分析样品溶液。

对于每种分析物，用吸液管将体积为 0.3 μL 的分析液直接移到膜上的 Al/H-DLG 斑上。由于 H-DLG 和周围的聚丙烯之间存在表面能差异，所加样品仍然限定在涂层区。让样品在室温下干燥约 15 分钟。

图 21-24 所示为来自未结构化聚丙烯、粗精整(硅酮带)聚丙烯、粗精整(金属辊)聚丙烯和具有 A 型结构的聚丙烯的小分子氯压定质谱。未结构化膜即使在较高激光功率下也得不到分析物信号。用两种粗精整膜可以得到看到分析物，信噪比约为 600。来自 A 型膜的质谱的信噪比约为 56000。

图 25-28 所示为来自未结构化、粗精整(金属和硅酮)和 A 型微结构聚丙烯

膜的肽物质 P 的质谱。同样，未结构化膜显示的分析物信号为 0。两种粗精整膜上可以看到分析物信号，但信噪比低。来自 A 型微结构膜的质谱质量好得多，相对强度和信噪比也较高。

5 实施例 4

此实施例说明了用铝和亲水 DLG 单涂层作质谱分析的结果。

具有 A 型结构的聚丙烯膜上分别不加涂层、加连续亲水类金刚石玻璃 (H-DLG) 涂层和加连续铝涂层。

从 Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO) 购买一种小分子氯压定 (266.6Da) 和一种名为缓激肽的肽 (1060.2Da)，使用前不纯化。在含 0.1% 三氟乙酸的 50:50 高效液相色谱纯甲醇/水混合物中加入 100ng/ μ L 氯压定，制备氯压定溶液。在含 0.1% 三氟乙酸的 50:50 甲醇/水混合物中制备两种不同浓度的缓激肽溶液，一种浓度为 1000ng/ μ L，一种浓度为 100ng/ μ L。

用吸液管将体积为 3.0 μ L 的分析液直接移到膜上，然后在室温下干燥约 15 分钟。

图 29 所示为来自具有 A 型结构但不含涂层的聚丙烯膜的氯压定质谱。可以看到分子离子峰，但强度较低。图 30 所示为来自同一种膜的浓度较高的缓激肽的质谱，但没有看到肽的信号。

图 31 所示为来自具有 A 型结构和 H-DLG 涂层的聚丙烯膜的氯压定质谱。该质谱基本上没有化学噪音，但强度较低。两种浓度的缓激肽在此膜上均没有得到信号。

图 32 所示为来自涂铝且具有 A 型微结构的聚丙烯膜的氯压定质谱。此质谱比较干净，信噪比好。图 33 和 34 所示为来自涂铝且具有 A 型微结构的聚丙烯膜的 [1000ng/ μ L] 缓激肽和 [100ng/ μ L] 缓激肽的质谱。与无涂层或涂有 HDLG 的 A 型结构膜相比，它们的信噪比较高。

实施例 5

此实施例采用 A 型结构聚丙烯上铝涂层顶部涂有 H-DLG 的多层涂层。铝涂层是连续的，而 H-DLG 在铝顶部涂成不连续斑点。

按照前述方法制备 A 型结构聚丙烯膜并涂布铝。将含有直径为 550 微米孔的多孔聚合物掩模贴到膜上，涂布 H-DLG，然后除去掩模。所得膜在连续铝层

上包含直接为 550 微米的 H-DLG 斑点。

从 Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO) 购买三种小分子：氯压定 (266.6Da)、氟哌啶醇 (375.9Da)、哌唑嗪 (419.9Da)；购买一种名为缓激肽的肽 (1060.2Da)，使用前不纯化。在含 0.1% 三氟乙酸的 50:50 高效液相色谱纯甲醇/水混合物中制备每种分析物的 100ng/ μ L 溶液。

对于每种分析物，用吸液管将体积为 0.5 μ L 的分析液直接移到膜上的一个 H-DLG 斑上。由于 H-DLG 和周围的铝之间存在表面能差，所加样品仍然限定在 H-DLG 涂层区。让样品在室温下干燥约 15 分钟。

图 35、36 和 37 所示为来自含铝+亲水 DLG 涂层的 A 型微结构聚丙烯膜的小分子氯压定、氟哌啶醇和哌唑嗪的质谱。从所有质谱上可以看出，在低激光强度下可得到极高的信噪比。这可以得到干净的图谱，没有外来峰，容易鉴定目标分子。图 38 所示为来自同一种膜的缓激肽的质谱。该质谱具有较高强度，同样容易找到目标分子。对于所有的图谱，信号在整个干燥样品滴上的均匀度非常好，没有观察到“厚此薄彼”的现象。

实施例 6

此实施例说明了涂铝 A 型膜在长达数月的存储过程中具有优异的储存寿命。

按照前述方法制备具有 A 型结构的聚丙烯膜，涂敷连续铝层。涂布完成后，一些样品在几天之内用于质谱分析，其他样品于室温下在有盖塑料皮氏培养皿中存储 5 个月之后再用于分析。

从 Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO) 购买两种小分子：氯压定 (266.6Da) 和哌唑嗪 (419.9Da)，使用前不纯化。在含 0.1% 三氟乙酸的 50:50 高效液相色谱纯甲醇/水混合物中制备每种小分子的 100ng/ μ L 溶液。用吸液管将体积为 3.0 μ L 的分析液直接移到膜上，在室温空气中干燥约 15 分钟。

图 39 所示为来自刚刚涂敷铝的膜的氯压定质谱。图 40 所示为来自与新涂布分析物同批次但放置了 5 个月的膜的氯压定质谱。就信噪比和质谱质量而言，老化膜上没有看到性能有明显下降。也没有看到任何污染的迹象或灵敏度的损失。

图 41 所示为来自刚刚涂敷铝的膜的哌唑嗪质谱。图 42 所示为来自与新涂布分析物同批次但放置了 5 个月的膜的哌唑嗪质谱。同样，老化膜具有良好的

信噪比和质谱质量。

实施例 7

此实施例说明了含石墨涂层的 B 型结构聚碳酸酯 (PCTYPE B) 的结构-纳米
5 结构效应。

光滑聚碳酸酯膜和具有 B 型结构的聚碳酸酯膜按照前述方法制备。在异丙醇中制备胶状石墨颜料(购自 Energy Beam Science Inc., Agawam, MA)的 1:40 稀释液。在纳米结构聚碳酸酯和 B 型微结构聚碳酸酯上涂布稀释石墨分散体涂层, 这可通过将棉棒浸入分散体, 然后将分散体涂抹到膜上。分别涂抹两次,
10 两次彼此垂直, 以确保完全覆盖。在沉积样品之前, 让涂层干燥数小时。

从 Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO)购买一种小分子氯压定(266.6Da)和一种肽血管紧张肽 II(1046.2Da), 使用前不进一步纯化。在含 0.1%三氟乙酸的 50:50 高效液相色谱纯甲醇/水混合物中加入 100ng/ μ L 分析物, 制备小分子溶液。在水中制备含 1000ng/ μ L 分析物的肽溶液。用吸液管将体积为 1.5 μ L 的
15 分析物直接移到膜上, 然后在室温空气中干燥约 15 分钟。

图 43 所示为来自非结构化聚碳酸酯膜的氯压定质谱。由于需要高强度激光才能使分析物离子化, 所以分辨率很低, 分子的同位素形式无法区分。图 44 所示为来自 B 型结构聚碳酸酯膜的氯压定质谱。与非结构化膜相比, 质谱质量有很大提高, 同位素峰清楚地分开, 信噪比也高得多。

20 图 45 所示为来自非结构化聚碳酸酯膜的血管紧张肽 II 的质谱, 它有大量基线噪音, 分析物的峰难以检测。图 46 所示为来自 B 型微结构聚碳酸酯膜的血管紧张肽 II 的质谱, 其噪音少得多, 分子离子容易检测, 信噪比得到很大改善。

25 实施例 8

此实施例说明了 B 型结构聚碳酸酯有石墨涂层和没有石墨涂层的对比效果。

根据前述方法制备 B 型结构聚碳酸酯, 并涂布石墨。还有一些 B 型结构聚碳酸酯没有涂布石墨。

30 从 Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO)购买一种小分子氯压定(266.6Da)和一种肽血管紧张肽 II(1046.2Da), 使用前不进一步纯化。在含 0.1%三氟乙酸的

50:50 高效液相色谱纯甲醇/水混合物中加入 100ng/ μL 分析物, 制备小分子溶液。在水中制备含 1000ng/ μL 分析物的肽溶液。用吸液管将体积为 1.5 μL 的分析物直接移到膜上, 然后在室温空气中干燥约 15 分钟。

图 47 所示为来自涂有石墨的 B 型结构聚碳酸酯膜的氯压定质谱, 质谱质量很好, 同位素峰清晰可辨, 信噪比良好。图 48 所示为来自同一 B 型微结构聚碳酸酯膜的血管紧张肽 II 的质谱, 质谱质量良好, 分子离子容易检测。

图 49 所示为没有涂层的 B 型结构聚碳酸酯膜的氯压定质谱。质谱上有小的分析物峰, 但强度和信噪比很低。对于来自没有涂层的 B 型结构聚碳酸酯的血管紧张肽 II, 没有观察到肽峰(图未给出)。

10

实施例 9

此实施例说明了用微结构基材对来自相同基材的正电性物质(阳离子)和负电性物质(阴离子)进行分析。此实施例还说明微结构基材在混合分析物中的应用。

15 按照前面所述方法制备 A 型结构聚丙烯。将含有直径为 550 微米孔的多孔聚合物掩模贴到膜上。在膜上先涂铝, 再涂 H-DLG, 然后除去掩模。所得膜含有直径为 550 微米、H-DLG 叠加在铝涂层上形成的斑点。

购买质量范围为 150-600Da、由 8 种化合物组成的专用混合物, 它们代表组合化学分析中经常碰到的化合物, 将它们溶解在甲醇中, 得到浓度为 0.1-0.3 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 的溶液。用吸液管将 0.3 μL 样品分析液移到膜上的斑点, 在空气中干燥约 15 分钟。

图 50 所示为从 8 个代表性化合物中每个化合物的主峰(或分子离子峰)得到的信噪比数据和全部 8 个化合物的平均信噪比数据。可接受的信噪比在正负离子模式下均可得到。

25

实施例 10

此实施例说明了涂有 Al/H-DLG 的叠加型精细尺度/大尺度结构中结构基材的应用。

图 8 所示具有结构中结构形貌的聚丙烯共聚物膜按照前述方法制备。将含有直径为 1.4mm 孔阵列、背部涂有粘合剂的聚合物掩模贴到膜上。膜上先涂布铝, 再涂布 H-DLG, 然后除去掩模。所得膜含有直径为 1.4mm、H-DLG 叠加在铝

涂层上形成的斑点。

从 Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO) 购买一种小分子氯压定 (266.6Da) 和一种名为缓激肽的肽 (1060.2Da)，使用前不纯化。在含 0.1% 三氟乙酸的 50:50 高效液相色谱纯甲醇/水混合物中加入 20ng/ μ L 氯压定，制备氯压定溶液。在
5 含 0.1% 三氟乙酸的 50:50 高效液相色谱纯甲醇/水混合物中加入 100ng/ μ L 缓激肽，制备缓激肽溶液。用吸液管将体积为 2.0 μ L 的分析液直接移到膜上的涂层斑上，然后在室温空气中干燥约 15 分钟。

图 51 所示为来自结构中结构膜的氯压定质谱。质谱具有较高强度、良好的信噪比和较少的化学噪音。图 52 所示为来自结构中结构膜的缓激肽，其强
10 度较低，但分析物峰可清楚看到。

在两种情况下，结构中结构膜均能得到非常均匀的干燥样品，这从容易得到没有“厚此薄彼”现象的质谱可以看出来。

实施例 11

15 此实施例说明了无涂层微结构膜在化学基质存在下的应用。

制备 A 型结构聚丙烯，用双面胶固定在商购金属 MALDI 板上。

从 Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO) 购买小分子氯压定 (266.6Da)。在含 0.1% 三氟乙酸的 50:50 高效液相色谱纯甲醇/水混合物中制备 20ng/ μ L 的氯压定溶液。将 α -CHCA 基质在饱和含 0.1% 三氟乙酸的 50:50 高效液相色谱纯甲
20 醇/水混合物中形成的饱和溶液分别稀释 5 倍和 20 倍。每种稀释基质溶液各取 1 μ L 与 2 μ L 样品溶液混合，得到基质的 10 倍和 40 倍稀释液。用吸液管将体积为 0.2 μ L 的分析物/基质液直接移到膜上，然后在室温下干燥约 15 分钟。

图 53 所示为在 α -CHCA 基质的 10 倍稀释液中氯压定的质谱。分析物峰具有良好的信噪比和相对强度，但存在来自基质峰的干扰。图 54 所示为在 α -CHCA 基质的 40 倍稀释液中氯压定的质谱。在这种稀释程度下，来自基质的
25 干扰较少。

实施例 12

此实施例说明了微结构涂层膜在基质存在下的应用。

30 按照前述方法制备 A 型结构聚丙烯膜。将含有直径为 500 微米孔的金属掩模贴到膜上。在膜上涂布铝，然后除去掩模。所得膜包含直径为 500 微米的铝

斑。

在这些实验中采用 Sequazyme™ 肽质量标准试剂盒 (PerSeptive Biosystems, Framingham, MA)。肽校正混合物 1 包含以下肽: des-Arg¹-缓激肽 (904.05Da); 血管紧张肽 I (1296.51Da); Glu1-血纤维蛋白肽 B (1570.61Da) 和神经紧张肽 (1672.96Da)。肽混合物的备用溶液通过混合标准肽混合物和 100 μL 30% 丙烯腈在 0.01% TFA 中的溶液来制备。基质 α-氰基-4-羟基肉桂酸 (α-CHCA) 的饱和溶液通过混合预先称好的 5-8mg α-CHCA 和 1ml 50% 丙烯腈在 0.3% 三氟乙酸 (TFA) 稀释剂中的溶液来制备。24 μL 标准 α-CHCA 基质溶液与 1 μL 肽储备溶液混合。

10 用吸液管将 0.1 μL 或 0.2 μL 样品移到膜上的铝斑涂层上, 在空气中干燥约 2 分钟。用相同的样品沉积程序将分析物斑点涂布到商购不锈钢 MALDI 板上。分析之前, 不再制备其他样品或清洁样品。

由 0.1 μL 含 α-CHCA 的校正混合物 1 在涂铝 A 型微结构膜上得到的正离子 MALDI 质谱产生 Glu-血纤维蛋白肽 (MW 1569Da) 的质子化分子离子 (m/z 1570) S/N 值为 3620 (如图 55 所示)。

图 56 所示为相同分析物和基质组合的正离子 MALDI 质谱, 它采用市售标准不锈钢板。金属板采用的操作条件类似于 A 型微结构聚丙烯膜所用条件。其信噪比与用涂铝 PPTYPE A 微结构膜所得到的性能相当。

20 虽然质子化分子离子是激光脱附/离子化过程产生的主要离子物种, 但也能形成钠和钾阳离子物种。如果仔细检查来自不锈钢板和微结构膜上的 Glu-血纤维蛋白肽 B 的分子离子区, 会发现用微结构膜时的离子化程度显著降低, 如图 57 和 58 所示。

与传统金属板不同的是, 传统金属板的最佳信号在干燥样品滴的边缘, 而微结构膜的信号在真格干燥样品滴上都更加均匀。

25 本发明可以其他具体形式实施, 只要不背离其主旨或基本特征。所述实施方式纯粹只是用于说明, 不构成任何限制。因此, 本发明的范围只受附属如权利要求而不是前面的叙述限制。

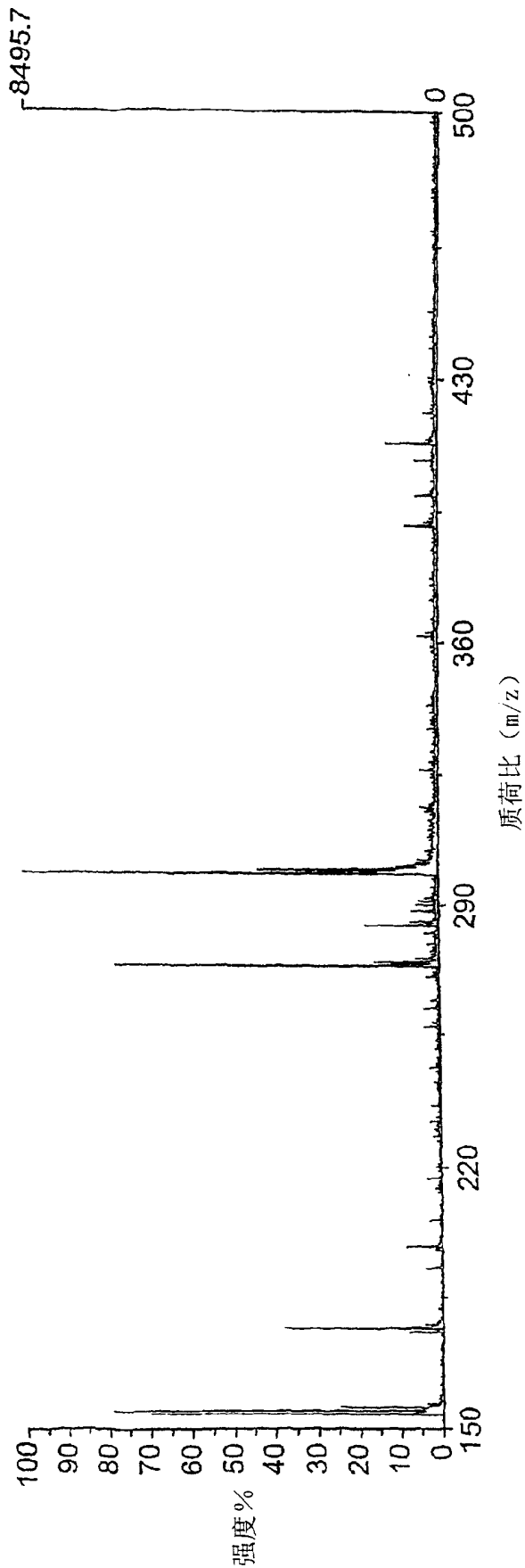


图 1

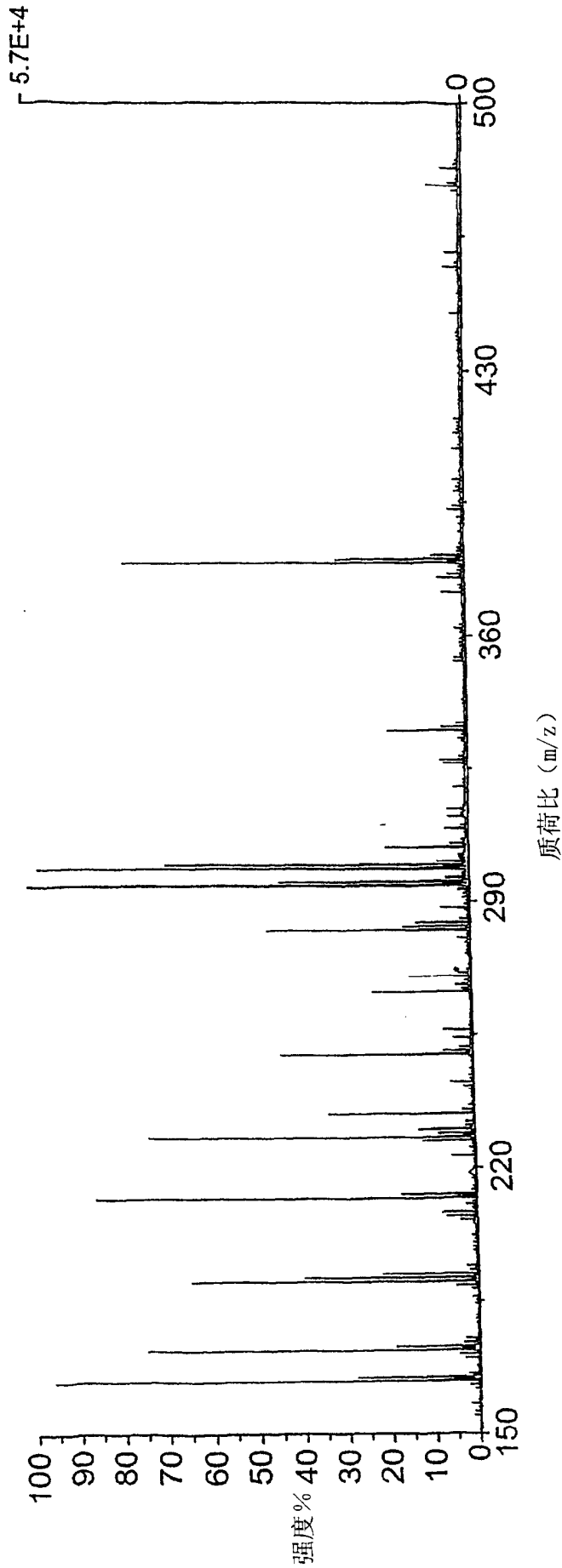


图 2

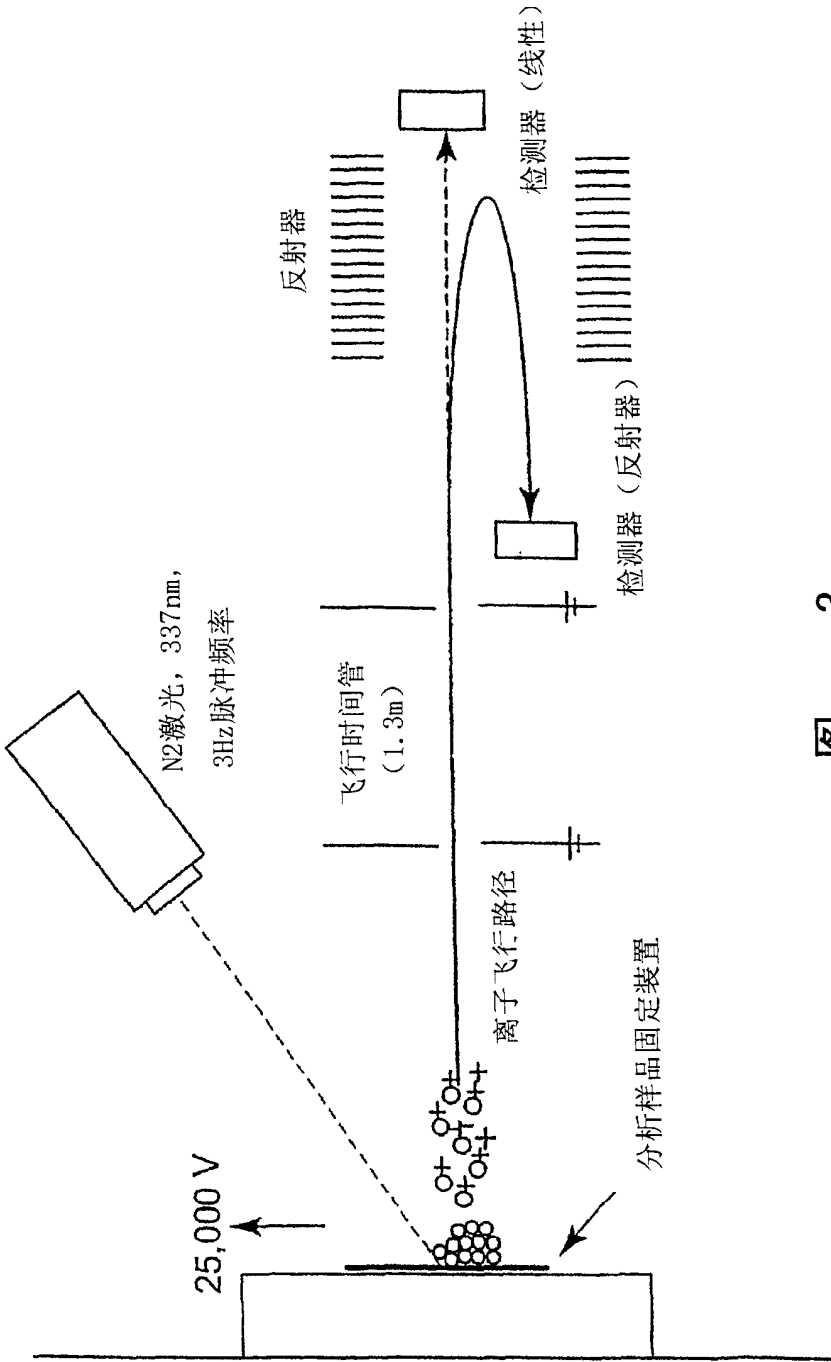


图 3

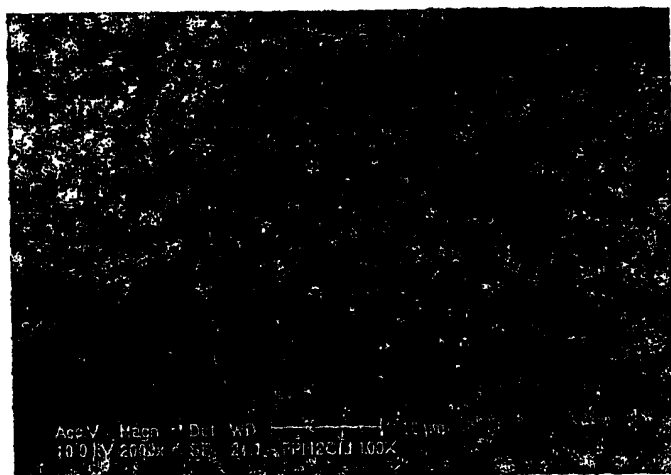


图 4

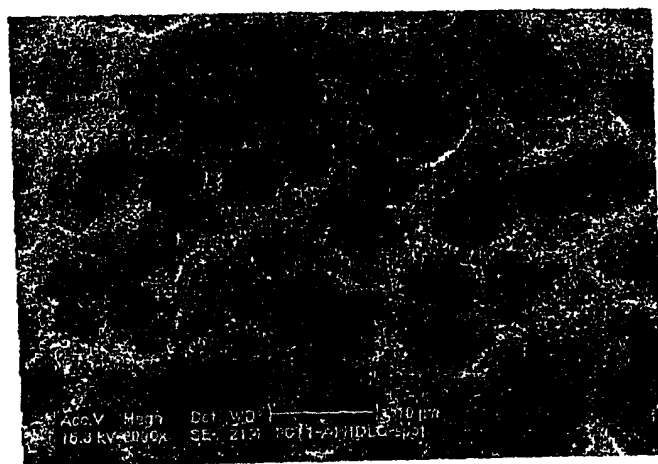


图 5

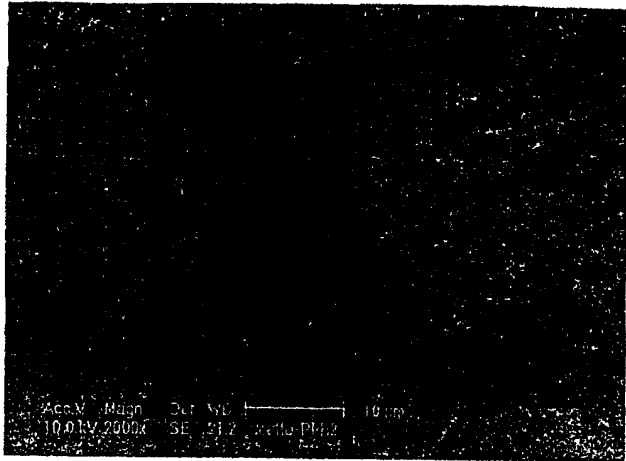


图 6

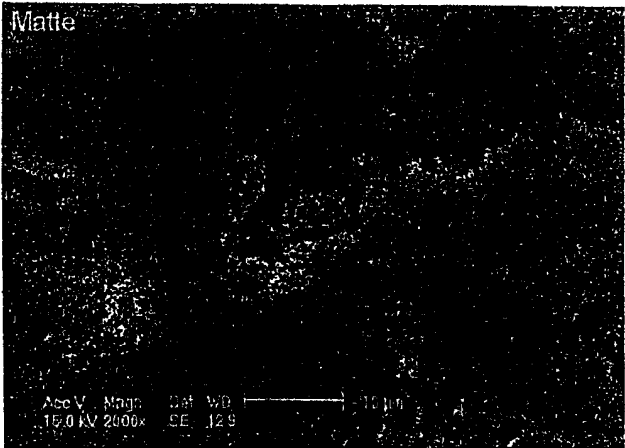


图 7

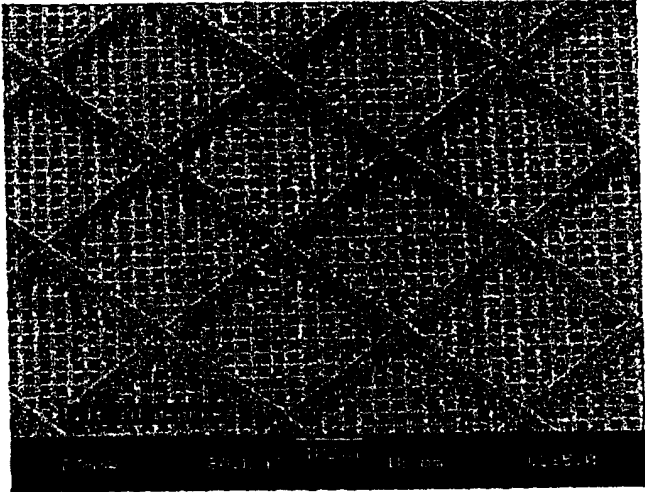


图 8

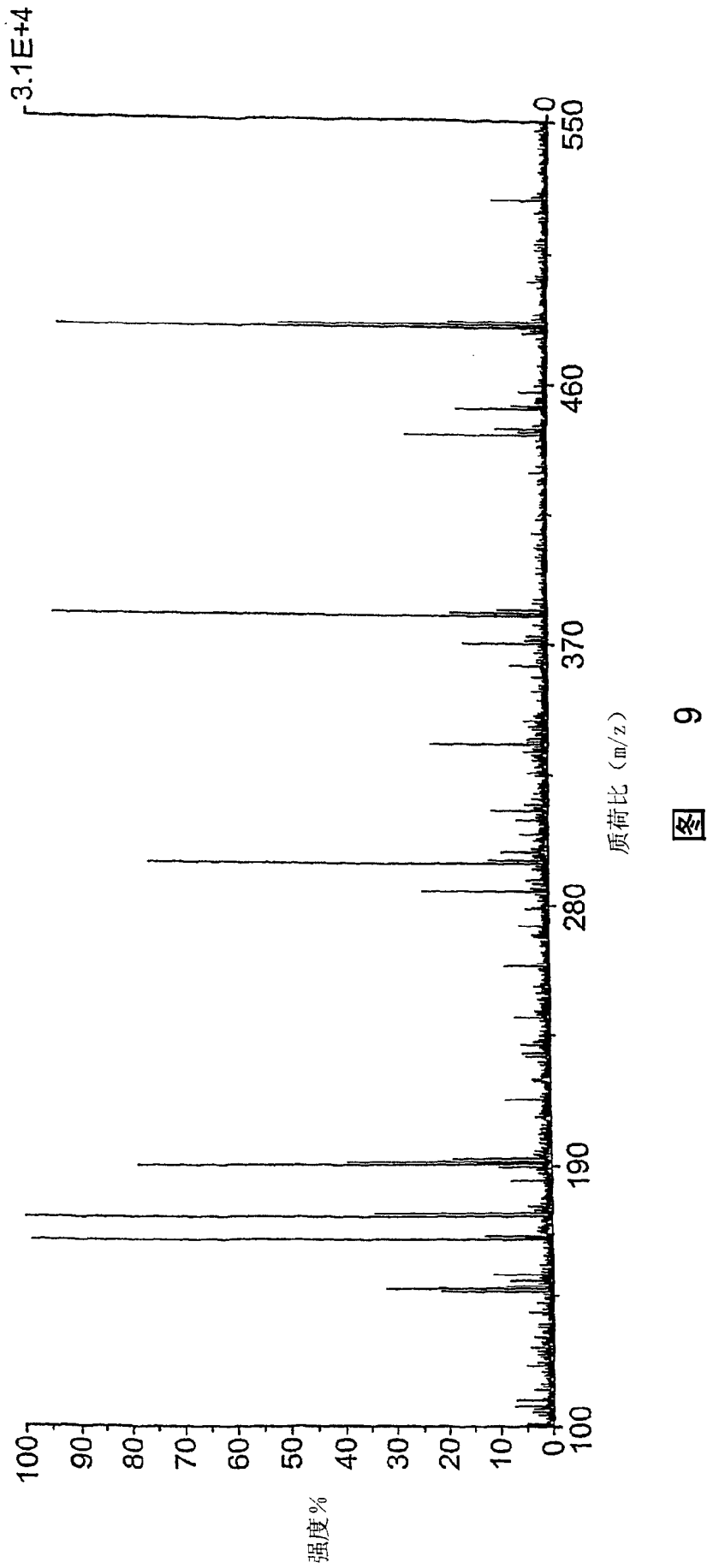


图 9

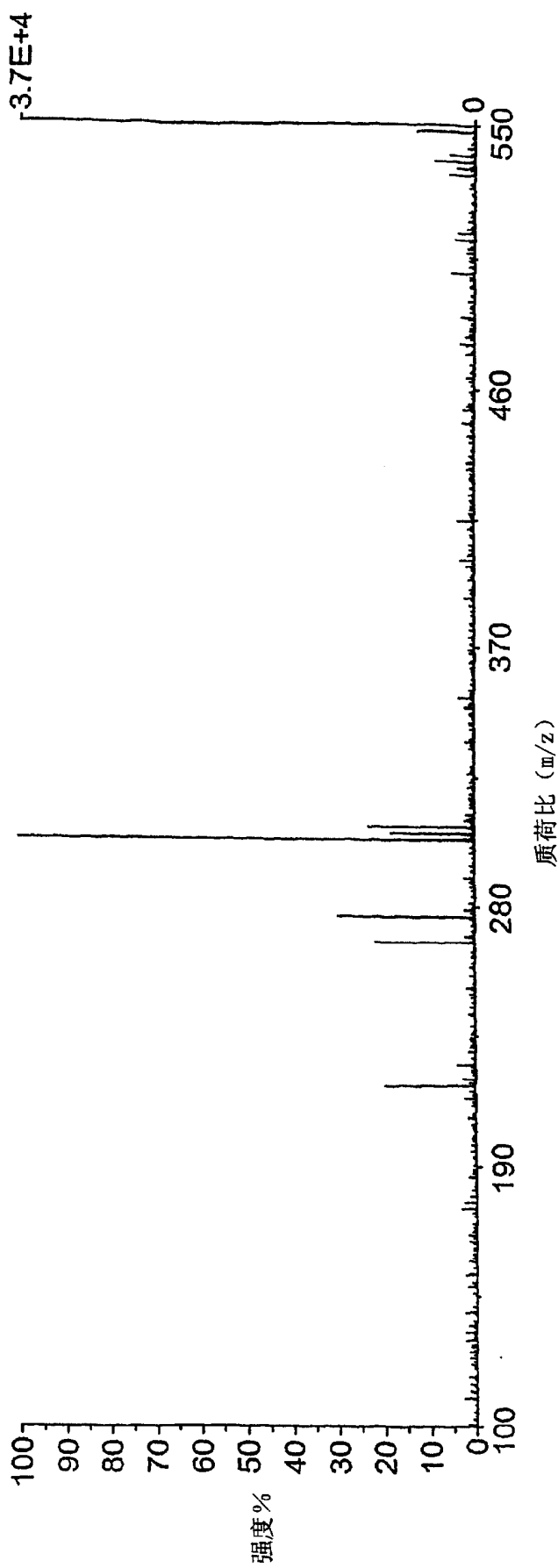


图 10

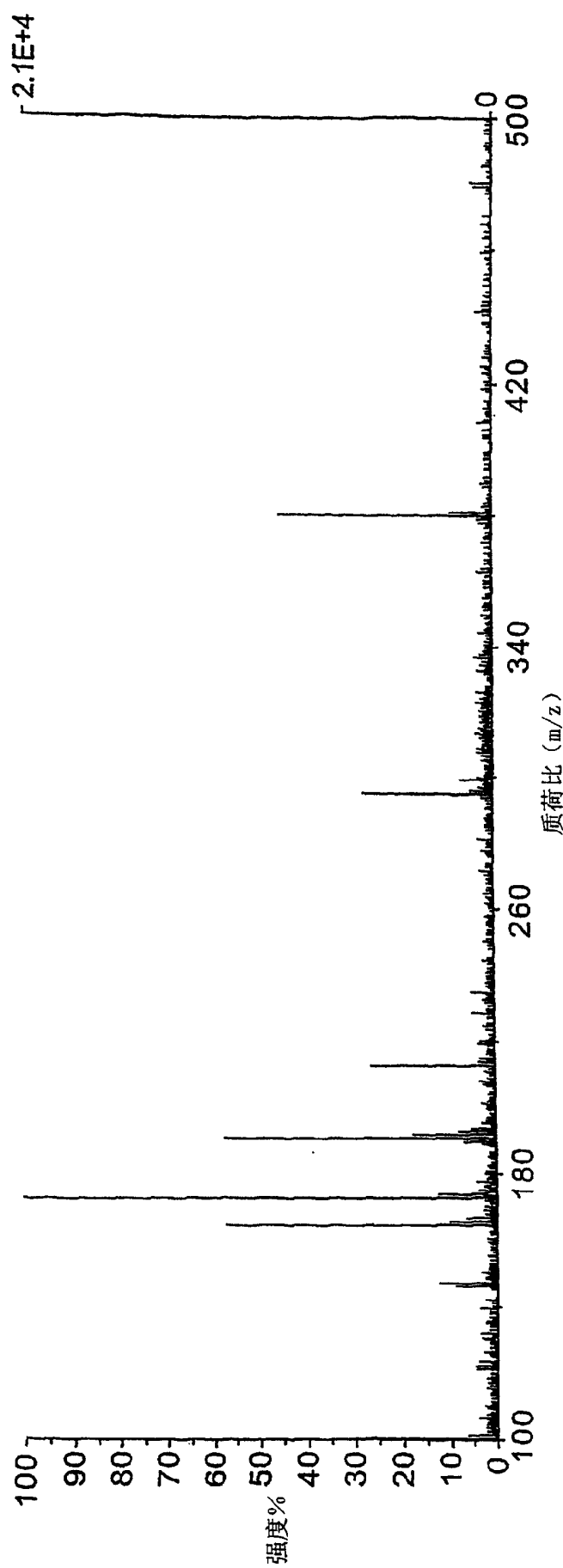


图 11

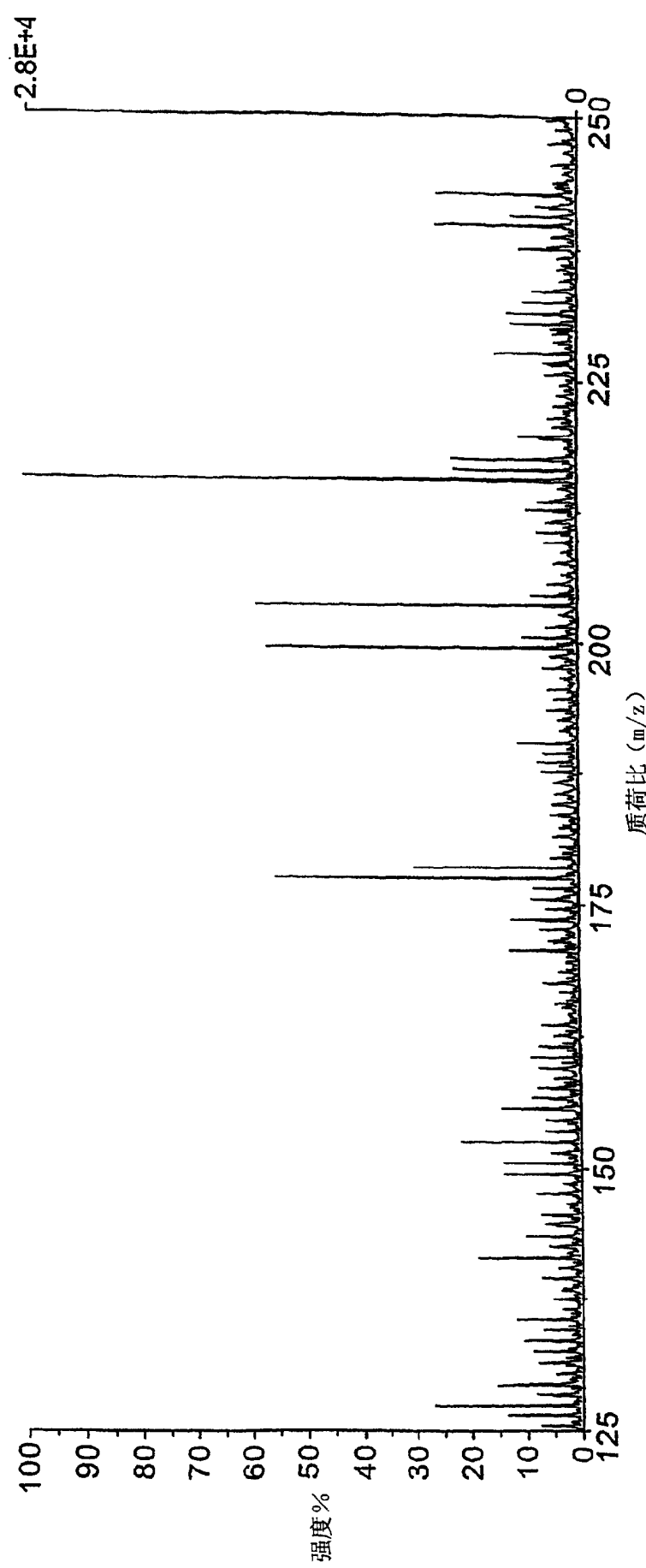


图 12

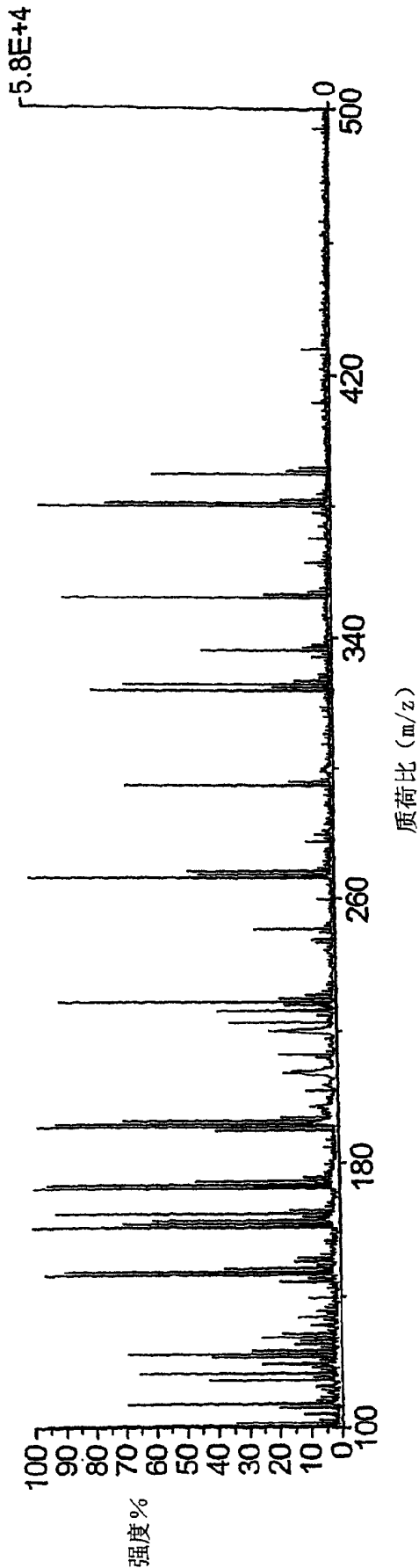


图 13

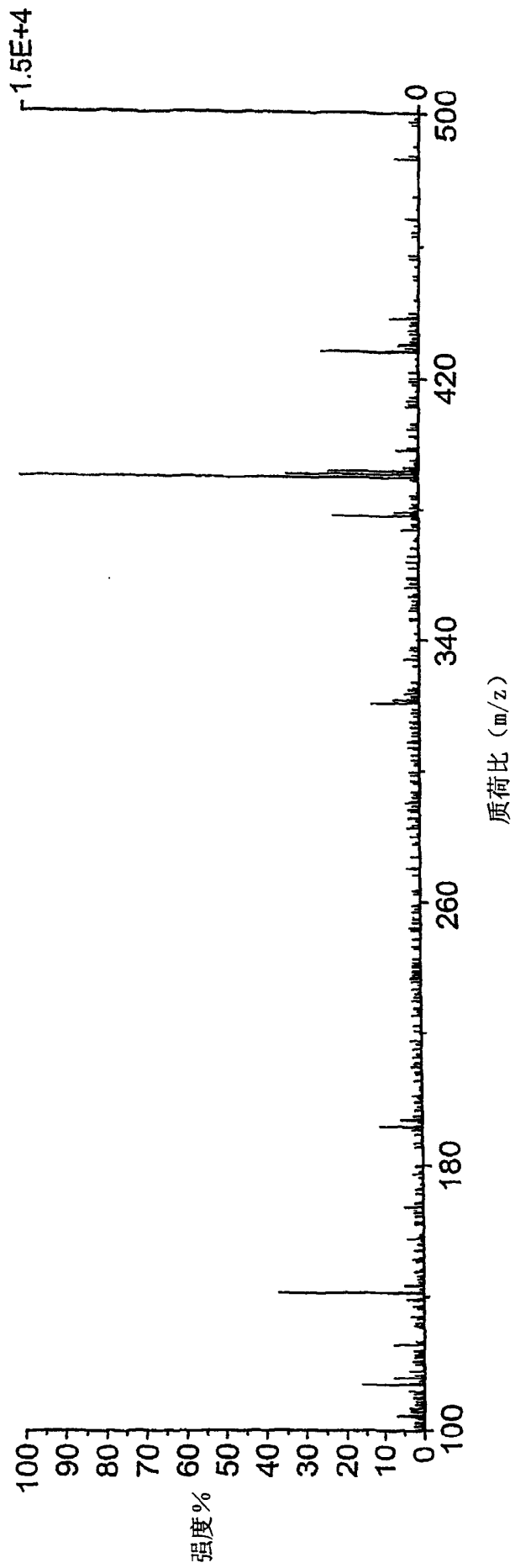


图 14

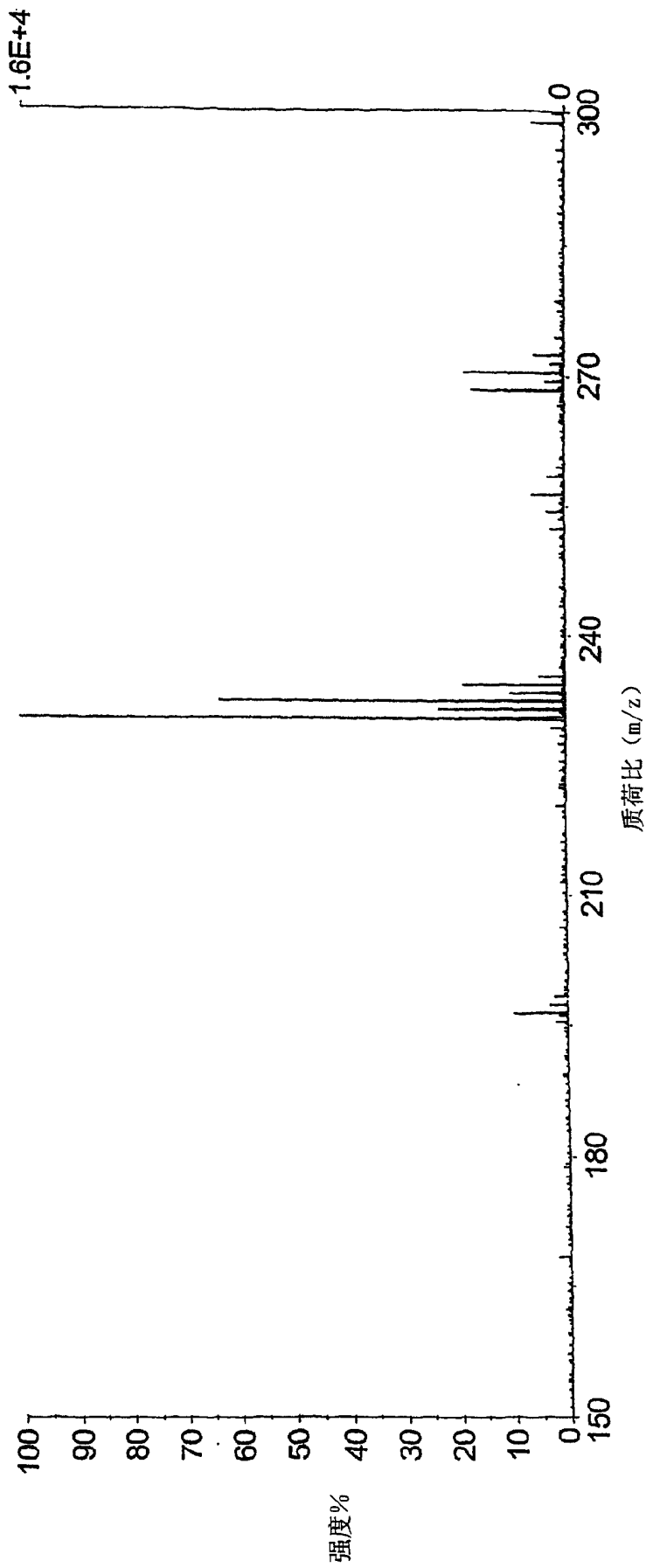


图 15

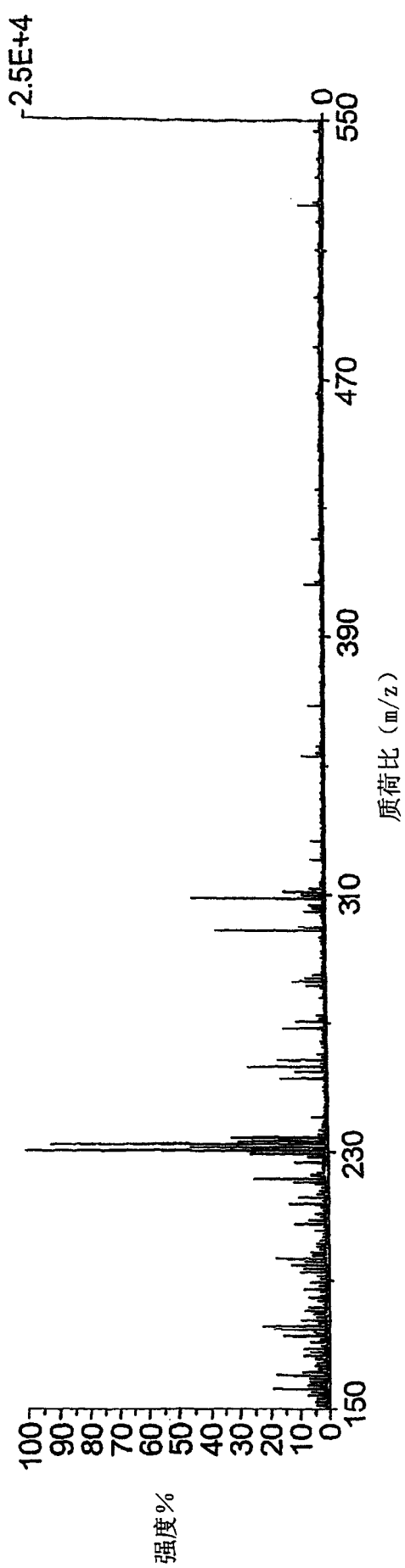


图 16

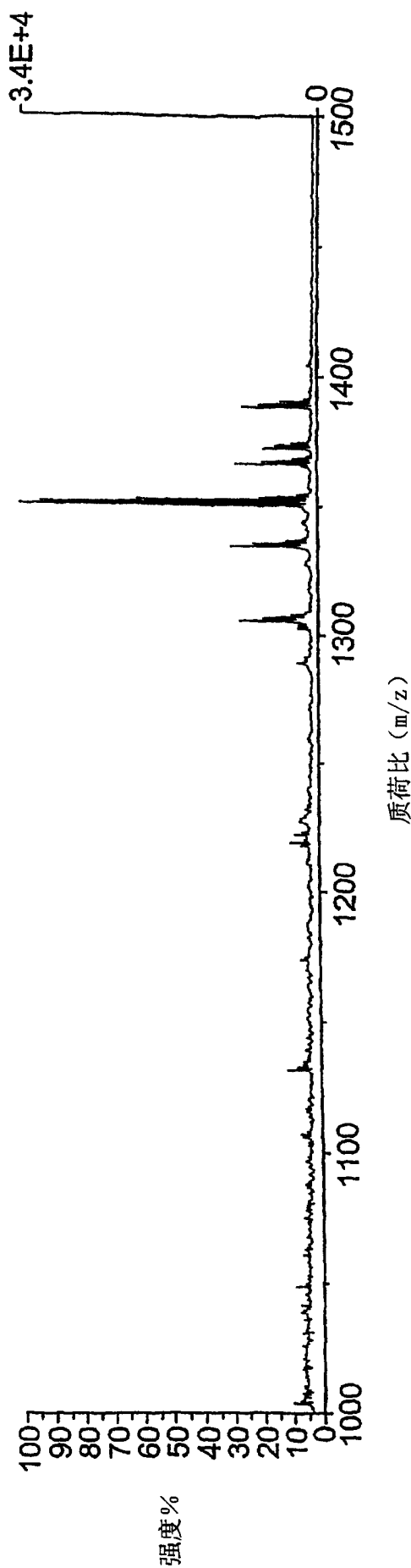


图 17

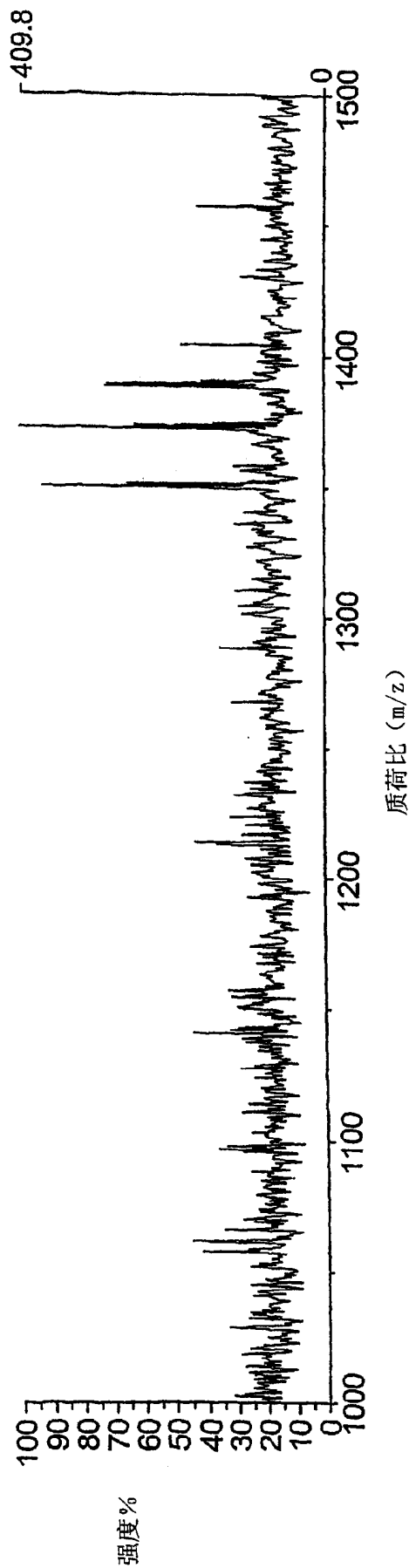


图 18

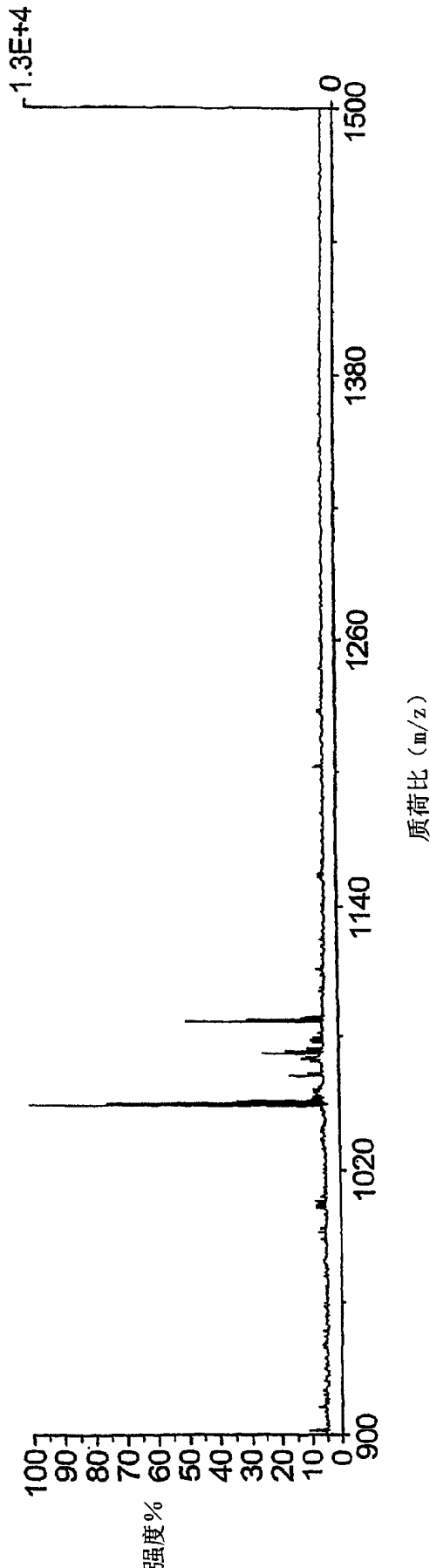


图 19



图 20

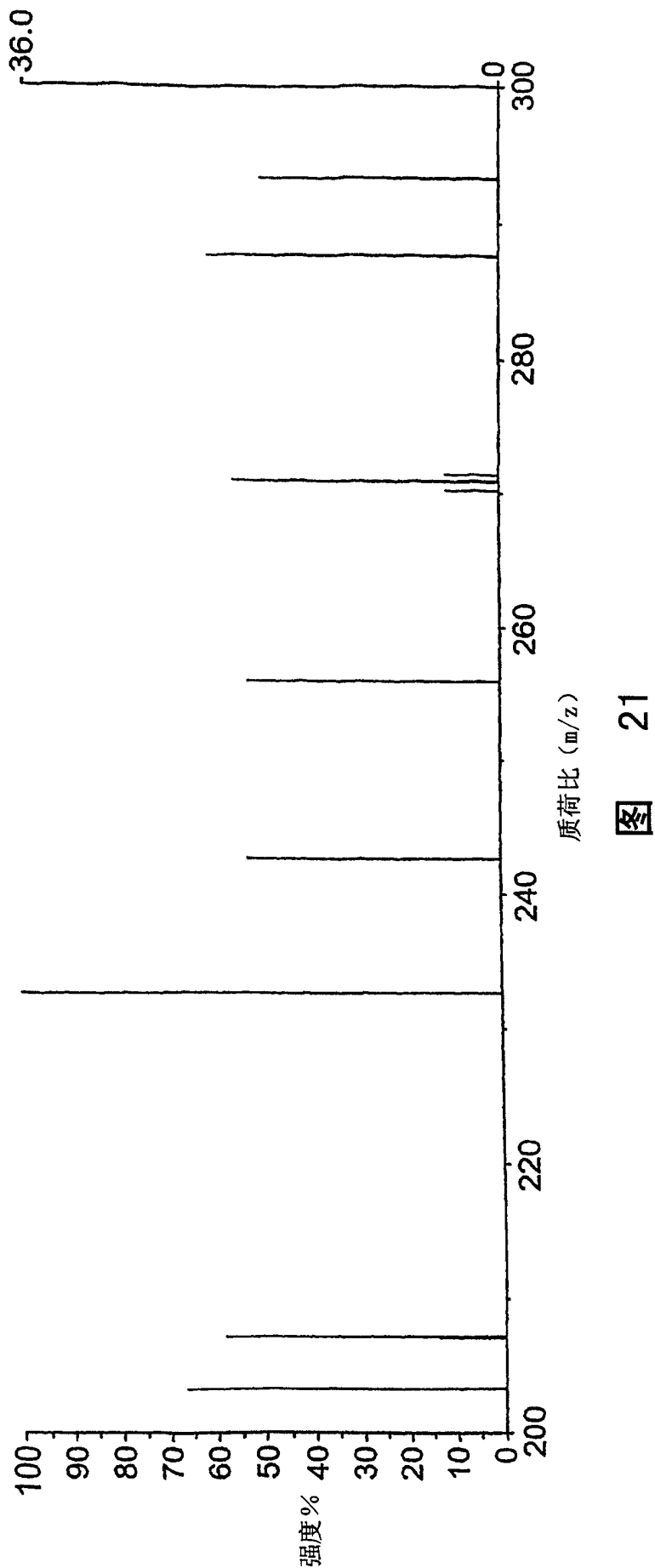


图 21

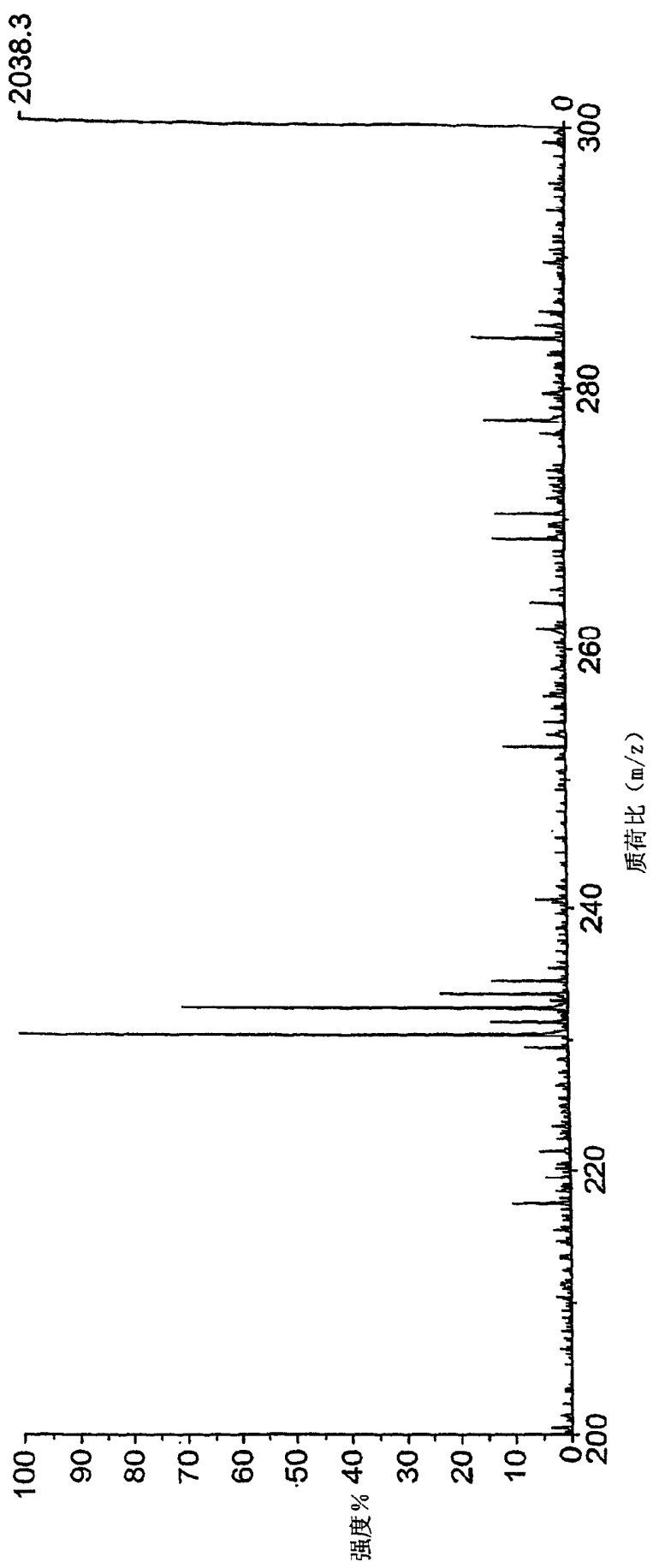


图 22

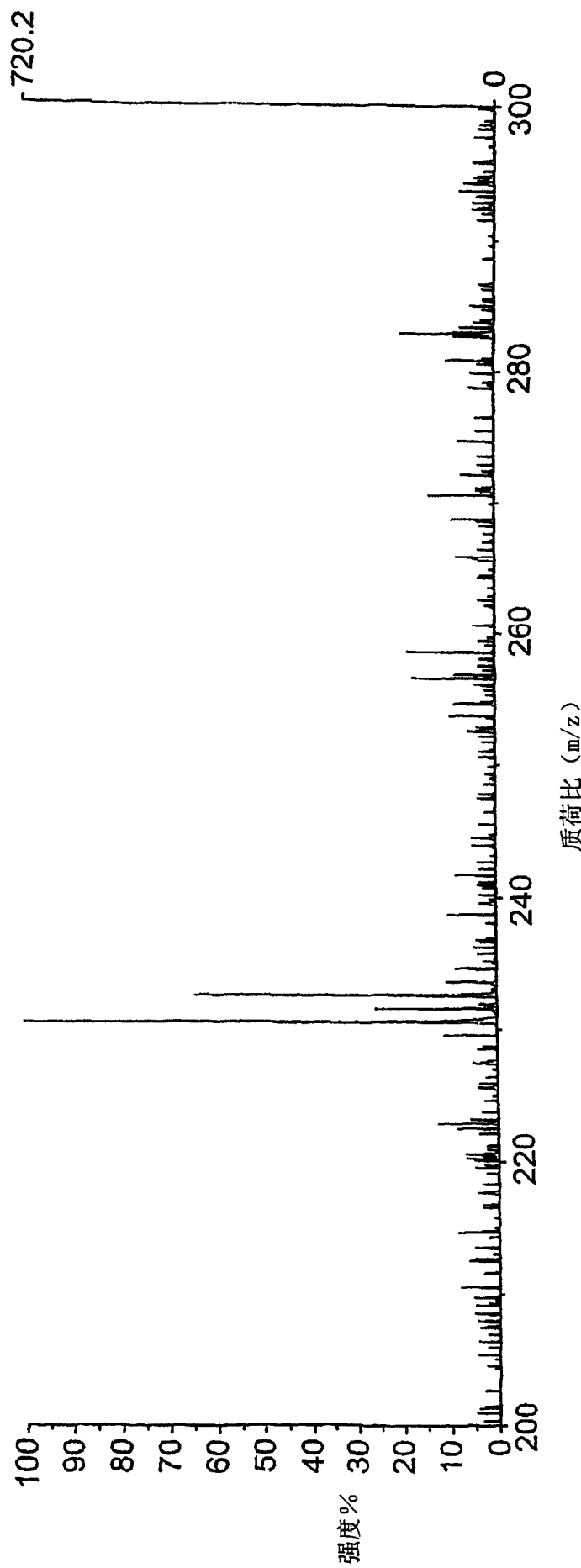


图 23

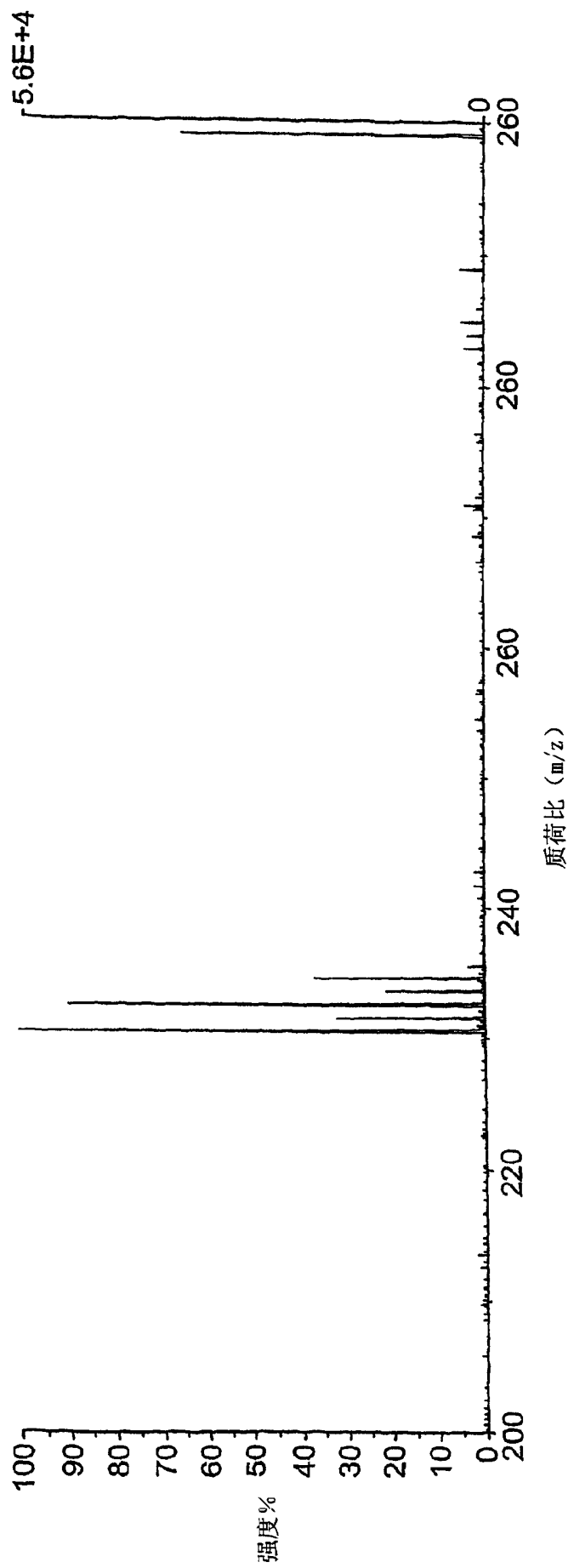


图 24

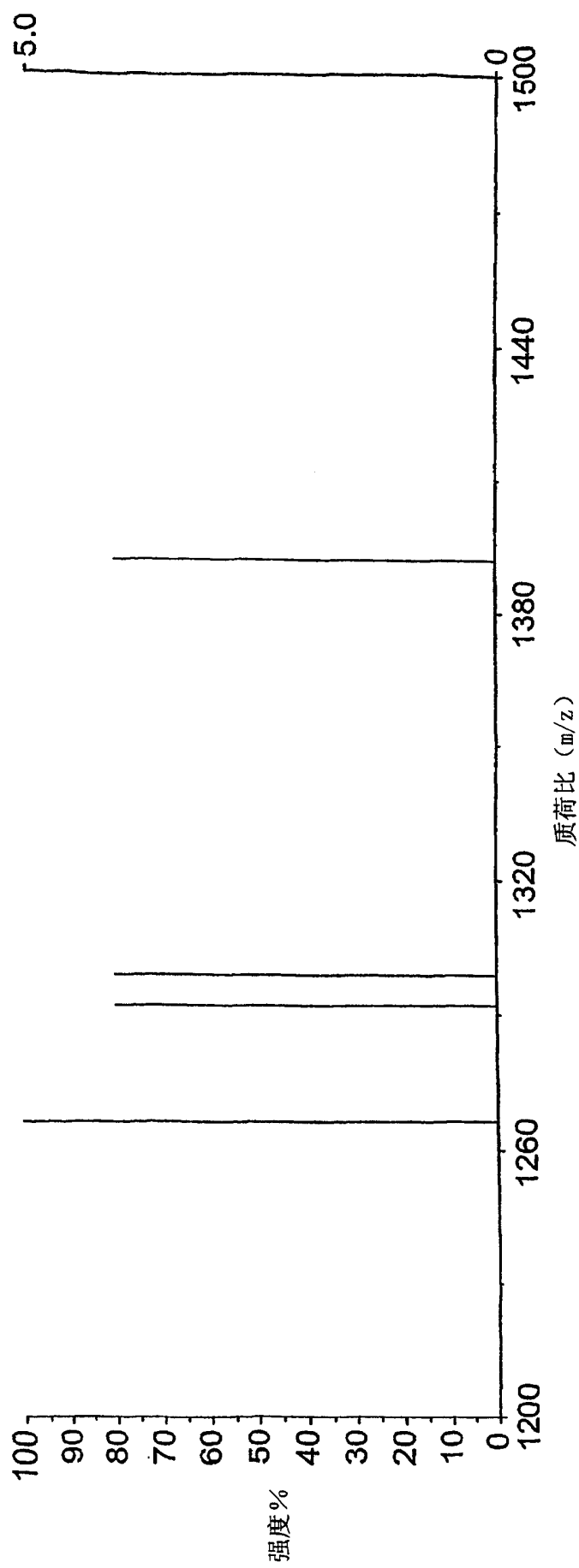


图 25

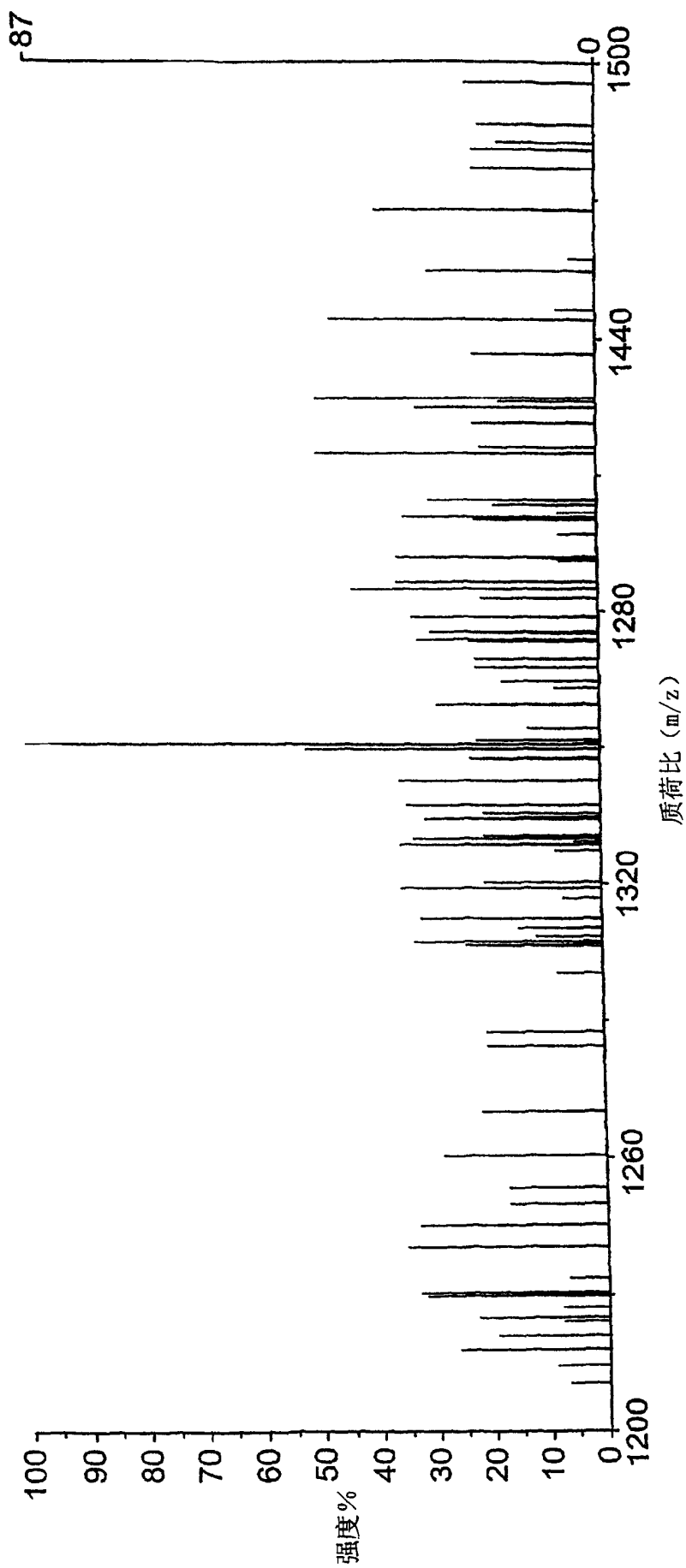


图 26

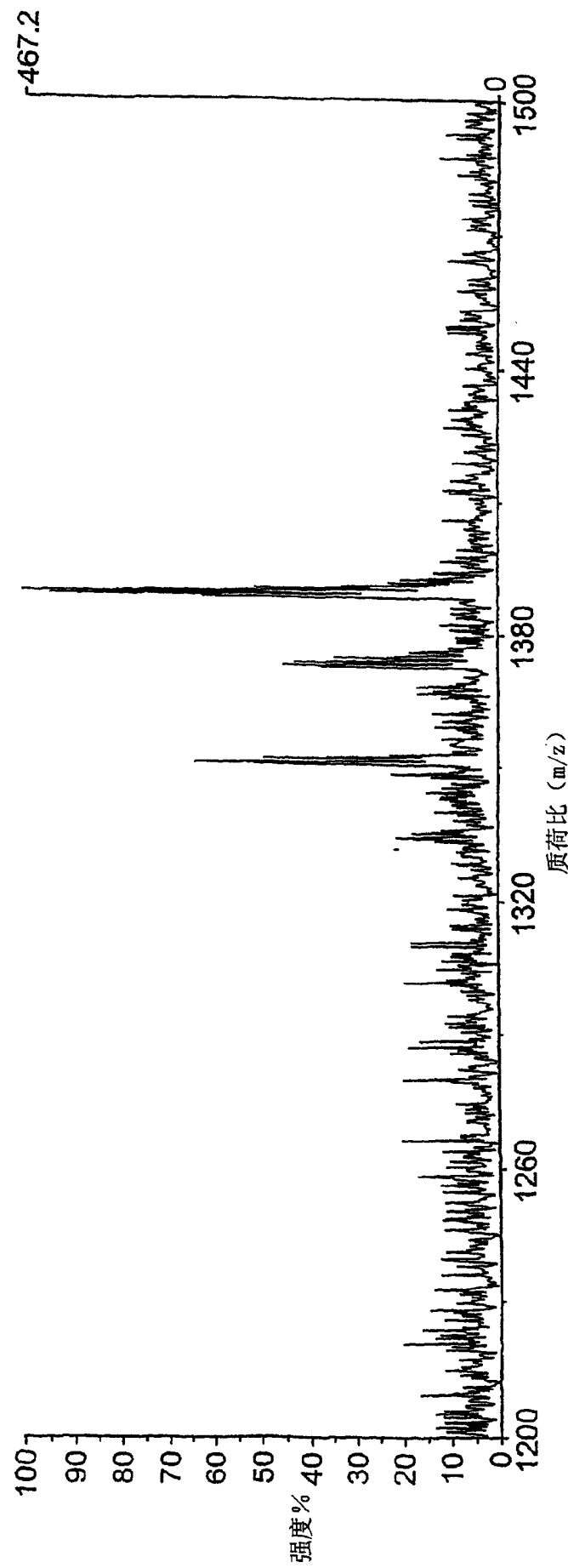


图 27

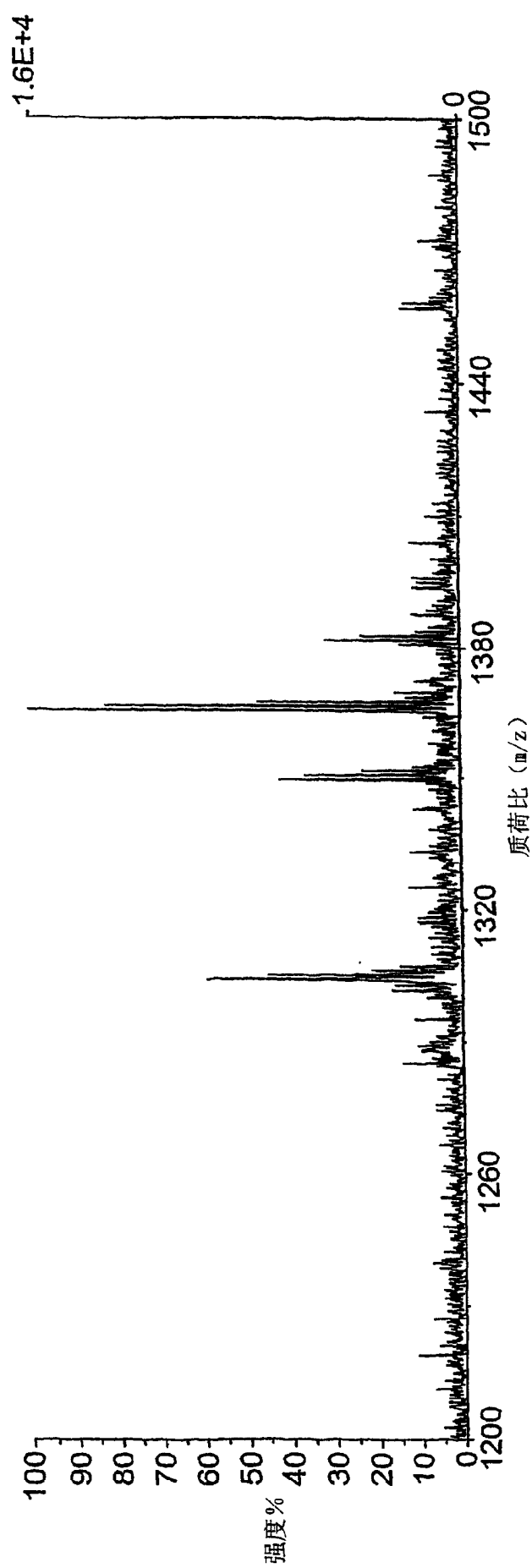


图 28

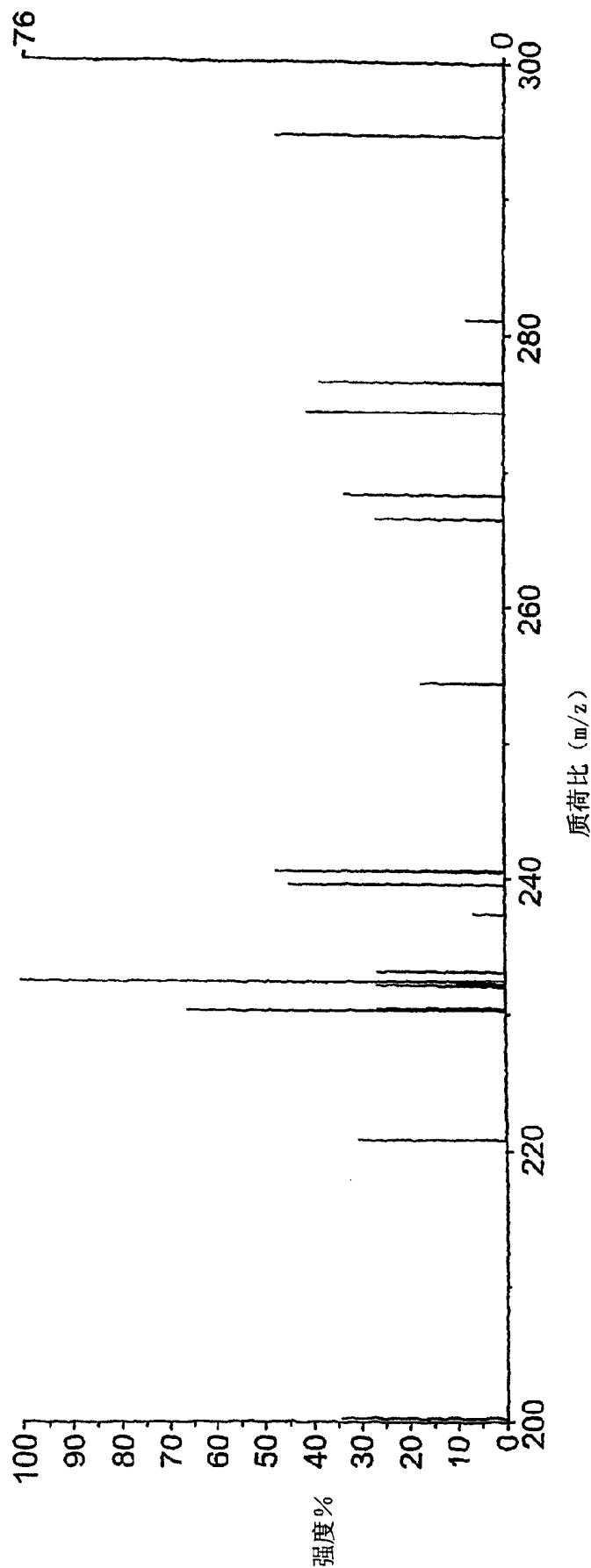


图 29

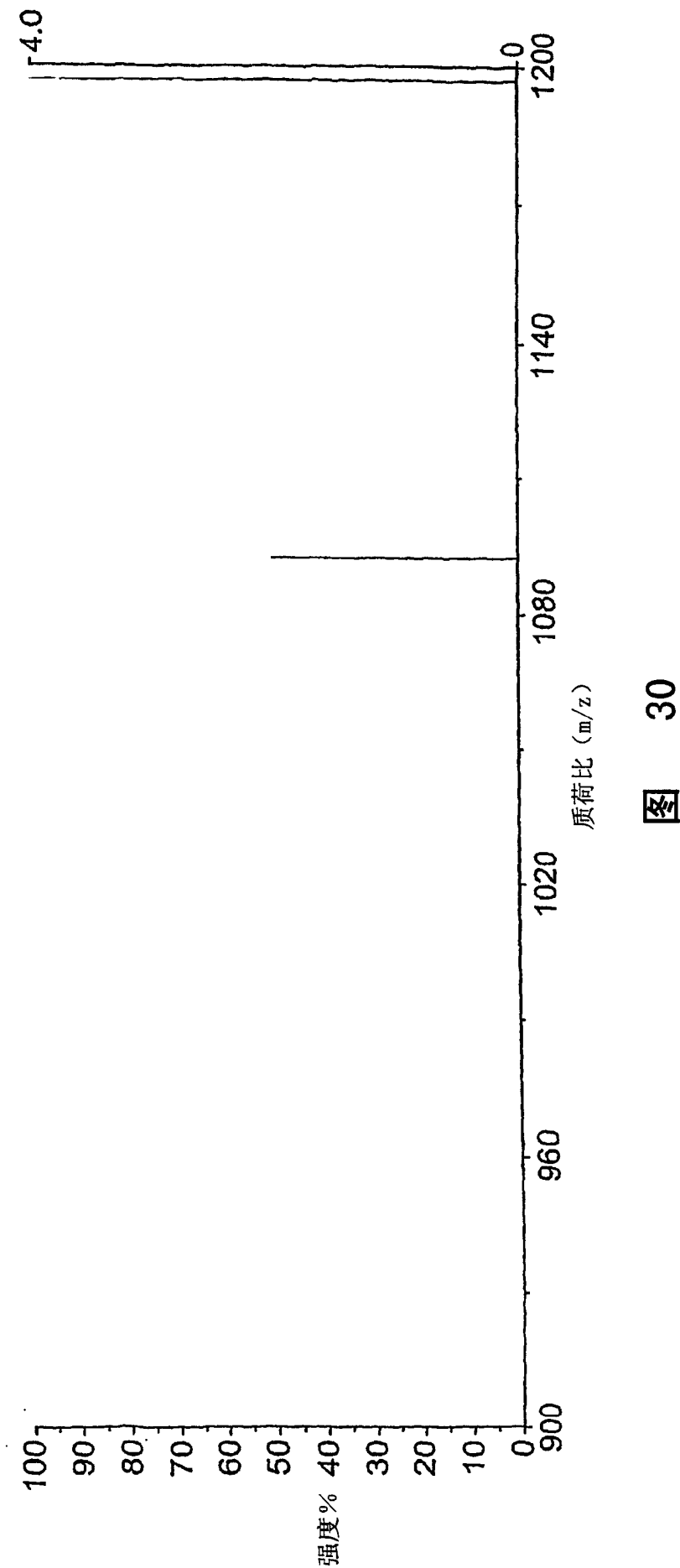


图 30

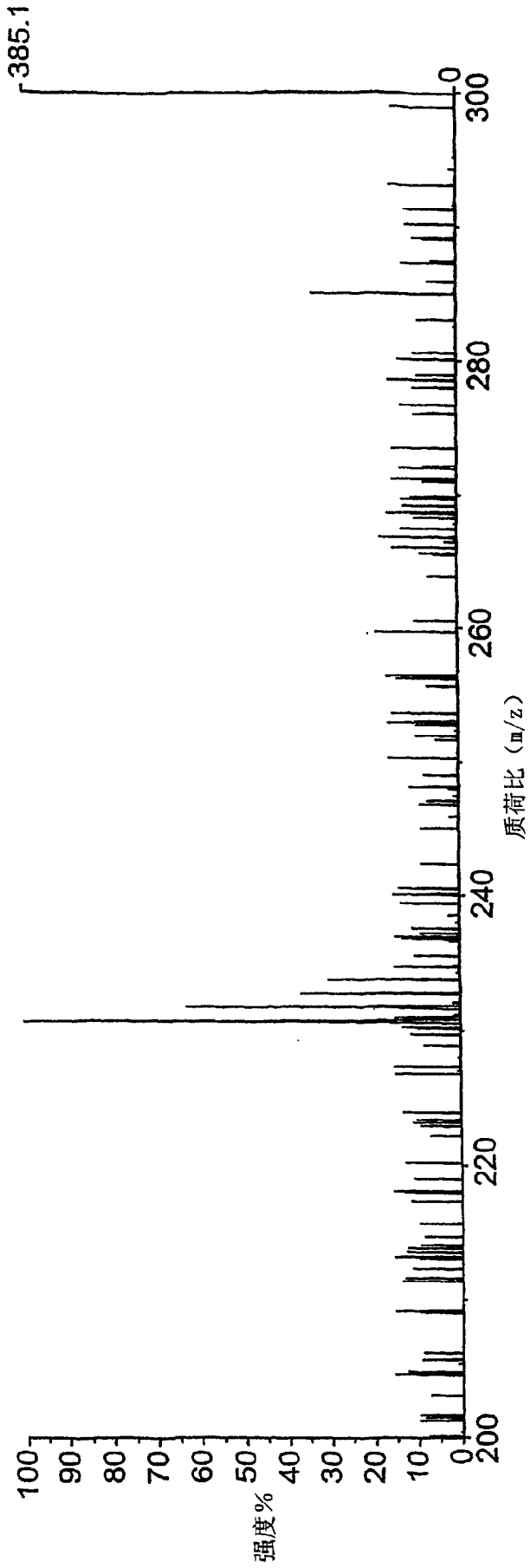


图 31

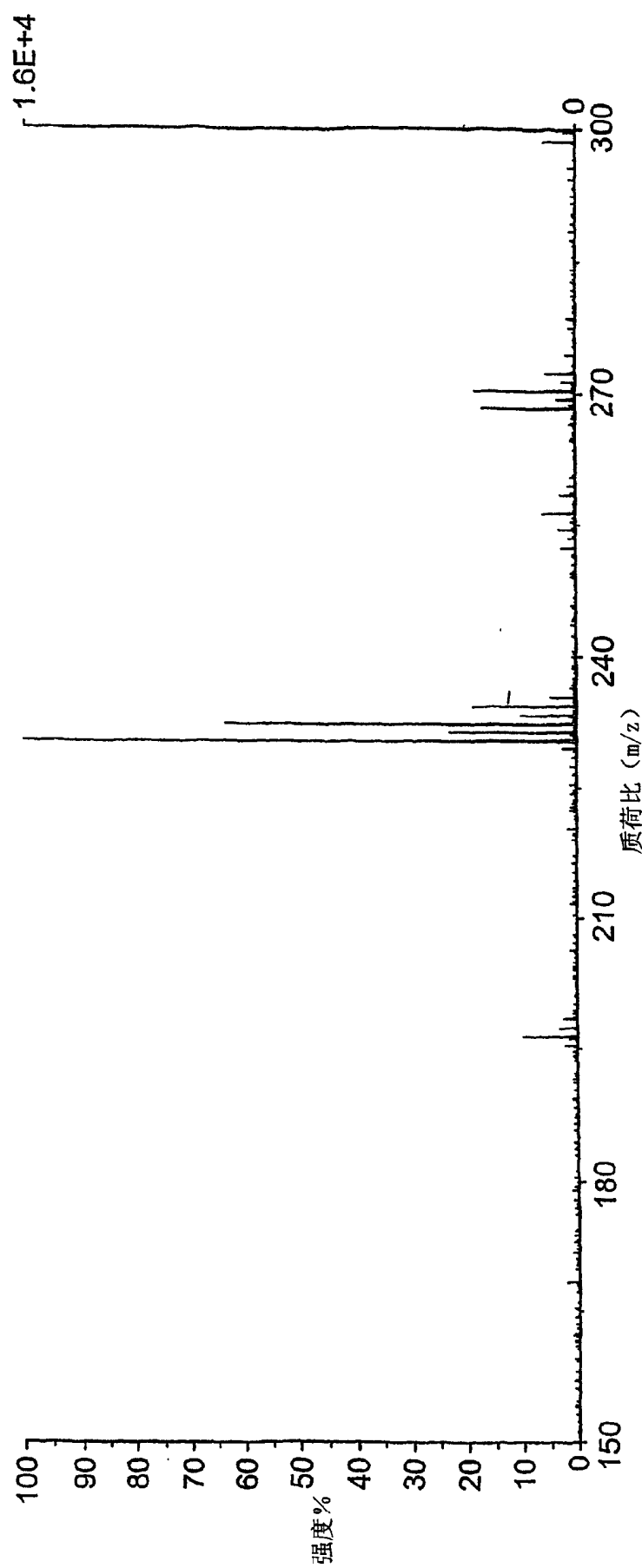


图 32

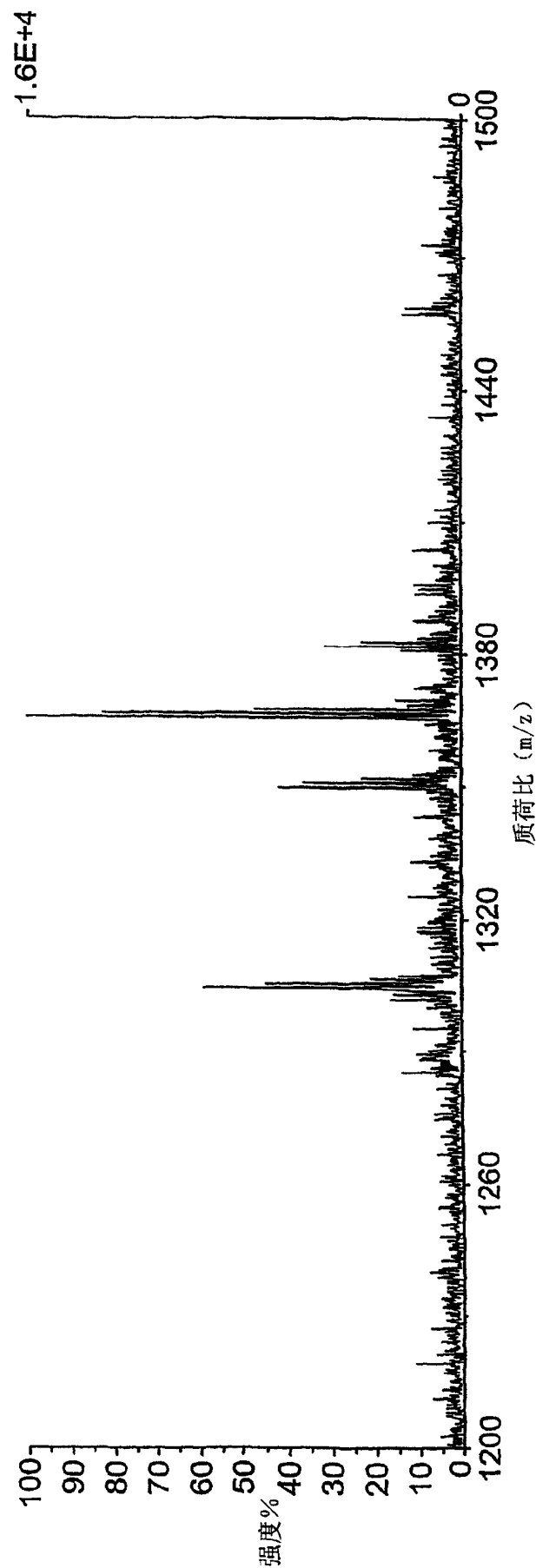


图 33

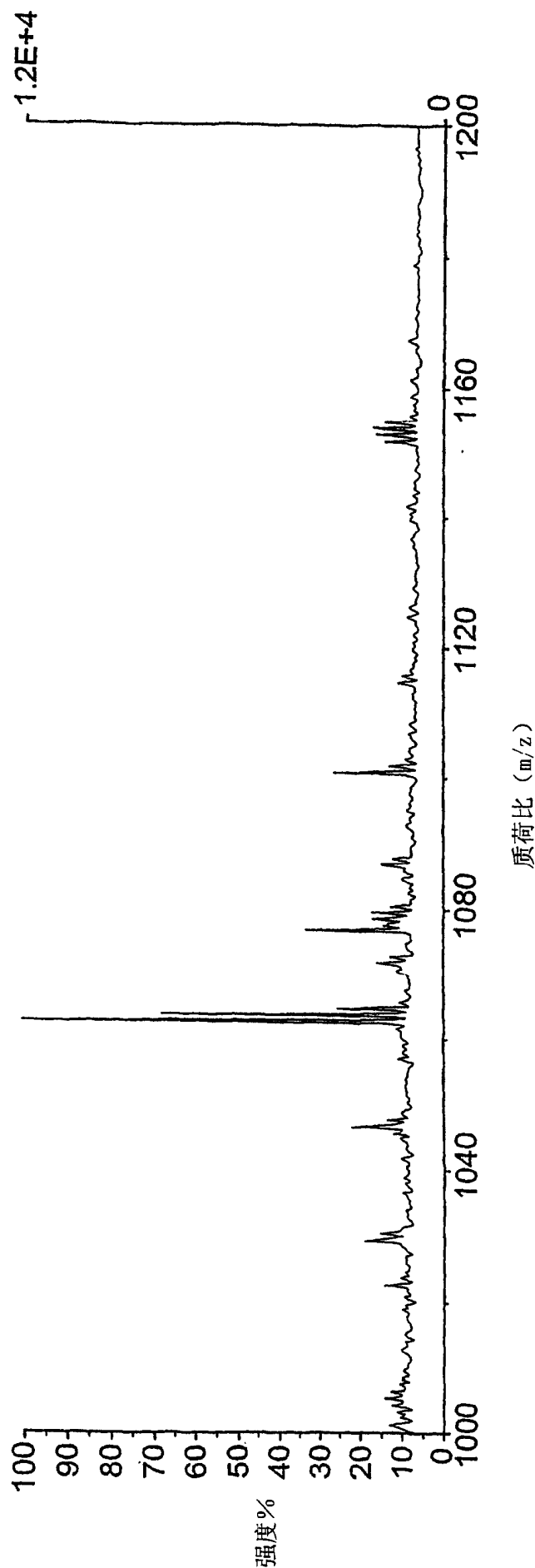


图 34

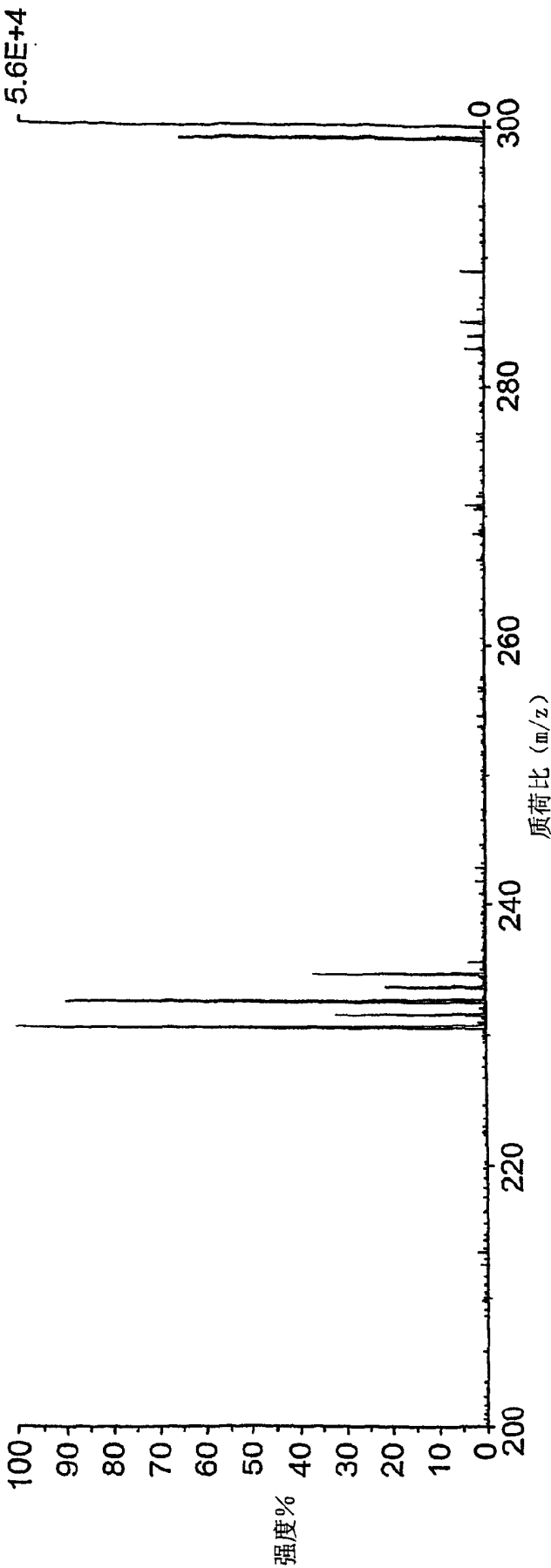


图 35

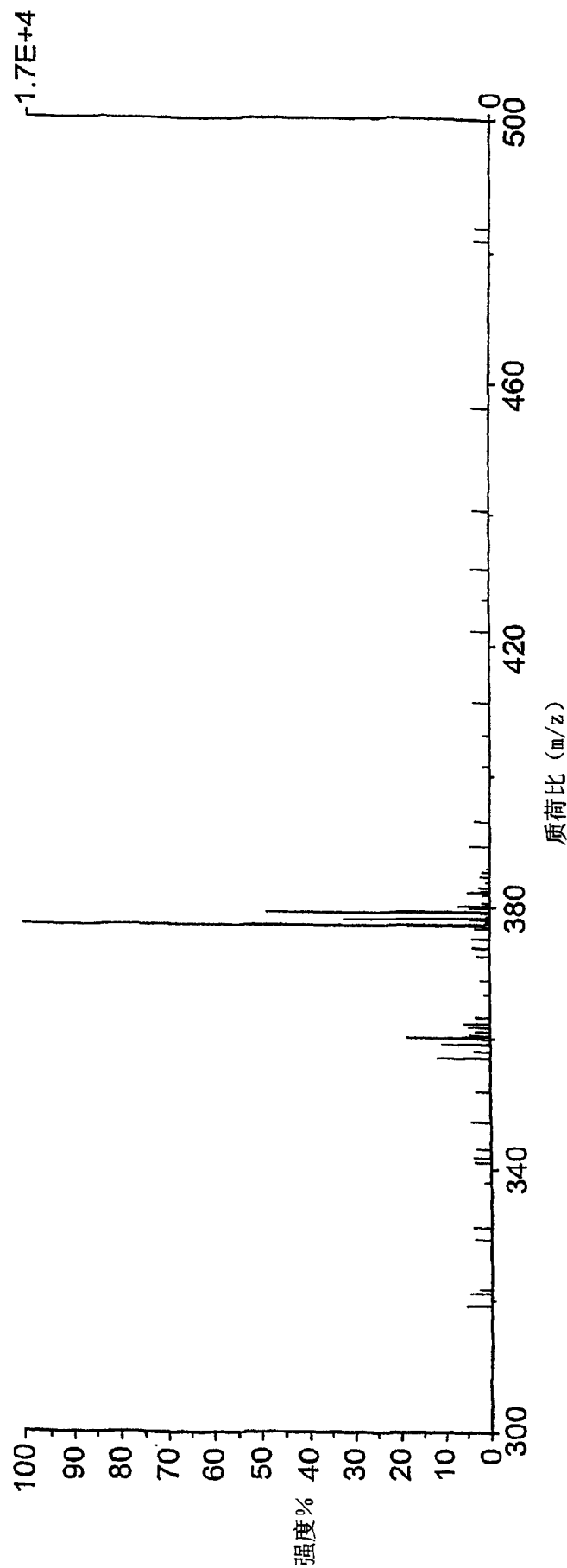


图 36

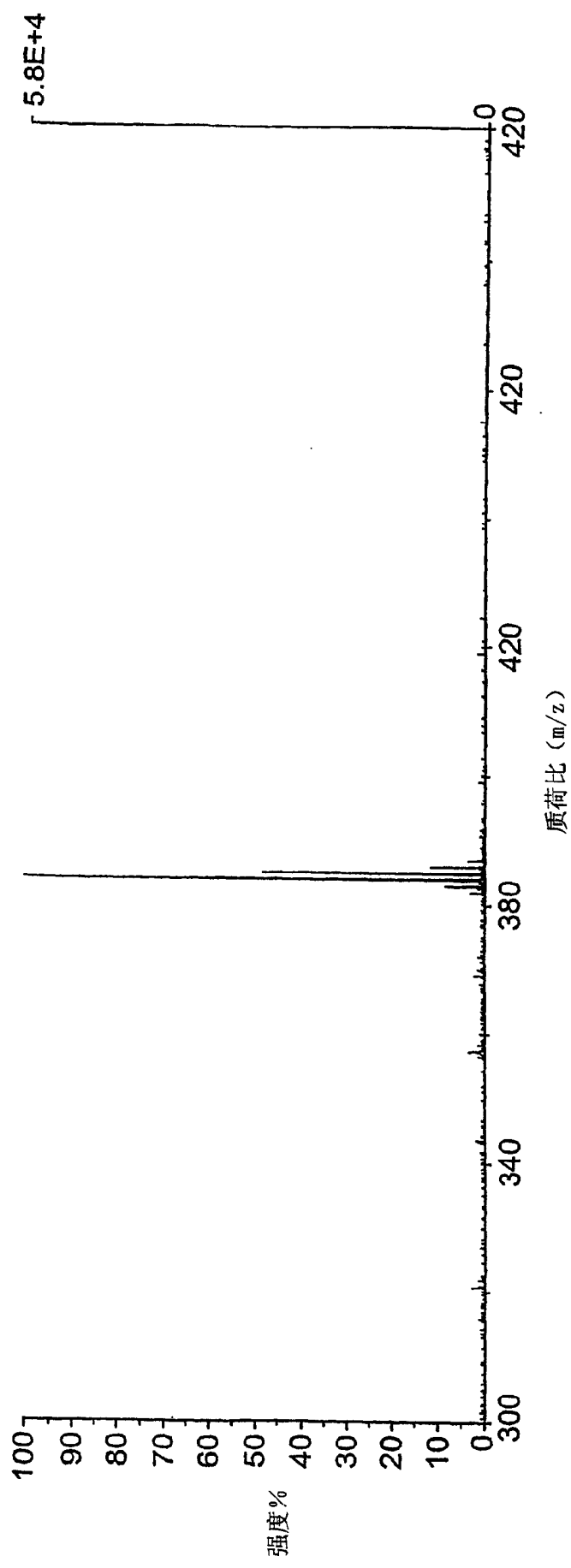


图 37

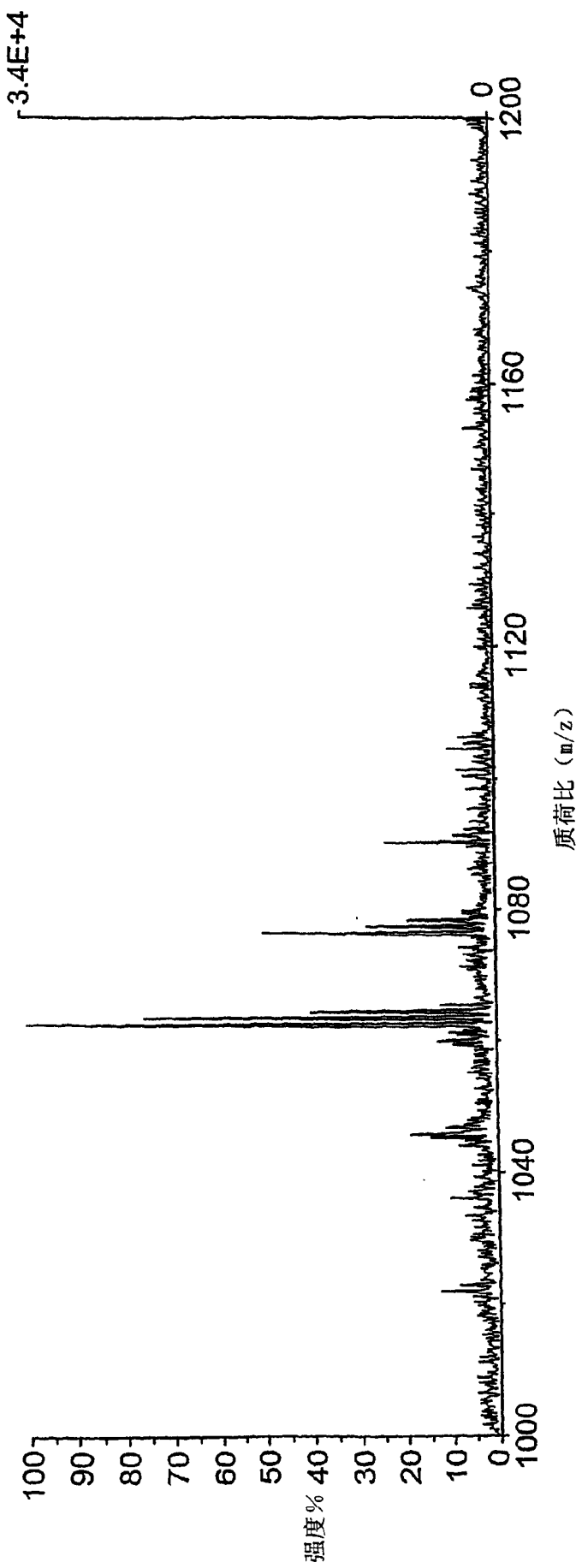


图 38

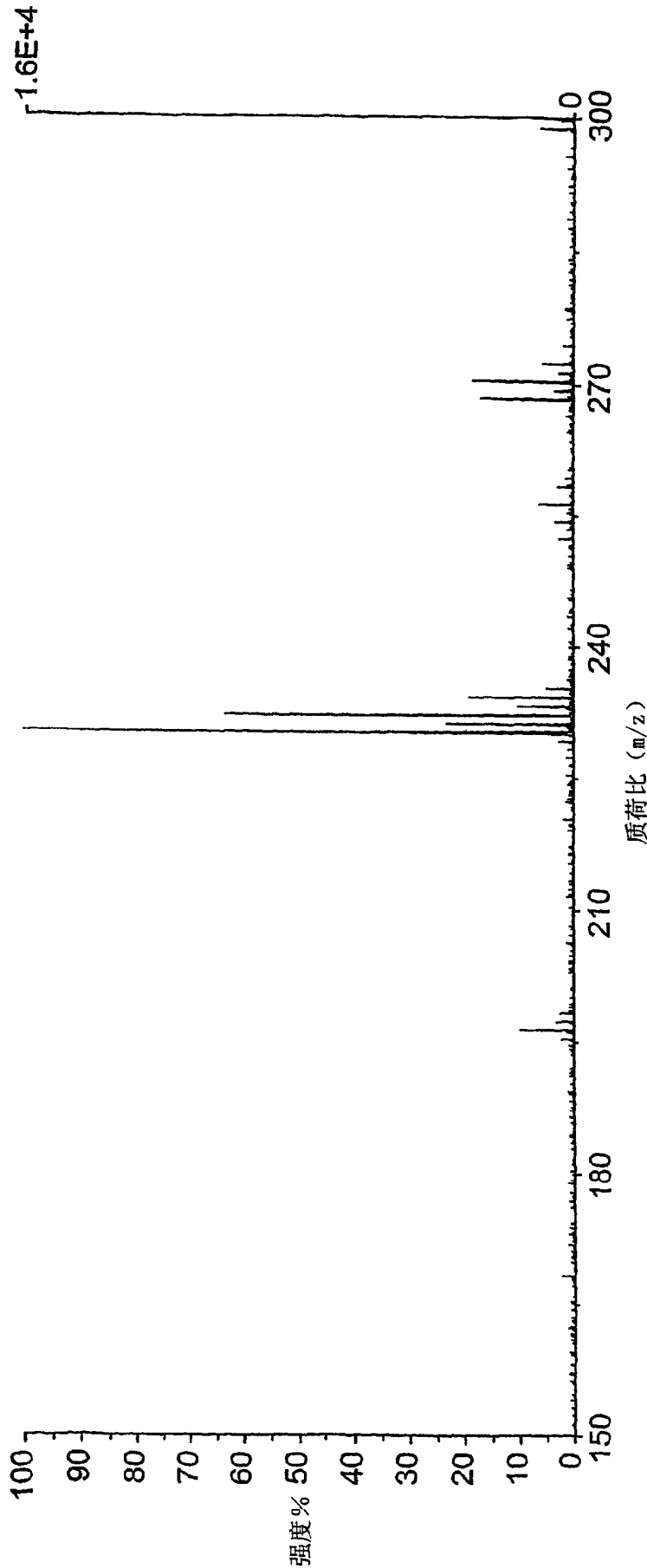


图 39

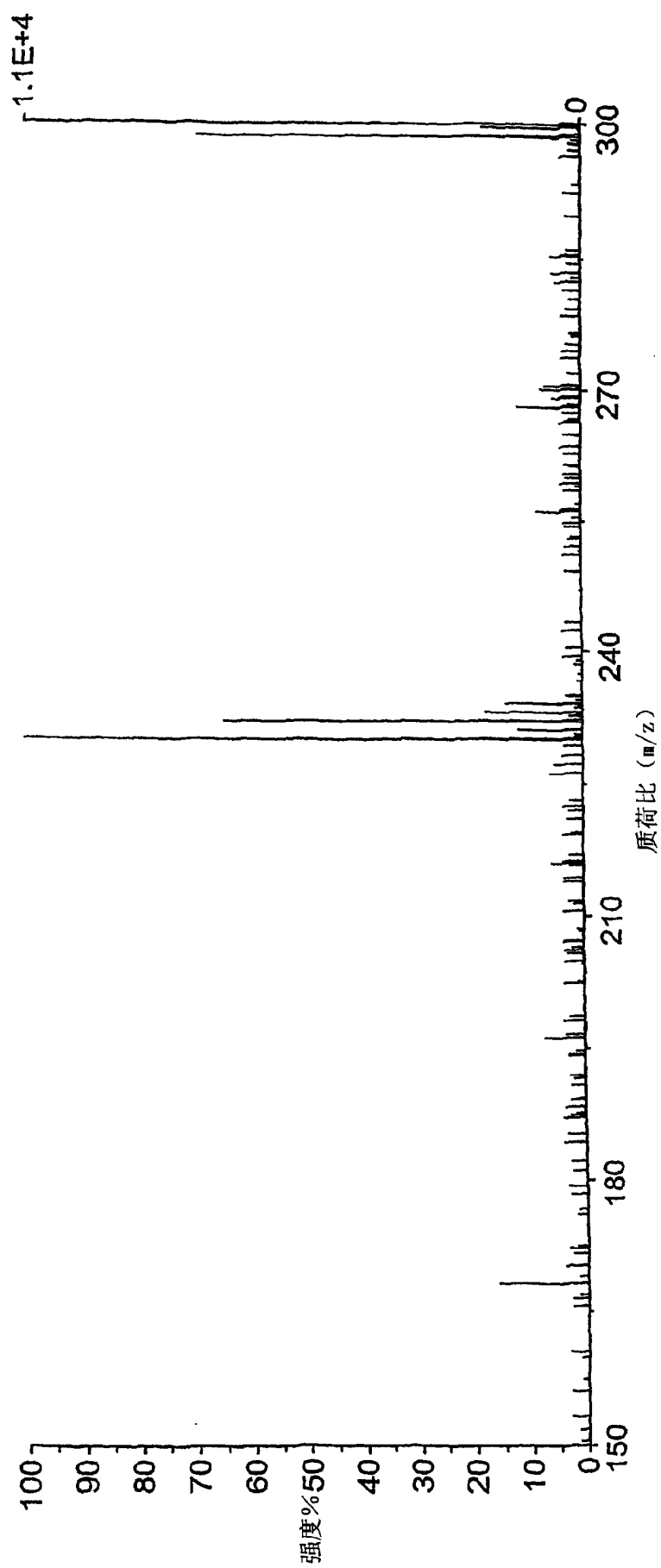


图 40

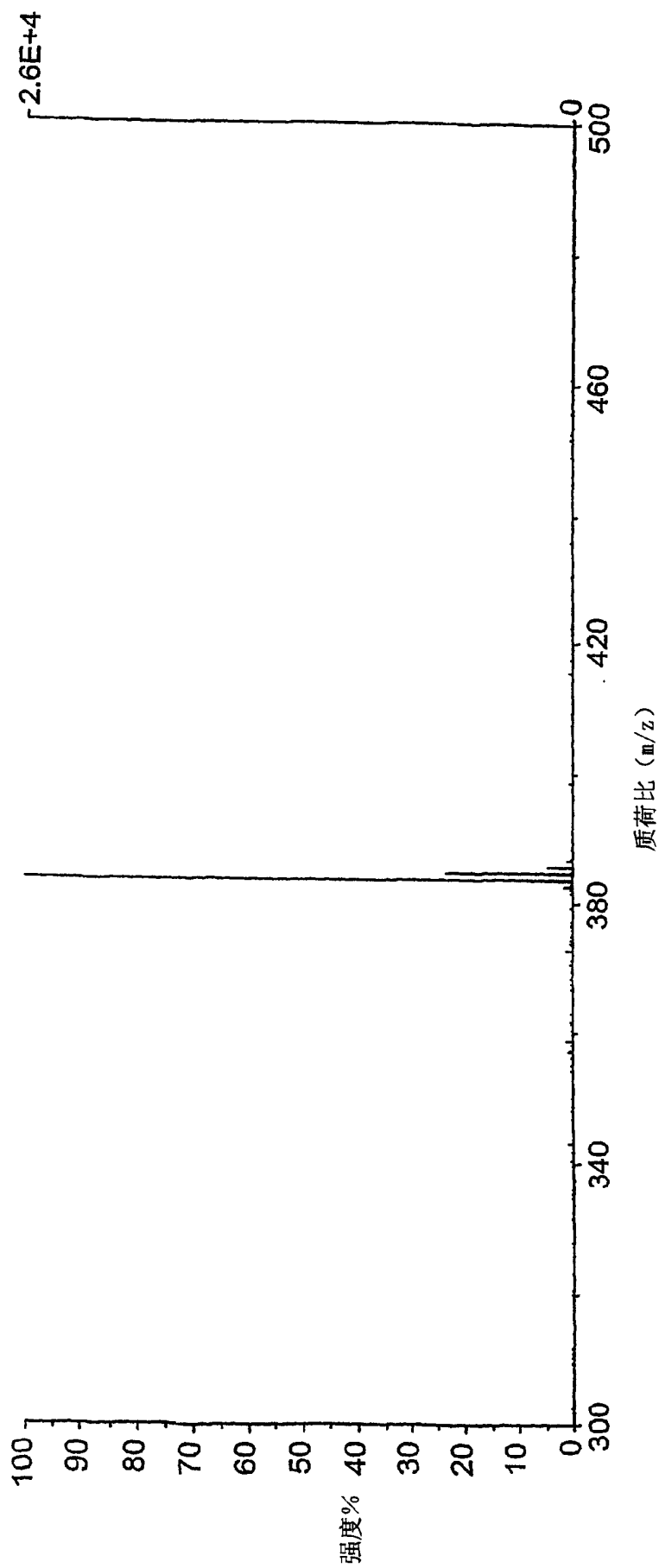


图 41

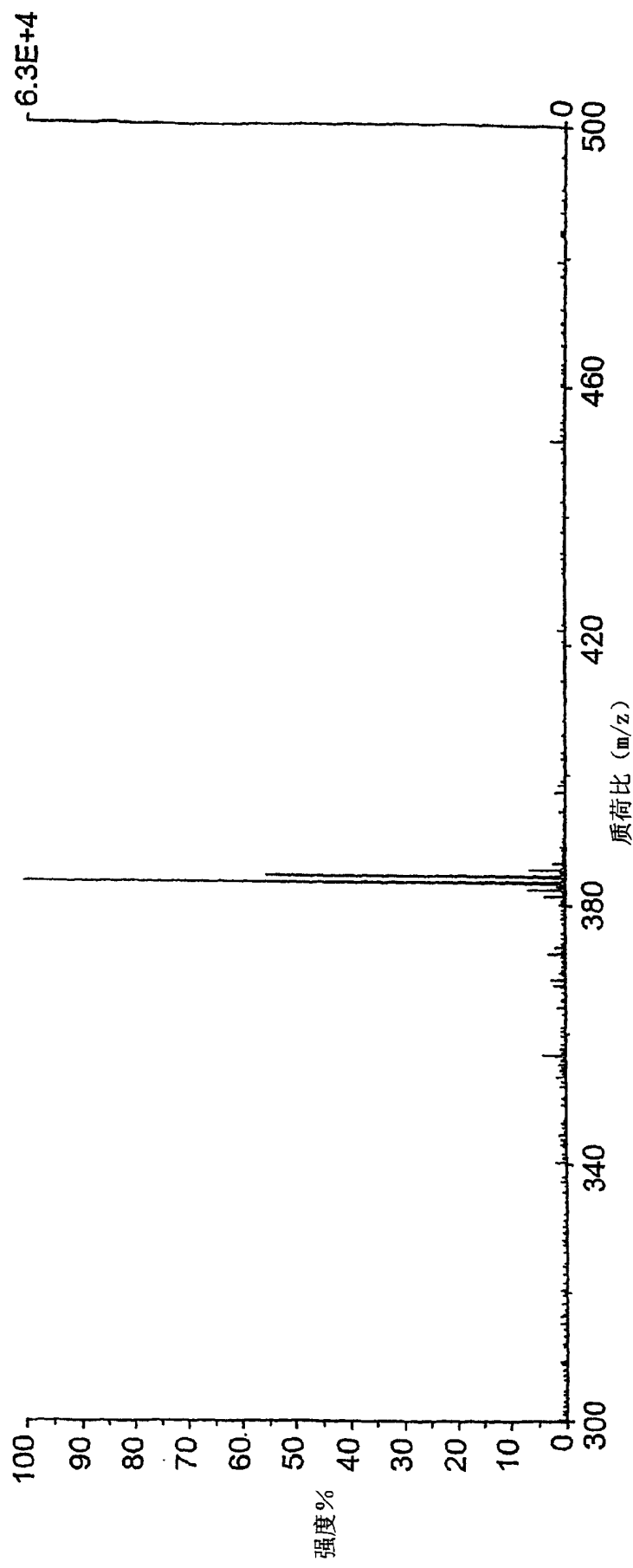


图 42

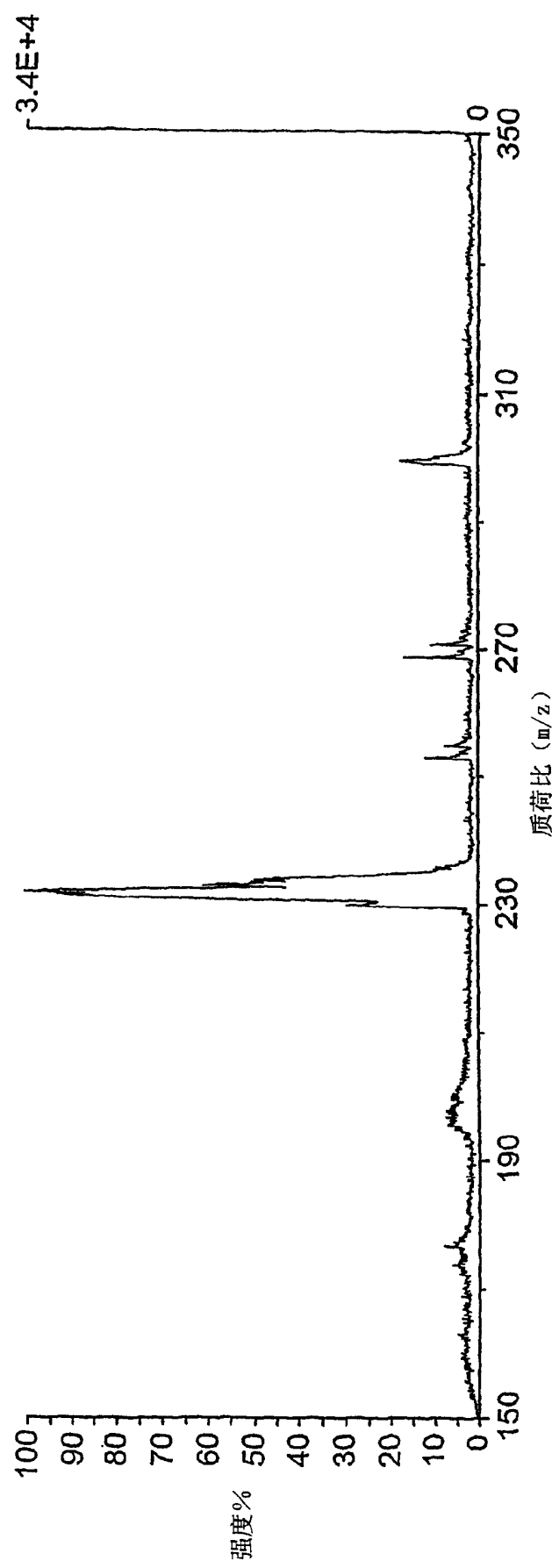


图 43

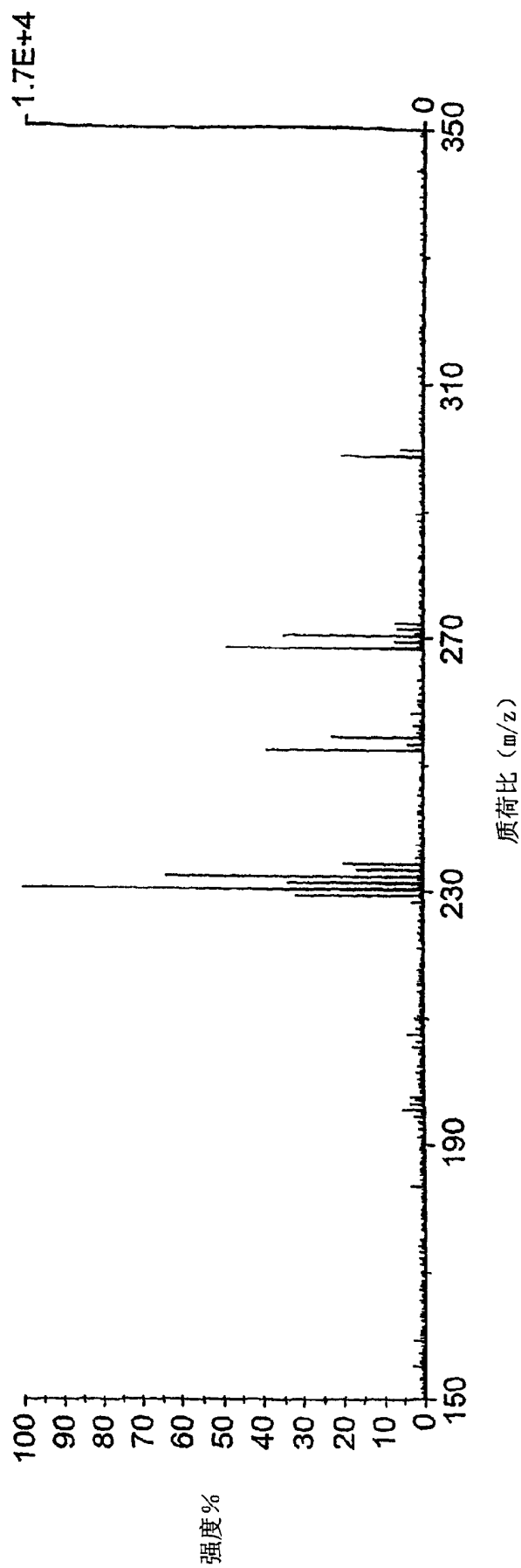


图 44

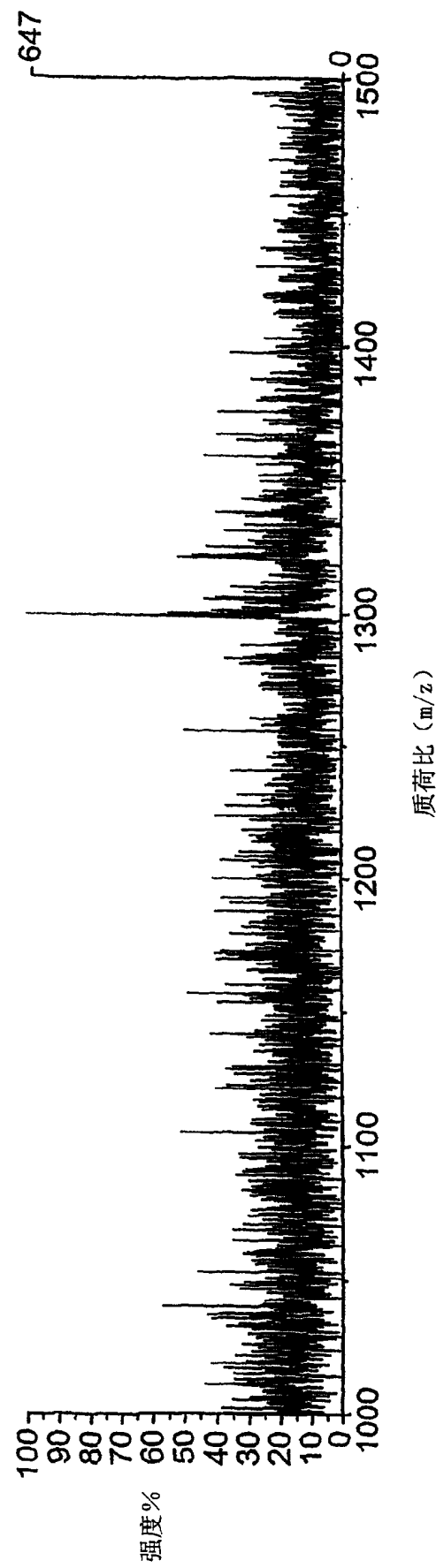


图 45

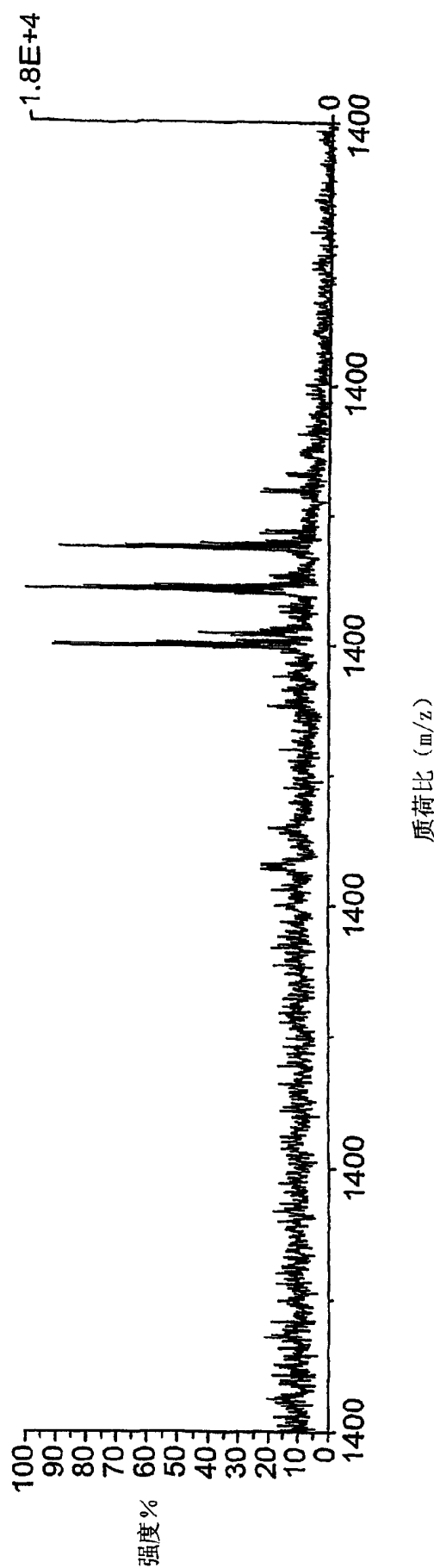
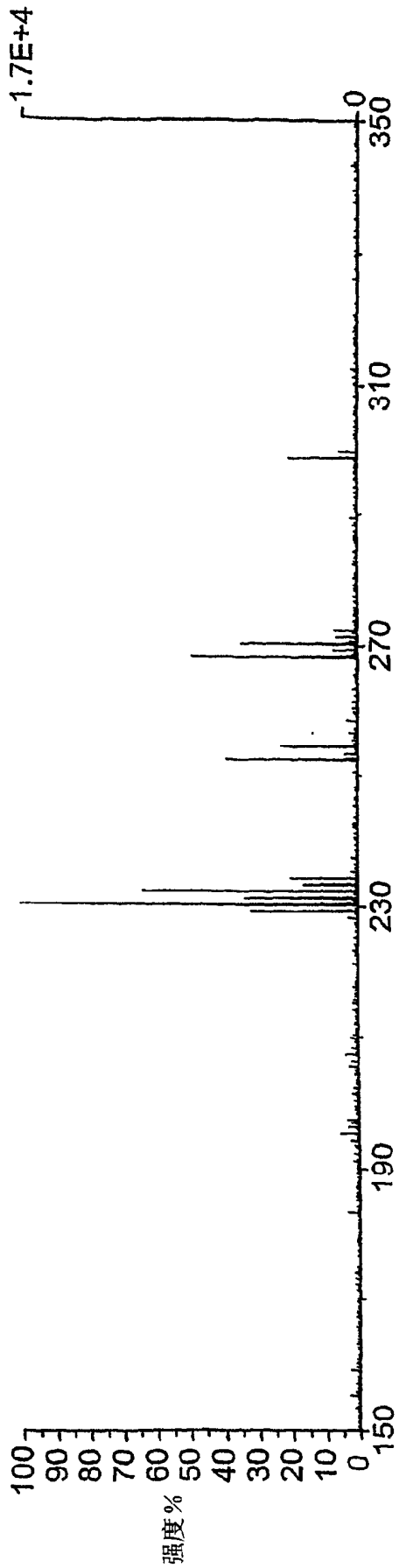


图 46



质荷比 (m/z)

图 47

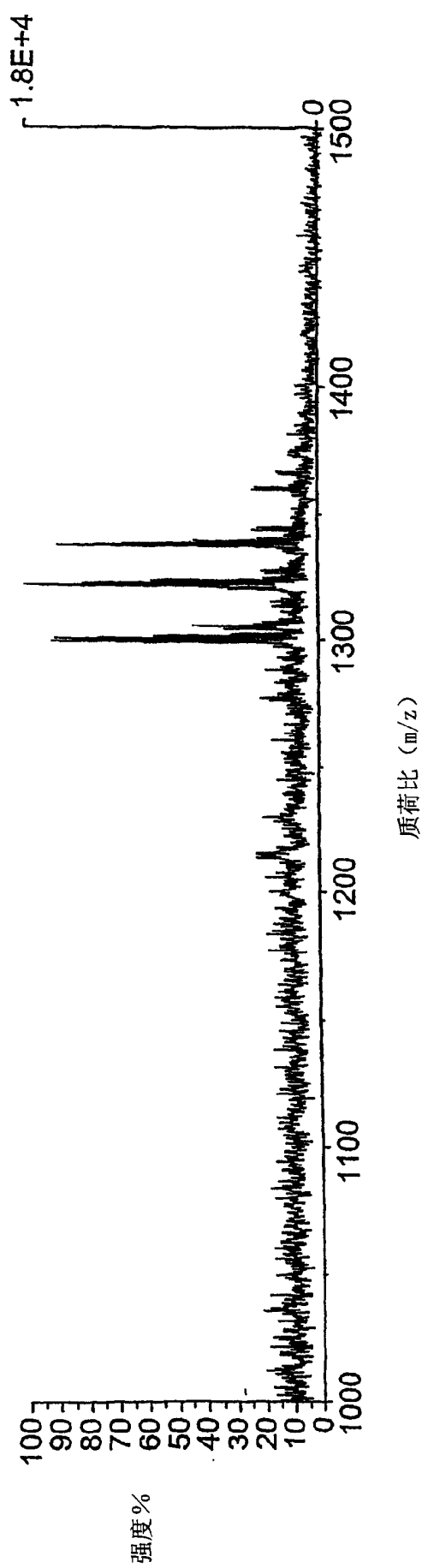


图 48

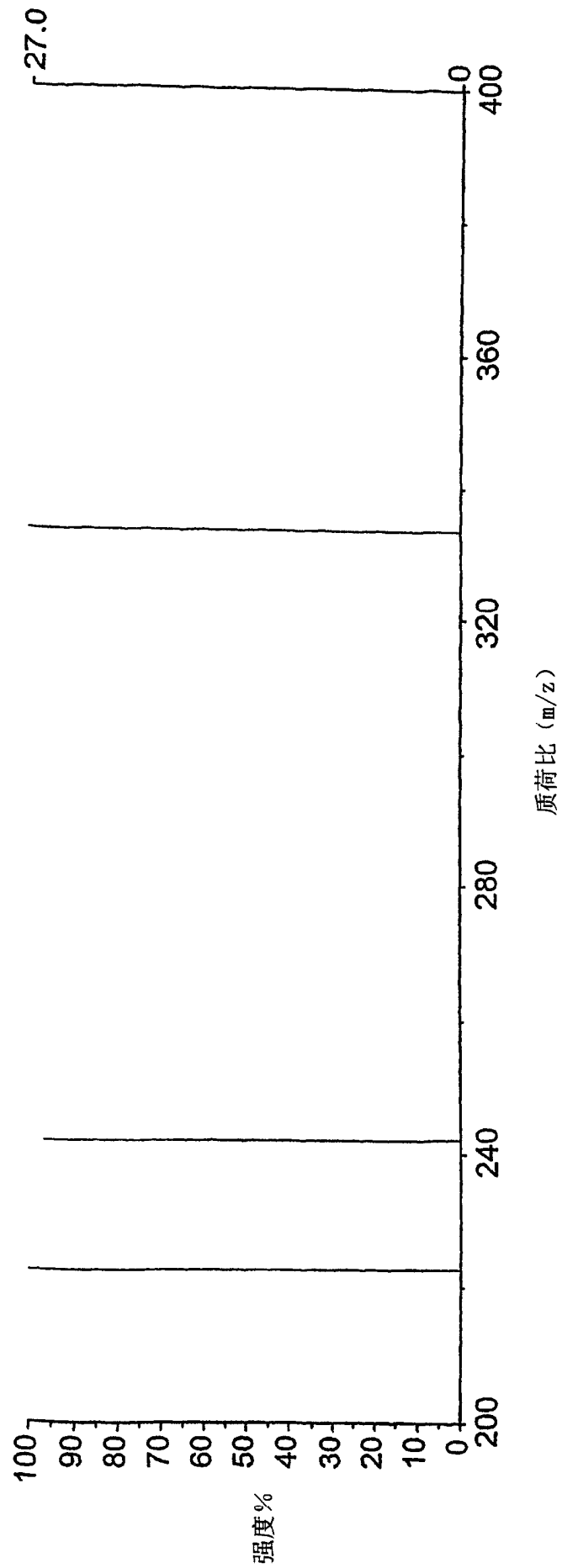
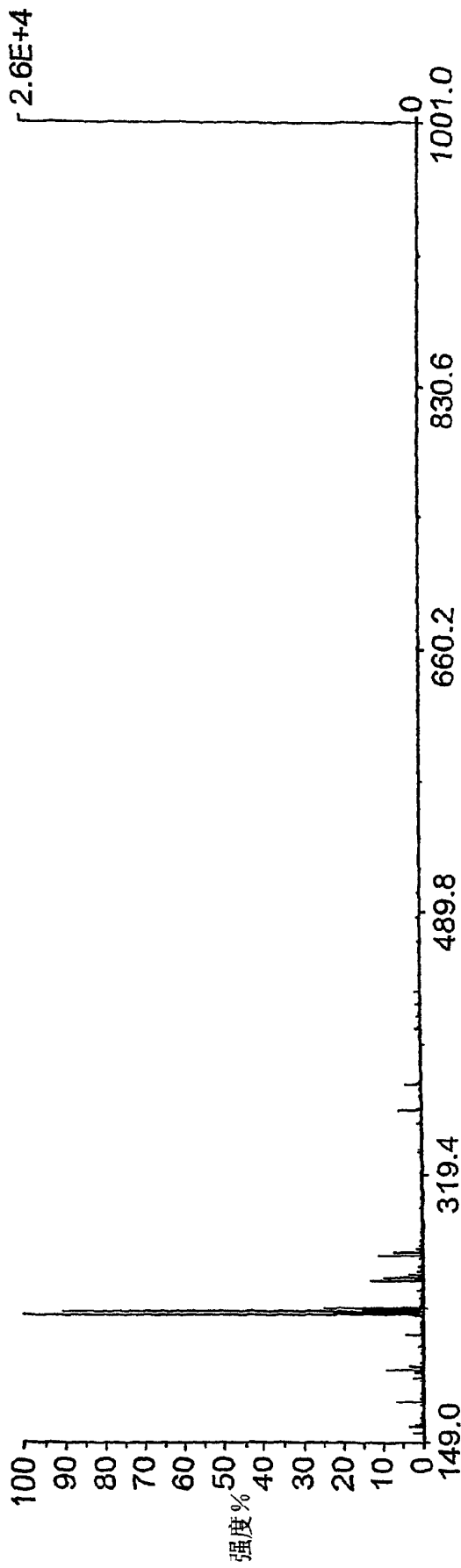


图 49



图 50



质荷比 (m/z)

图 51

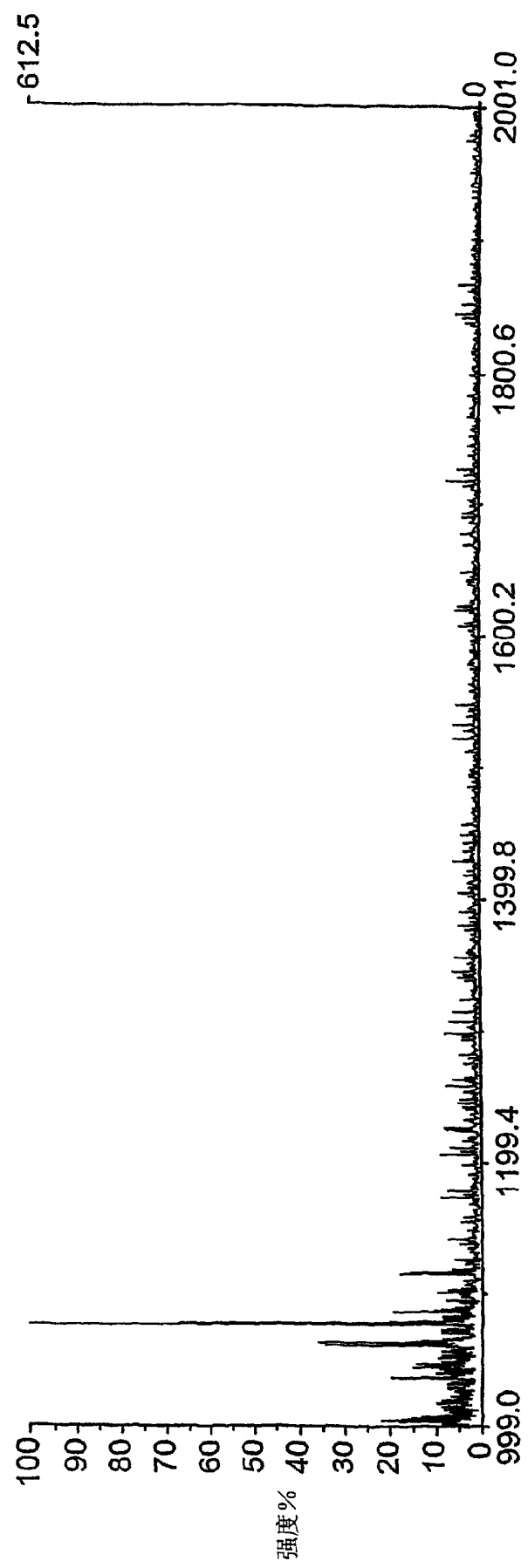


图 52

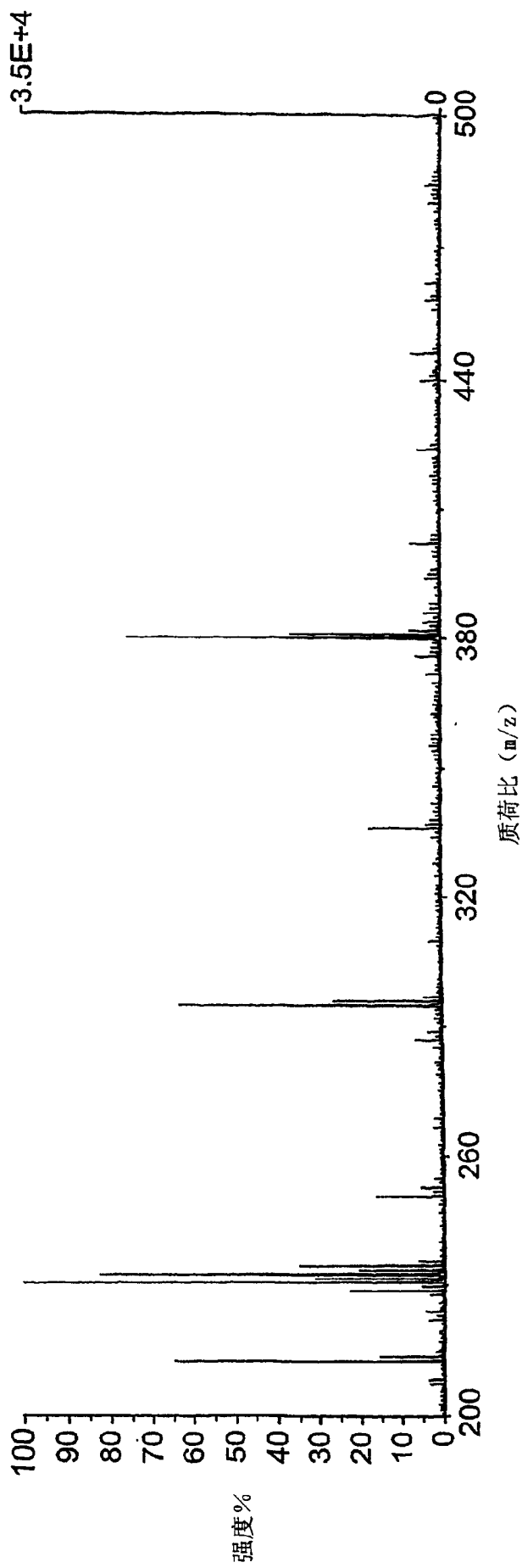
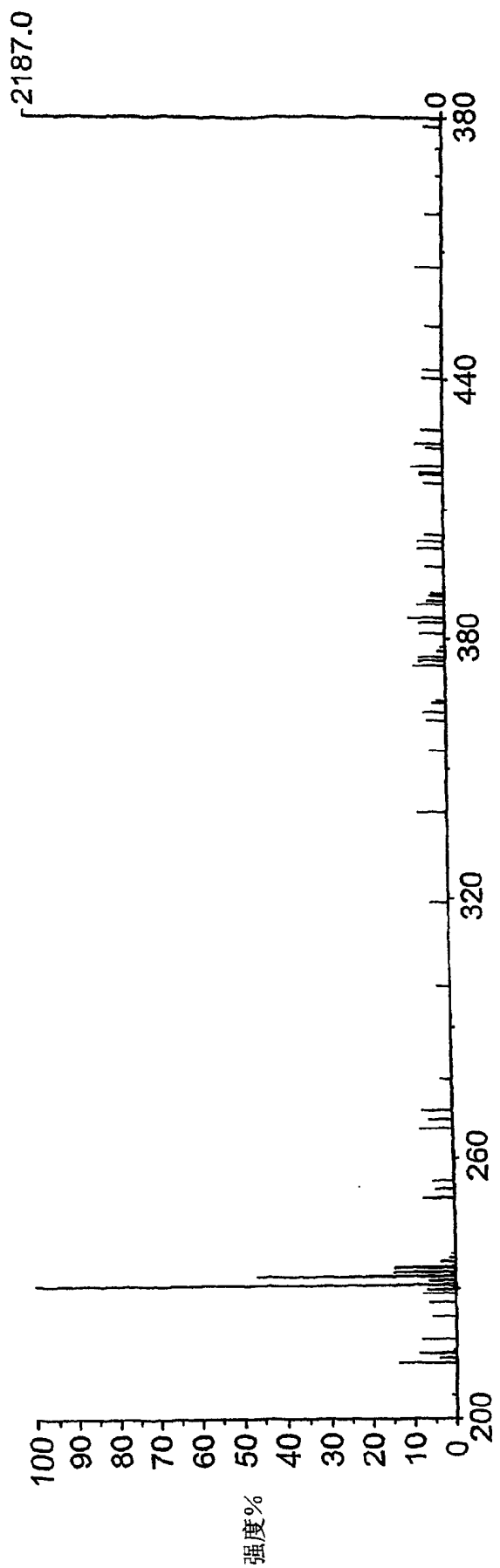


图 53



质荷比 (m/z)

图 54

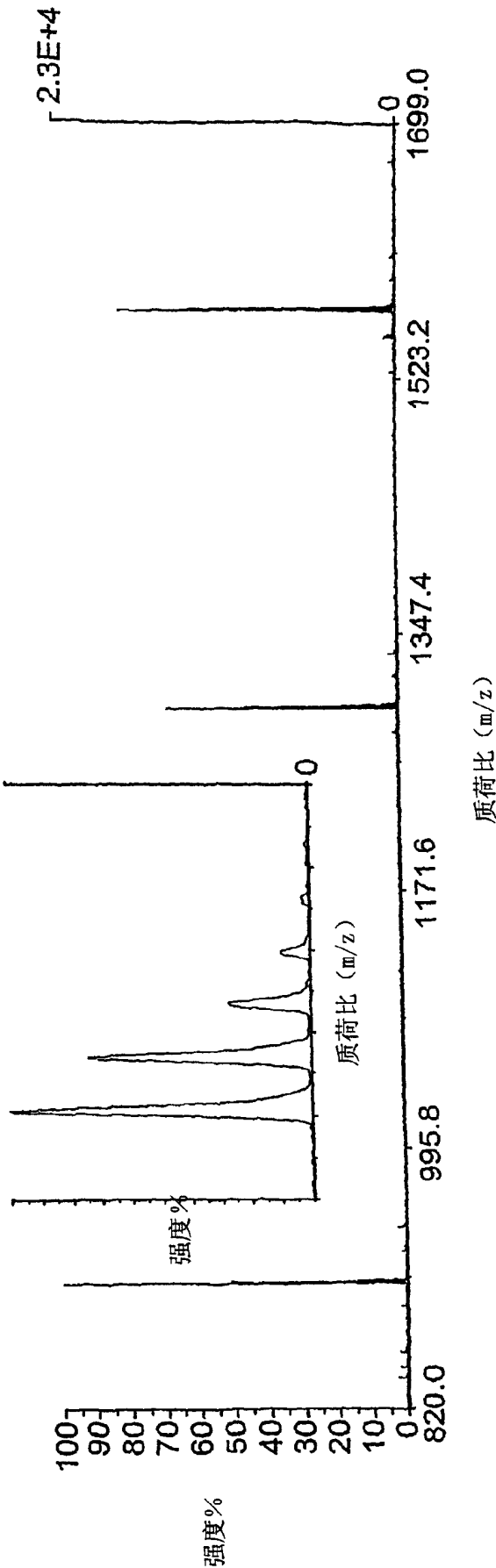


图 55

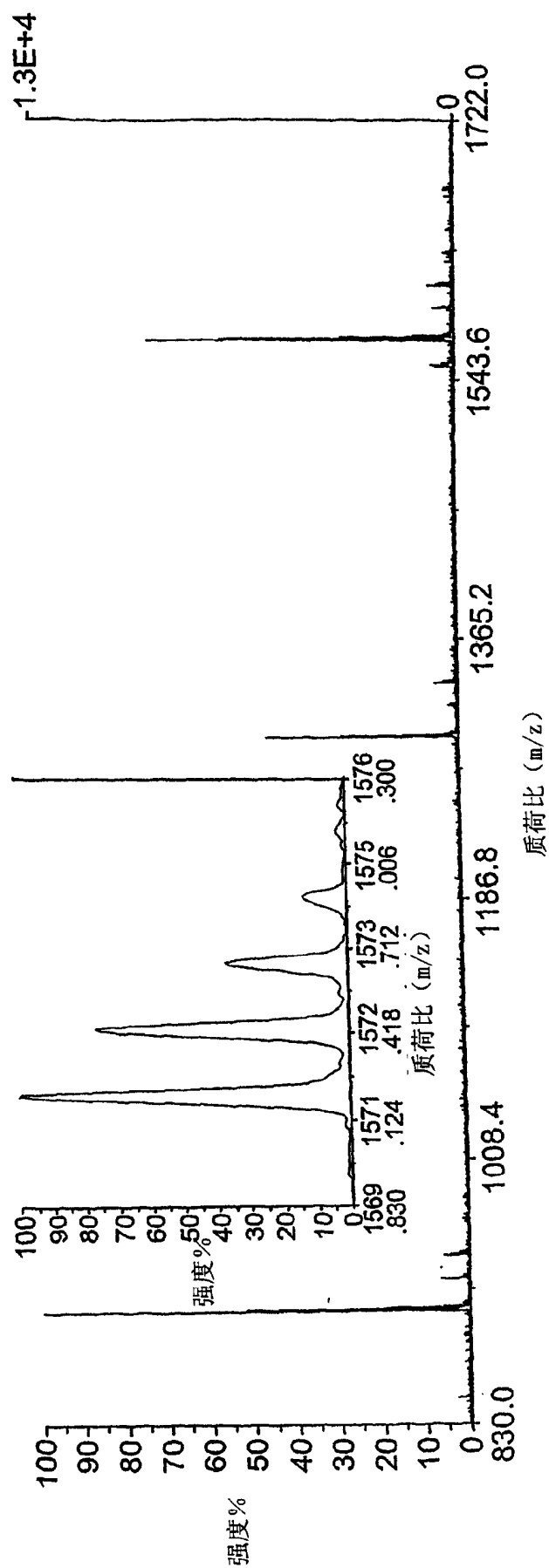


图 56

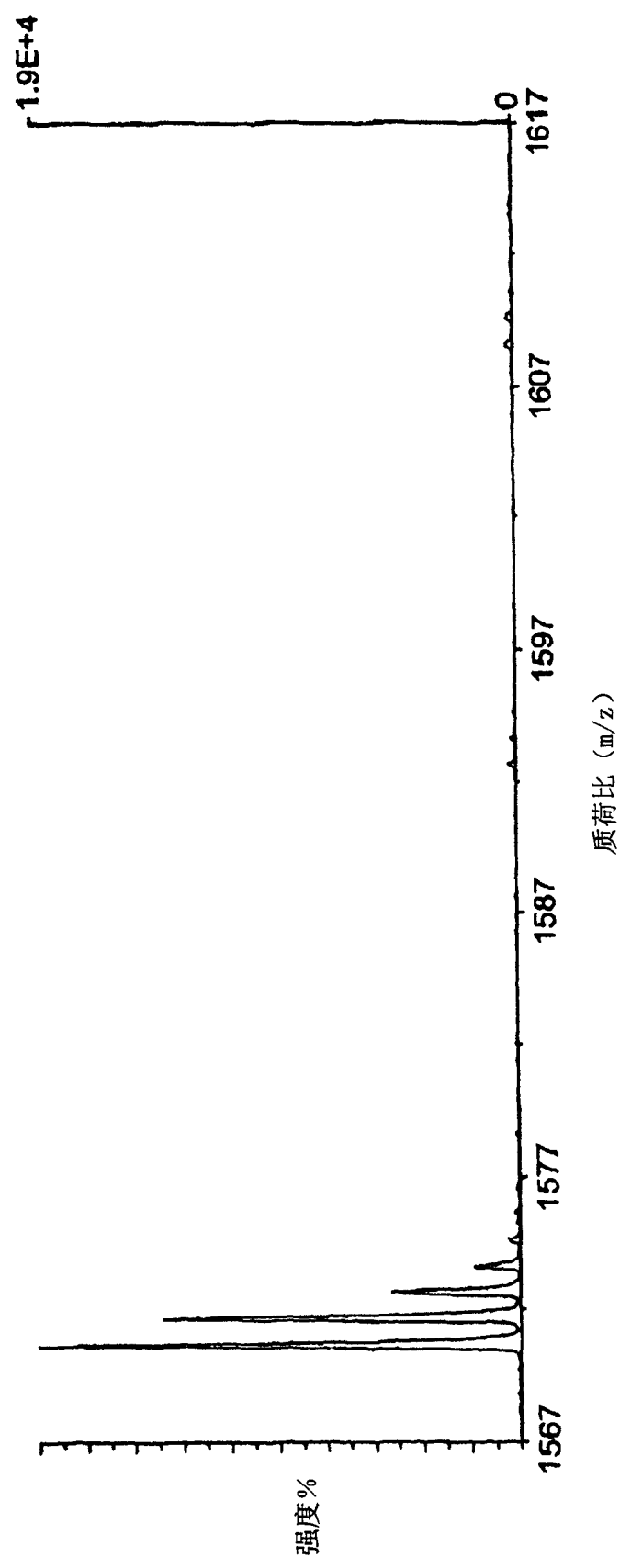


图 57

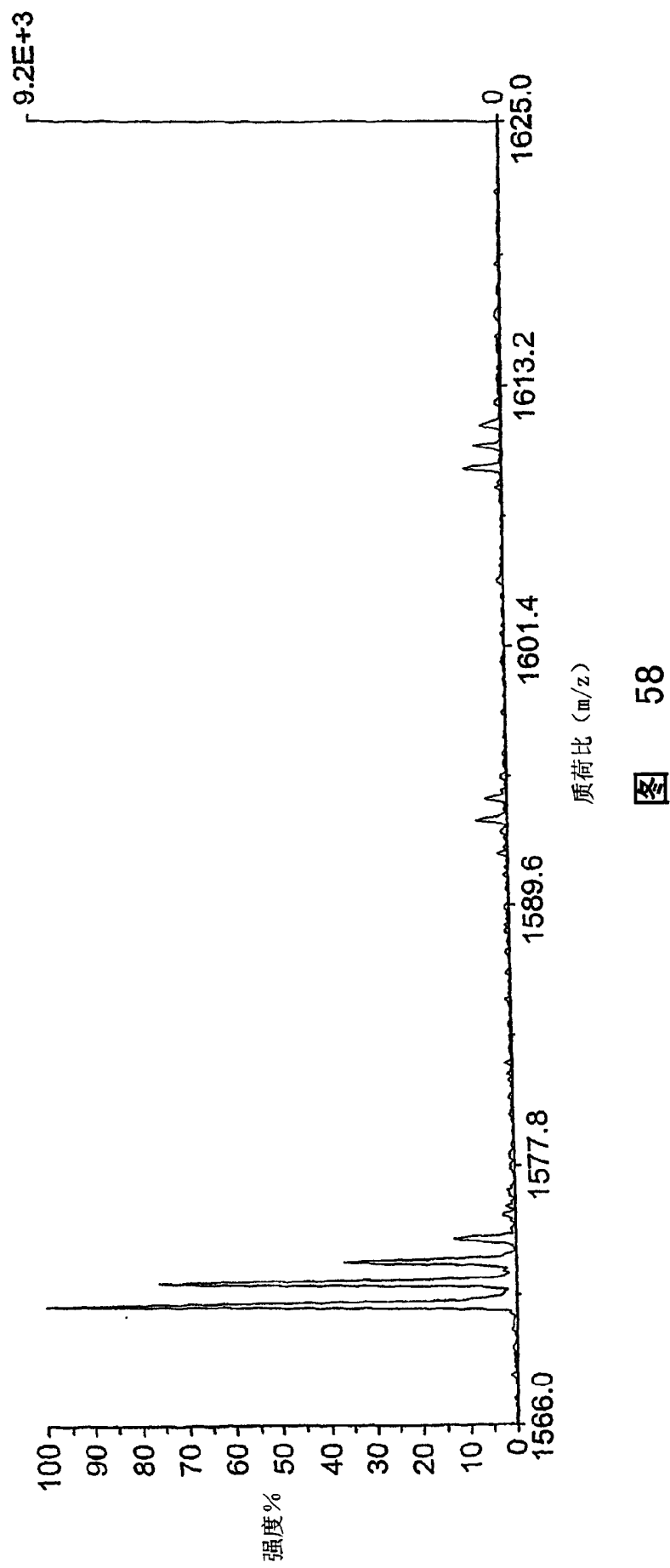


图 58