

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第5819943号  
(P5819943)

(45) 発行日 平成27年11月24日(2015.11.24)

(24) 登録日 平成27年10月9日(2015.10.9)

(51) Int.Cl.

F I

GO 1 N 1/00 (2006.01)  
 GO 1 N 27/62 (2006.01)  
 GO 1 N 35/10 (2006.01)  
 GO 1 N 35/02 (2006.01)

GO 1 N 1/00 1 O 1 K  
 GO 1 N 1/00 1 O 1 G  
 GO 1 N 27/62 F  
 GO 1 N 35/10 A  
 GO 1 N 35/02 A

請求項の数 36 (全 30 頁)

(21) 出願番号 特願2013-509308 (P2013-509308)  
 (86) (22) 出願日 平成23年5月6日(2011.5.6)  
 (65) 公表番号 特表2013-526700 (P2013-526700A)  
 (43) 公表日 平成25年6月24日(2013.6.24)  
 (86) 国際出願番号 PCT/US2011/035604  
 (87) 国際公開番号 W02011/140492  
 (87) 国際公開日 平成23年11月10日(2011.11.10)  
 審査請求日 平成26年5月7日(2014.5.7)  
 (31) 優先権主張番号 61/332,486  
 (32) 優先日 平成22年5月7日(2010.5.7)  
 (33) 優先権主張国 米国(US)

(73) 特許権者 301027074  
 ユーティーパテル エルエルシー  
 アメリカ合衆国 37831-6498  
 テネシー州 オーク リッジ ビー.オー.  
 .ボックス 2008  
 (73) 特許権者 510075457  
 ディーエイチ テクノロジーズ デベロッ  
 プメント プライベート リミテッド  
 シンガポール国 739256 シンガポ  
 ール, マーシリング インダストリアル  
 エステート ロード 3 33 ナンバ  
 ー04-06  
 (74) 代理人 100068755  
 弁理士 恩田 博宣

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 表面からサンプルを抽出するためのシステムおよび方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

サンプルを抽出するためのシステムにおいて、

多孔性のサンプル収集材料の連続した部分からなるサンプル収集デバイスであって、前記多孔性のサンプル収集材料は前記サンプルが前記多孔性のサンプル収集材料の表面の下方に侵入することが可能な態様で前記サンプルを吸収することが可能である、前記サンプル収集デバイスと、

連続した前記多孔性のサンプル収集材料にてサンプル抽出液の流れを封じ込めるためのバリア領域を画成する所定の領域と、

前記サンプル抽出液の流れを封じ込めるために前記バリア領域の前記多孔性のサンプル収集材料に埋め込まれた疎水性材料と、

前記多孔性のサンプル収集材料の前記表面に前記抽出液を塗布するため、及び、前記多孔性のサンプル収集材料の前記表面から抽出したサンプルを含有する抽出液を液体抽出表面サンプリングプローブによって引き離すべく前記多孔性のサンプル収集材料の前記表面に負圧を加えるための液体抽出表面サンプリングプローブと、

前記多孔性のサンプル収集材料及び前記液体抽出表面サンプリングプローブの下流において、前記抽出された溶解済みサンプル材料をイオン化するためのデバイスとを備える、システム。

【請求項 2】

前記多孔性のサンプル収集材料は親水性材料を含む請求項 1 に記載のシステム。

10

20

## 【請求項 3】

前記多孔性のサンプル収集材料は、紙、繊維、多孔質セラミック材料、およびその組合せからなる群から選択される請求項 1 に記載のシステム。

## 【請求項 4】

基材は、前記多孔性のサンプル収集材料に対する機械的支持を提供する請求項 1 に記載のシステム。

## 【請求項 5】

前記疎水性材料は、シリコン、フッ素化アルカン、およびワックスからなる群から選択される請求項 1 に記載のシステム。

## 【請求項 6】

前記疎水性材料は、前記サンプルを堆積する前にサンプルウェルを形成する、前記サンプル表面の前記多孔性のサンプル収集材料内のパターンを備える請求項 1 に記載のシステム。

## 【請求項 7】

前記サンプルウェルからの前記サンプルのオーバーフローを閉じ込めるために、疎水性バリアおよびモートをさらに備える請求項 6 に記載のシステム。

## 【請求項 8】

疎水性層は、前記サンプルを閉じ込める前記多孔性のサンプル収集材料の領域を覆って形成する請求項 1 に記載のシステム。

## 【請求項 9】

前記疎水性材料は、293.15 K の固相を含む請求項 1 に記載のシステム。

## 【請求項 10】

前記サンプルは生物学的材料を含む請求項 1 に記載のシステム。

## 【請求項 11】

前記サンプルは血液を含む請求項 10 に記載のシステム。

## 【請求項 12】

前記液体は、前記サンプルを溶解する溶媒を含む請求項 1 に記載のシステム。

## 【請求項 13】

前記溶解済みサンプル材料をイオン化するためのデバイスは、エレクトロスプレーイオン化デバイス、大気圧化学イオン化デバイス、誘導結合式プラズマイオン化デバイス、および大気圧光イオン化デバイスからなる群から選択される請求項 1 に記載のシステム。

## 【請求項 14】

前記イオン化された溶解済みサンプル材料は、質量分析計によって分析される請求項 13 に記載のシステム。

## 【請求項 15】

前記バリア領域は少なくとも一部において前記多孔性のサンプル収集材料の表面よりも下方にある、請求項 1 に記載のシステム。

## 【請求項 16】

前記バリア領域はサンプル収集材料に複数のサンプルウェルを画成する、請求項 15 に記載のシステム。

## 【請求項 17】

前記バリア領域は側部のバリア領域と連結した底部のバリア領域を画成する、請求項 16 に記載のシステム。

## 【請求項 18】

前記サンプルウェルの前記側部のバリア領域はコーティングされていない多孔性のサンプル収集材料によって取り囲まれることでオーバーフロー領域を画成する、請求項 17 に記載のシステム。

## 【請求項 19】

前記オーバーフロー領域は、サンプルウェルから前記オーバーフロー領域内へと溢れ出る溶媒を封じ込めるためのモート壁と画成するバリア領域によって取り囲まれる、請求項

10

20

30

40

50

18に記載のシステム。

【請求項20】

前記バリア領域は前記サンプル収集材料の表面にある、請求項1に記載のシステム。

【請求項21】

表面を有するサンプル収集材料からサンプルを抽出するための方法において、

多孔性の前記サンプル収集材料の表面上にサンプルを堆積させる工程であって前記サンプルが前記多孔性のサンプル収集材料の表面よりも下方に侵入する、サンプルを堆積させる工程と、

前記サンプル収集材料内にバリア領域を画成する工程と、

抽出液とサンプルの流れをバリア領域によって封じ込めるために前記多孔性のサンプル収集材料の前記バリア領域に疎水性材料に埋め込む工程と、

前記サンプル収集材料の前記表面上に液体抽出表面サンプリングプローブによってサンプル抽出液を塗布する工程であって、それにより、前記サンプルを溶解して、溶解済みサンプル材料を形成し、前記バリア領域は前記多孔性のサンプル収集材料を通じた前記サンプル抽出液の拡散を妨害する、サンプル抽出液を塗布する工程と、

前記液体抽出表面サンプリングプローブによって負圧を加えることによって前記液体抽出表面サンプリングプローブを用いて前記サンプル表面から前記溶解済みサンプル材料を抽出する工程であって、前記サンプル抽出液は前記液体抽出表面サンプリングプローブを介した前記負圧によって前記多孔性のサンプル収集材料から引き出された前記抽出されたサンプルを含有する、抽出する工程とを備える、方法。

【請求項22】

前記多孔性のサンプル収集材料は疎水性材料を含んでなる請求項21に記載の方法。

【請求項23】

前記多孔性のサンプル収集材料は、紙、繊維、多孔質セラミック材料、およびその組合せからなる群から選択される請求項21に記載の方法。

【請求項24】

機械的支持は、基材によって前記多孔性のサンプル収集材料に提供される請求項21に記載の方法。

【請求項25】

前記疎水性材料は、シリコン、フッ素化アルカン、およびワックスからなる群から選択される請求項21に記載の方法。

【請求項26】

前記サンプルを堆積する前に前記多孔性のサンプル収集材料の前記バリア領域にサンプルウェルを形成する請求項21に記載の方法。

【請求項27】

前記サンプルウェルからの前記サンプルのオーバフローを閉じ込めるために、疎水性バリアおよびモートをさらに設ける請求項26に記載の方法。

【請求項28】

疎水性層は、前記サンプルを閉じ込める前記多孔性のサンプル収集材料の領域の上に形成する請求項21に記載の方法。

【請求項29】

前記疎水性材料は、293.15Kの固相を含む請求項21に記載の方法。

【請求項30】

前記サンプルは前記多孔性のサンプル収集材料に埋め込まれる請求項21に記載の方法。

【請求項31】

前記サンプルは生物学的材料を含んでなる請求項21に記載の方法。

【請求項32】

前記サンプルは血液を含んでなる請求項31に記載の方法。

【請求項33】

10

20

30

40

50

前記液体は、前記サンプルを溶解する溶媒を含んでなる請求項 2 1 に記載の方法。

【請求項 3 4】

前記溶解済みサンプル材料をイオン化するためのデバイスは、エレクトロスプレーイオン化デバイス、大気圧化学イオン化デバイス、誘導結合式プラズマイオン化デバイス、および大気圧光イオン化デバイスからなる群から選択される請求項 2 1 に記載の方法。

【請求項 3 5】

前記イオン化された溶解済みサンプル材料は、質量分析計によって分析される請求項 3 4 に記載の方法。

【請求項 3 6】

前記バリア領域は少なくとも一部において前記多孔性のサンプル収集材料の表面よりも下方にあり、前記疎水性材料は前記多孔性のサンプル収集材料の表面よりも下方に侵入して前記表面よりも下方の前記バリア領域の多孔性サンプル収集材料をコーティングする、請求項 2 1 に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本出願人の教示は、質量分析計による分析のために表面からサンプルを抽出するための装置および方法に関する。

本出願人の発明の開示は、米国エネルギー省によって与えられた契約番号 DE - AC 0 5 - 0 0 O R 2 2 7 2 5 の下で政府支援を受けて行われた。政府は本出願人の開示において一定の権利を有する。

【背景技術】

【0002】

多くのタイプの大気圧表面分析技法が、質量分析検出のために開発されてきた。通常、これらの技法は、1つのメカニズムによって固体表面から分析物を脱離または除去し、別のメカニズムによって分析物をイオン化する。ホットガス (A S A P、D A R P)、レーザ (M A L D I)、または I R 放射の形態の熱脱離は、分析物を脱離する1つの手段である。高周波数振動の形態の音響脱離は、分析物を脱離する別の技法である。種々の手段による溶媒抽出は、さらに別の技法であり、さらに別の技法は、吹き付けられる液滴を表面から跳ね返らせること (D E S I)、表面張力によって封じ込められる表面上の液体接合 (liquid junction) を確立すること (S S P)、または、「o」リングで達成されることになるような、液体を封じ込める表面上の機械的シールを形成すること (非特許文献 1) を含む。脱離された分析物のイオン化は、通常、上述した技法の全てによる化学イオン化またはエレクトロスプレーイオン化のある変形によって達成される。

【0003】

液体抽出脱離技法は、システム内に付与されるエネルギーの量が最小化されるため、分析物分子に対して最小に破壊的である。抽出溶媒は、表面に付着するサンプルを溶解させるために表面に接触させられる。親水性表面は、親水性溶媒を吸収し、散逸し、保持することになり、分析物が、効果的に除去され、質量分析検出のためにイオン化されることを可能にしない。

【0004】

生物学的流体および環境サンプルなどの水性ベースサンプルのサンプリングおよび貯蔵のために使用される多くの重要な親水性固体材料が存在する。セルロースまたは紙ベース基材は、それらの吸収特性および乾燥状態での化学的安定性のために広く使用されている。

【先行技術文献】

【非特許文献】

【0005】

【非特許文献 1】 Van Berkel, G. J. ; Pasilis, S. P. ; Ovchinnikova, O. 著「Established and Emerging A

10

20

30

40

50

atmospheric Pressure Surface Sampling / Ionization Techniques for Mass Spectrometry  
J. Mass Spectrom., 2008, 43, 1161-1180

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0006】

これらの基材などの親水性表面は、液体が紙に残ったままであるため、液体抽出脱離技法によって質量分析計を用いて直接分析することが非常に難しい。間接的な分析が行われるが、間接的な分析は、プロセスにおいて余分な試験を付加し、面倒でかつ時間がかかる。通常、サンプルを含む紙の領域は、物理的に切除され、それに続いて、大容積の溶媒の添加ステップ、ろ過ステップ、および遠心分離ステップが行われる。同様に、高い空間分解能が必要とされるとき、物理的切除は境界をぼかしうる。

【課題を解決するための手段】

【0007】

本出願人の教示の態様によれば、表面からサンプルを抽出するためのシステムが提供される。サンプルが提供され、サンプル表面が、サンプル表面上に堆積されるサンプルを受取る。疎水性材料が、サンプル表面に塗着され、1つまたは複数のデバイスが、液体であって、溶解済みサンプル材料を形成するためにサンプルを溶解する、液体をサンプル上に分注するように構成され、1つまたは複数のデバイスは、サンプル表面から溶解済みサンプル材料を抽出するように構成される。種々の実施形態では、サンプル表面は、親水性材料でありうる吸収層を備える。吸収層は、紙、繊維、多孔質セラミック材料、およびその組合せからなる群から選択されうる。種々の態様では、基材は、吸収層に対する機械的支持を提供する。種々の実施形態では、疎水性材料は、シリコーン、フッ素化アルカンおよびワックスからなる群から選択される。疎水性材料は、サンプルを堆積する前にサンプルウェルを形成する、サンプル表面の吸収層内のパターンを備えうる。種々の態様では、システムは、サンプルウェルからのサンプルのオーバーフローを閉じ込めるために、疎水性バリアおよびモートをさらに備える。種々の態様では、疎水性層は、サンプルを含む吸収層の領域を覆って形成しうる。疎水性材料は、293.15 Kの固相を含みうる。種々の実施形態では、サンプルは吸収層に埋め込まれることができ、サンプルは、血液または組織などの生物学的材料を含みうる。種々の態様では、液体は、サンプルを溶解する溶媒を含みうる。1つまたは複数のデバイスは、液体抽出表面サンプリングブローブ、または、サンプルの方へまたサンプルから離してピペット先端を移動させるように構成されたロボットアームを備えうる。種々の実施形態では、1つまたは複数のデバイスは、サンプル表面から溶解済みサンプル材料を抽出しうる帯電液滴を生成するために、空圧生成式帯電スプレーを提供することを含みうる。種々の実施形態では、システムは、エレクトロスプレーイオン化デバイス、大気圧化学イオン化デバイス、誘導結合式プラズマイオン化デバイス、または大気圧光イオン化デバイスを用いて、抽出された溶解済みサンプル材料をイオン化することをさらに含む。イオン化された溶解済みサンプル材料は、質量分析計によって分析されうる。

【0008】

別の態様では、サンプル表面からサンプルを抽出するための方法が提供される。サンプルが提供され、サンプル表面が、サンプル表面上に堆積されるサンプルを受取る。疎水性材料が、サンプル表面に塗着され、1つまたは複数のデバイスが、液体であって、溶解済みサンプル材料を形成するためにサンプルを溶解する、液体をサンプル上に分注するように構成され、1つまたは複数のデバイスは、サンプル表面から溶解済みサンプル材料を抽出するように構成される。種々の実施形態では、サンプル表面は、親水性材料でありうる吸収層を備える。吸収層は、紙、繊維、多孔質セラミック材料、およびその組合せからなる群から選択されうる。種々の態様では、基材は、吸収層に対する機械的支持を提供する。種々の実施形態では、疎水性材料は、シリコーン、フッ素化アルカン、およびワックスからなる群から選択される。疎水性材料は、サンプルを堆積する前にサンプルウェルを形

成する、サンプル表面の吸収層内のパターンを備えうる。種々の態様では、方法は、サンプルウェルからのサンプルのオーバーフローを含むために、疎水性バリアおよびモートをさらに備える。種々の態様では、疎水性層は、サンプルを含む吸収層の領域を覆って形成しうる。疎水性材料は、293.15 Kの固相を含みうる。種々の実施形態では、サンプルは吸収層に埋め込まれることができ、サンプルは、血液または組織などの生物学的材料を含みうる。種々の態様では、液体は、サンプルを溶解する溶媒を含みうる。1つまたは複数のデバイスは、液体抽出表面サンプリングプローブ、または、サンプルの方へまたサンプルから離してピペット先端を移動させるように構成されたロボットアームを備えうる。種々の実施形態では、1つまたは複数のデバイスは、サンプル表面から溶解済みサンプル材料を抽出しうる帯電液滴を生成するために、空圧生成式帯電スプレーを提供することを含みうる。種々の実施形態では、方法は、エレクトロスプレーイオン化デバイス、大気圧化学イオン化デバイス、誘導結合式プラズマイオン化デバイス、または大気圧光イオン化デバイスを用いて、抽出された溶解済みサンプル材料をイオン化することをさらに含む。イオン化された溶解済みサンプル材料は、質量分析計によって分析されうる。

10

【0009】

以下で述べる図面は、例証だけのためのものであることを当業者は理解するであろう。図面は、本出願人の教示の範囲をいずれの点でも制限することを意図されない。

【図面の簡単な説明】

【0010】

【図1A】本出願人の教示の種々の実施形態による、液体微小接合表面サンプリングプローブを含む従来技術のマイクロイオンスプレーデバイス、および、マイクロイオンスプレーデバイス内の流体流路の概略を示す断面図。

20

【図1B】本出願人の教示の種々の実施形態による、従来技術の液体微小接合表面サンプリングプローブの近位端の概略を示す断面図。

【図2A】本出願人の教示の種々の実施形態による、サンプルを含む吸収層の垂直方向における概略を示す断面図である。

【図2B】本出願人の教示の種々の実施形態による、疎水性材料の塗着前の基材上にサンプルを含む吸着性の層の垂直方向における概略を示す断面図。

【図2C】本出願人の教示の種々の実施形態による、疎水性材料の塗着後の基材上にサンプルを含む吸着性の層の垂直方向における概略を示す断面図。

30

【図3A】本出願人の教示の種々の実施形態による、疎水性材料の塗着前の基材上にサンプルを含む親水性吸着層の概略を示す断面図。

【図3B】本出願人の教示の種々の実施形態による、疎水性材料の塗着に続く基材上にサンプルを含む親水性吸着層の概略を示す断面図。

【図3C】本出願人の教示の種々の実施形態による、サンプリングプローブの動作中の、疎水化処理済み表面およびサンプルならびに液体微小接合表面サンプリングプローブの近位端の概略を示す断面図。

【図3D】本出願人の教示の種々の実施形態による、サンプリングプローブの動作後の、疎水化処理済み表面およびサンプルならびに液体微小接合表面サンプリングプローブの近位端の概略を示す断面図。

40

【図4A】サンプルを堆積し埋め込む前の、疎水性バリアを有する親水性吸着層の概略を示す断面図（側部および下部の疎水性バリアは、本出願人の教示の種々の実施形態に従って、側部を超えるまた下部から出るサンプルおよび抽出溶媒の拡散を防止する）。

【図4B】サンプルが堆積され埋設された後の、疎水性バリアを有する親水性吸着層の概略を示す断面図（側部および下部の疎水性バリアは、本出願人の教示の種々の実施形態に従って、側部を超えるまた下部から出るサンプルおよび抽出溶媒の拡散を防止する）。

【図4C】サンプルを堆積し埋め込む前の、疎水性吸着層の概略を示す断面図（下部の疎水性バリアおよび交互の疎水性バリアと親水性側部オーバーフローモートは、本出願人の教示の種々の実施形態に従って、内部領域がサンプルで過剰充填されるときに、抽出溶

50

媒の横方向拡散を防止し、内部サンプリング領域内にサンプルの一定容積を維持する)。

【図4D】過剰のサンプルが堆積され埋設された状態の、疎水性吸着層の概略を示す断面図(下部の疎水性バリアおよび交互の疎水性バリアと親水性側部オーバフローモートは、本出願人の教示の種々の実施形態に従って、内部領域がサンプルで過剰充填されるときに、抽出溶媒の横方向拡散を防止し、内部サンプリング領域内にサンプルの一定容積を維持する)。

【図5A】本出願人の教示の種々の実施形態による、血斑(blood spot)サンプルを含む紙をサンプリングするピペットおよびロボットアームを使用する実験セットアップの連続的な側面図のうちの1つの概略を示す側面図。

【図5B】本出願人の教示の種々の実施形態による、血斑サンプルを含む紙をサンプリングするピペットおよびロボットアームを使用する実験セットアップの連続的な側面図のうちの1つの概略を示す側面図。

【図5C】本出願人の教示の種々の実施形態による、血斑サンプルを含む紙をサンプリングするピペットおよびロボットアームを使用する実験セットアップの連続的な側面図のうちの1つの概略を示す側面図。

【図5D】本出願人の教示の種々の実施形態による、血斑サンプルを含む紙をサンプリングするピペットおよびロボットアームを使用する実験セットアップの連続的な側面図のうちの1つの概略を示す側面図。

【図5E】本出願人の教示の種々の実施形態による、血斑サンプルを含む紙をサンプリングするピペットおよびロボットアームを使用する実験セットアップの連続的な側面図のうちの1つの概略を示す側面図。

【図6】本出願人の教示の種々の実施形態による、未処理親水性順相高性能薄層クロマトグラフィ(HPTLC)プレート上の吸収済み水滴および疎水性コーティング済み順相HPTLCプレート上の未吸収水滴の注釈付き写真。

【図7】本出願人の教示の種々の実施形態による、疎水性コーティング済み吸収剤清浄化組織(absorbent cleaning tissue)(KimWipes(登録商標))上の未吸収水滴を示す図。

【図8】本出願人の教示の種々の実施形態による、疎水性コーティング済み血斑紙上の未吸収水滴を示す図。

【図9A】本出願人の教示の種々の実施形態による、疎水性材料コーティング済みゴールドデンシール根抽出物(goldenseal root extract)のサンプルに関するクロマトグラフィから得られた現像後処理済み(post-development treated)順相HPTLCプレートの液体微小接合表面サンプルプローブスキャンからの、(ヒドラスチニンに対応する)190のm/z設定における時間依存性読出しを示すグラフ。

【図9B】本出願人の教示の種々の実施形態による、疎水性材料コーティング済みゴールドデンシール根抽出物のサンプルに関するクロマトグラフィから得られた現像後処理済み順相HPTLCプレートの液体微小接合表面サンプルプローブスキャンからの、(ヒドラスチニンに対応する)384のm/z設定における時間依存性読出しを示すグラフ。

【図9C】本出願人の教示の種々の実施形態による、疎水性材料コーティング済みゴールドデンシール根抽出物のサンプルに関するクロマトグラフィから得られた現像後処理済み順相HPTLCプレートの液体微小接合表面サンプルプローブスキャンからの、(ジャトロリジンに対応する)338のm/z設定における時間依存性読出しを示すグラフ。

【図9D】本出願人の教示の種々の実施形態による、疎水性材料コーティング済みゴールドデンシール根抽出物のサンプルに関するクロマトグラフィから得られた現像後処理済み順相HPTLCプレートの液体微小接合表面サンプルプローブスキャンからの、(ベルベラスチニンに対応する)352のm/z設定における時間依存性読出しを示すグラフ。

【図9E】本出願人の教示の種々の実施形態による、疎水性材料コーティング済みゴールドデンシール根抽出物のサンプルに関するクロマトグラフィから得られた現像後処理済み順相HPTLCプレートの液体微小接合表面サンプルプローブスキャンからの、(ベルベリンに対応する)336のm/z設定における時間依存性読出しを示すグラフ。

10

20

30

40

50

【図9F】本出願人の教示の種々の実施形態による、疎水性材料コーティング済みゴールデンシール根抽出物のサンプルに関するクロマトグラフィから得られた現像後処理済み順相HPTLCプレートの液体微小接合表面サンプルプローブスキャンからの、(カナダリンに対応する)370のm/z設定における時間依存性読出しを示すグラフ。

【図9G】本出願人の教示の種々の実施形態による、疎水性材料コーティング済みゴールデンシール根抽出物のサンプルに関するクロマトグラフィから得られた現像後処理済み順相HPTLCプレートの液体微小接合表面サンプルプローブスキャンからの、(テトラヒドロベルベリンに対応する)340のm/z設定における時間依存性読出しを示すグラフ。

【発明を実施するための形態】

10

【発明を実施するための形態】

【0011】

本明細書で述べられ、図面で示される同様のまた対応する要素は、同様の参照数字によって参照されることが留意される。添付図における種々の要素の所定部分は、大きな寸法を有する他の要素に対して小さな寸法を有する要素の明確な例証を可能にするために、所定スケールに従って描かれないことも留意される。

【0012】

種々の要素を参照して本出願人の教示に関連して使用される句「ある(a)」または「ある(an)」は、文脈が別途明確に指示しないかぎり、「1つまたは複数(one or more)」または「少なくとも1つ(at least one)」を包含することが理解されるべきである。

20

【0013】

参照が図1Aに対して行われ、図1Aは、液体微小接合表面サンプリングプローブを含む従来技術のマイクロイオンスプレーデバイス、および、マイクロイオンスプレーデバイス内の流体流路の概略を示す断面図である。図1Bを参照して、従来技術の液体微小接合表面サンプリングプローブの近位端の断面図が示される。「エミッタ(emitter)」とも呼ばれる液体微小接合表面サンプリングプローブの動作の前に、液体微小接合表面サンプリングプローブの近位端が、サンプルの表面に近接せられる。液体微小接合表面サンプリングプローブの近位端とサンプルの表面との間の距離は、液体微小接合界面の形成を可能にする距離に維持される。距離は、通常、20ミクロン~50ミクロンとすることができる。

30

【0014】

溶離溶媒または溶離剤と呼ばれる液体が、プローブまたは「エミッタ」内に位置する溶媒送出毛細管の環状部を通してサンプルの表面に向かって圧送される。サンプルに向かう液体流は、溶媒流と呼ばれる。サンプルは、溶離溶媒内で溶解されうる任意の材料とすることができる。たとえば、サンプルは、5ミクロン~100ミクロンの厚さを有する薄い組織セクションとすることができる。サンプルは、ガラススライドなどの基材に搭載される。溶離溶媒は、サンプル表面から液体微小接合界面を維持するのに十分な距離内に液体微小接合表面サンプリングプローブの近位端を保持することによってもたらされるサンプルの表面との液体微小接合を形成しうる。

【0015】

40

サンプルの表面からの材料は、溶離溶媒内で溶解されうる。溶離溶媒と溶解した材料の混合物は、溶離液と呼ばれ、環状溶媒送出毛細管によって囲まれる内部サンプリング毛細管を通してサンプルの表面から吸引される。サンプル表面からの溶離液の流れは、スプレー流と呼ばれる。スプレー流は、質量分析計の大気圧イオン源に送られうる。図1Bは、同軸液体微小接合表面サンプリングプローブの近位端についての寸法のセットを示す。

【0016】

液体抽出表面サンプリングプローブのさらなる詳細は、Gary J. Van Berked等著「Thin-Layer Chromatography and Electrospray Mass Spectroscopy Coupled Using Surface Sampling Probe」Anal. Chem. 2002, 7

50



4, pp. 6216 - 6223、Keiji G. Asano 等著「Self-aspirating atmospheric pressure chemical ionization source for direct sampling of analytes on surfaces and in liquid solutions」Rapid Commun. Mass Spectrum. 2005, 19, pp. 2302 - 2312、および Gary J. Van Berkel に対する米国特許第 6,803,566 号に提供される。

【0017】

液体微小接合表面サンプリングプローブが使用されると、微小接合界面は、横方向に露出されるため、溶離溶媒は、微小接合界面の周囲に連続して給送される。表面が、吸収層、すなわち、血液などのサンプルが埋め込まれる紙片または繊維片の場合と同様であるとき、溶離溶媒は、微小接合界面の周囲において連続して吸収され、溶離液が表面を通して拡散するため、微小接合を損ない、表面からの液体およびサンプルの取出しまたは抽出を不可能にする。噴霧液滴または機械的シールにおける試みなどの他の形態の液体抽出は、同様の運命にさらされることになり、親水性表面についての親水性液体の親和性は、液体を、表面材料内に吸収させ、表面材料を通して移動させ、液体を、直接分析による測定にもはや利用可能でなくす。

【0018】

疎水性表面は、親水性溶媒の界面における表面張力バリアの形成を促進することになる。この状況では、表面が過剰に疎水性でなく、溶媒の侵入を防止する場合、液滴は、エッジにおいて表面張力によってそのまま保持されるその完全性を維持し、サンプルを抽出するのに十分な、表面におけるまた表面下の接触を依然として可能にすることになる。しかし、抽出溶媒およびサンプルが堆積される表面が、効果的に分離されることを可能にするために、両者は、異なる特性を持たなければならない。

【0019】

本出願人の教示は、液体抽出メカニズムによる表面からのサンプルの脱離および溶解に関する。本出願人の教示は、いろいろな溶媒を用いたいろいろな表面の直接分析を可能にし、特に、親水性溶媒を用いた疎水性表面の直接分析を可能にし得る。

【0020】

図 2A を参照して、本出願人の教示による種々の実施形態では、サンプル表面上にサンプルを堆積させるためのサンプル表面は、吸収部分 20A を有しうる吸収層 20 を備える。種々の実施形態では、サンプルは、吸収部分 20A に埋め込まれうる。吸収部分 20A は、異質材料がないとすることができ、また、流体を吸収しうる層を備えうる。サンプルは、図 2A の領域 30 に示すように、サンプル表面の吸収層 20 の吸収部分 20A 上に堆積され埋め込まれうる。種々の態様では、図 2A の吸収層 20 は、たとえば、異質材料がない吸収部分 20A からなるきれいな吸収層を設けることによって調製されうる。異質材料がない吸収部分 20A を流体の形態のサンプル材料にさらすと、流体は、異質材料がない吸収部分 20A に吸収または吸着され、流体を含むサンプル領域 30 を形成しうる。設けられるきれいな吸収層は、サンプル領域 30 を形成する前に多孔質構造を有しうるため、サンプル領域 30 および異質材料がない吸収部分 20A を備える吸収層 20 もまた多孔質構造を有し、サンプル材料がサンプル領域 30 に吸収されることを可能にしうる。

【0021】

種々の実施形態では、吸収層 20 は、紙片、布片、多孔質セラミック材料、またはその組合せを備えうる。吸収層 20 は、親水性材料を含みうるが、それに限定されない。吸収層 20 の厚さは、たとえば、約 100 ミクロン ~ 約 10 mm とすることができるが、当業者が認識するように、より小さいまたより大きい厚さもまた使用されうる。

【0022】

図 2B を参照して、本出願人の教示による種々の実施形態では、吸収層 20 は、基材 10 の上部表面上に堆積されうる。基材 10 は、吸収層 20 に機械的支持を提供する構造とすることができる。したがって、基材 10 の使用は、サンプル領域 30 のその後の分析中

10

20

30

40

50

に吸収層 20 だけが十分な機械的支持を提供するときはオプションである。たとえばサンプル材料を含む薄い紙組織の場合と同様に、サンプル領域 30 上でのその後の分析に耐えるのに十分な機械的強度を吸収層 20 が提供しない場合、基材 10 は、吸収層 20 に機械的支持を提供しうる。

#### 【0023】

基材 10 の上部表面は、吸収層 20 の裏側表面に接触しうる。種々の態様では、基材の上部表面は、疎水性表面とすることができる。吸収層 20 と基材 10 の組合せは、本明細書でサンプル組立体 (10, 20) と呼ばれる。液体抽出方法によるサンプル領域内の埋設サンプル材料のその後の分析中に基材 10 が十分な機械的支持を提供しうる場合、基材 10 は、金属材料、絶縁体材料、または任意の他の剛性材料を含みうる。種々の実施形態では、サンプル領域 30 は、吸収層 20 を基材 10 に接触させる前に、吸収層 20 内で形成されうる。種々の実施形態では、吸収層 20 は、サンプル材料をさらすことによってサンプル領域 30 を形成する前に、基材に接触させられうる。

10

#### 【0024】

図 2C を参照して、本出願人の教示による種々の実施形態では、疎水性材料が、サンプル 30 を含む、サンプル表面の吸収層 20 に塗着されうる。種々の実施形態では、疎水性材料は、サンプル領域 30 の上部の周りにまた上部にスプレーコーティングによって塗着されうる。種々の実施形態では、疎水性材料は、たとえば浸漬またはスピンコーティングによって吸収層 20 の全体に塗着されうる。

20

#### 【0025】

種々の実施形態では、疎水性材料は、たとえば、限定はしないが生物学的サンプルまたは化学的サンプルを含むことができるサンプルが以前に堆積された領域を有する吸収層上に噴霧または浸漬することによって塗着されうる。疎水性材料は、サンプル領域の周りで吸収層全体にわたって埋め込まれて、サンプルの周囲に疎水性バリアを形成し、抽出溶媒およびサンプルの横方向拡散を防止しうる。サンプル領域を覆って塗着された疎水性材料の部分は、薄く、したがって、多孔質の疎水性層を形成しうる。サンプル内の分析物分子の液体抽出は、多孔質の疎水性バリアを通して起こりうるが、液体は、サンプルの周囲の連続する疎水性バリアによって封じ込められる。

#### 【0026】

種々の実施形態では、疎水性材料は、サンプルに添加される前に、吸着層内に含浸されうる。疎水性バリアのパターン化領域およびサンプル用の疎水性吸収領域を囲むアンダーコーティングは、非パターン化手法と同様な方式で抽出液体を封じ込めうる。

30

#### 【0027】

疎水性材料の塗着後に、サンプル組立体 (10, 20) は、噴霧材料の揮発性成分が蒸発することを可能にするように乾燥されうる。種々の態様では、乾燥期間は、たとえば、約 1 分 ~ 約 24 時間とすることができるが、それに限定されない。塗着された疎水性材料は、埋め込まれうる疎水性材料を含みうる疎水性周囲部分 22 を形成し、サンプル領域 30 を横方向に封じ込めうる。サンプル領域 30 の周囲全体は、疎水性周囲部分 22 によって横方向に囲まれうる。たとえば、2 次元シート内のサンプルスポットの場合、サンプル領域 30 の 2 つの側部は、たとえば、HP T L C プレートなどのストリップ内のサンプルバンドの場合と同様に、2 つの分離した疎水性周囲部分 22 によって横方向に接触されうる。塗着された疎水性材料がサンプル領域 30 に接触する吸収部分 20A 内に埋め込まれるため、疎水性周囲部分 22 が形成されうる。吸収部分 20A は、実質的に異質材料がない、または、低い異質材料を含みうる。

40

#### 【0028】

疎水性層 32 は、サンプル領域 30 を覆って形成されうる。疎水性層 32 は、サンプルがこの領域の吸着材料を既に飽和させているためにサンプルが存在しない吸着材料内に形成される疎水性バリア 22 よりずっと薄くすることができる。層 32 の薄さは、サンプルがこの領域の吸着材料を既に飽和させているため、22 にて形成される深く侵入する厚いバリアより薄くすることができる。疎水性層 32 は、疎水性周囲部分 22 内の埋設疎水性

50

材料と同じ材料を含みうるが、ずっと薄いため、吸着層全体を通した液体の迅速かつ非制御式の拡散を防止するための特性を維持しながら、溶媒がサンプルに侵入することを可能にする。

【 0 0 2 9 】

疎水性材料の塗着による吸収層 2 0 の処理は、抽出液体または噴霧液滴が層の非サンプル部分内に拡散しないように、吸収層 2 0 の湿潤性を減少させうる。サンプルのすぐ隣の疎水性周囲部分 2 2 は、吸収層 2 0 内のサンプル領域 3 0 からの分析物および抽出溶媒の放射状溶離を妨げうる。

【 0 0 3 0 】

種々の態様では、吸収層 2 0 の処理は、サンプル領域 3 0 内の埋設サンプル材料の空間的分布を損なわない。種々の態様では、吸収層 2 0 の処理は、液体抽出の動作中に、サンプル領域 3 0 内の埋設サンプル材料が、吸収層 2 0 の表面から溶解し抽出されることを可能にしうる。吸収層 2 0 の処理は、吸収層 2 0 の処理は、有害なマトリクス効果(matrix effect)に寄与しない。すなわち、吸収層 2 0 の処理は、イオン抑制をもたらさない、または、表面からの分析物抽出を妨げる。

【 0 0 3 1 】

サンプル表面の吸収層 2 0 に塗着されうる、適した疎水性材料の例は、シリコーンとすることができる。市販のシリコーン源は、潤滑剤または防水剤として通常使用されうるシリコーンスプレーとすることができる。

【 0 0 3 2 】

吸収層 2 0 上に塗着すると、シリコーンは、表面に対する疎水性特性および安定した液体 / 固体界面を形成する能力を与えうる疎水性周囲部分 2 2 および疎水性層 3 2 を形成する。サンプルを覆う薄いシリコーン層は、抽出溶媒が、吸収層全体を通して分散し拡散することなく、サンプルに侵入し、サンプルを溶解し、引出されることを可能にする多孔度を有しうる。2 2 における厚い層は、抽出溶媒に対して不浸透性とすることができる。市販のシリコーンスプレーは、Carfa Magic Trio (登録商標) および Kiwi Camp Dry (登録商標) を含みうるが、それに限定されない。

【 0 0 3 3 】

サンプル表面の吸収層 2 0 に塗着されうる、適した疎水性材料の他の例は、アルカンおよびフッ素化アルカンである。固体、液体、またはエロゾルの形態のアルカンおよびフッ素化アルカンは、ワックスと呼ばれることが多く、溶解する、ペイントする、または噴霧することによって表面に塗着されうる。このタイプの材料は、サンプルが堆積されうるサンプルウェルを備えうる領域を画定する吸収材料をパターン化するオプションを提供しうる。液体によって抽出される吸収サンプルウェルの容積は、制御され、抽出されるサンプルは、大気圧イオン化質量分析法によって直接分析されうる。

【 0 0 3 4 】

物理的関連(association)を形成する代わりに化学結合を形成しうる他の試薬はまた、吸収層 2 0 の上部表面の少なくとも一部分を疎水性にするために、こうした試薬が疎水性周囲部分 2 2 および任意選択で疎水性層 3 2 を形成する場合に使用されうる。

【 0 0 3 5 】

疎水性材料は、液体抽出表面サンプリングプローブの動作温度で固相であるとしてすることができる。種々の実施形態では、疎水性材料は、2 9 3 . 1 5 K で、すなわち室温で固相であるとしてすることができる。

【 0 0 3 6 】

図 3 A を参照して、本出願人の教示による種々の実施形態では、疎水性材料を塗着する前の、サンプル組立体 ( 1 0 , 2 0 ) の略断面図が示される。サンプルは、領域 3 0 において吸収材料に添加されうる。このステップは、図 2 B の処理ステップに対応する。吸収層 2 0 の多孔性は、円で概略的に示される。種々の実施形態では、サンプル領域 3 0 の埋設サンプル材料は、吸収層 3 0 のファイバなどの構造ユニット間に位置しうる。種々の実施形態では、サンプル領域 3 0 の埋設サンプル材料は、吸収層 3 0 のファイバなどの各構

10

20

30

40

50

造ユニット内に侵入しうる。

【 0 0 3 7 】

図 3 B を参照して、本出願人の教示による種々の実施形態では、疎水性材料を塗着した後の、サンプル組立体 ( 1 0 , 2 0 ) の略断面図が示される。このステップは、図 2 C の処理ステップに対応する。薄く多孔質の疎水性層 3 2 が、サンプルを覆いうる。

【 0 0 3 8 】

図 3 C を参照して、本出願人の教示による種々の実施形態では、少なくとも 1 つのデバイス 4 0 が、サンプル組立体 ( 1 0 , 2 0 ) の上部表面に近づけられうる。少なくとも 1 つのデバイス 4 0 は、サンプル組立体上に液体を分注し、サンプル組立体から液体を抽出するように構成される。薄い疎水性層は、溶媒が侵入し抽出されることを可能にするが、表面にわたる過剰の広がりを妨げる。少なくとも 1 つのデバイス 4 0 は、液体を分注し抽出する単一デバイスとすることができる、または、液体を分注しうる第 1 のデバイスおよび液体を抽出しうる第 2 のデバイスを備える複数のデバイスとすることができる。

【 0 0 3 9 】

種々の実施形態では、少なくとも 1 つのデバイス 4 0 は、液体抽出表面サンプリングプローブとすることができる。種々の実施形態では、液体抽出表面サンプリングプローブは、サンプル領域 3 0 に近接させられうる。種々の態様では、液体は、たとえば環状毛细管を通してサンプル領域 3 0 に給送されうる。通常、液体は、領域 3 0 内に埋設サンプルを溶解することが可能でありうる溶媒とすることができる。液体は、溶離溶媒または溶離剤と呼ばれる。サンプル領域 3 0 内の液体は、領域 3 0 内の埋設サンプルを溶解しうる。液体の圧力による埋設材料の溶解中のサンプル領域 3 0 は、本明細書で溶解サンプル領域 (dissolving sample region) 3 4 と呼ばれる。内部毛细管を通過し、溶解サンプル領域 3 4 から引き離される液体は、溶離液のストリームを形成する。溶離液の組成は、溶離剤の液体および埋設サンプル材料に起因する溶解された材料を含み、溶解されたサンプル材料を形成しうる。

【 0 0 4 0 】

液体微小接合表面サンプリングプローブは、液体微小接合表面サンプリングプローブの近位表面と吸収層 2 0 内のサンプルを覆う薄い疎水性層との間の液体微小接合界面を維持しながら、溶離液のストリームを提供するように構成されうる。液体微小接合表面サンプリングプローブの近位表面は、ハウジングの端部表面、または、抽出ステップ中に吸収層 2 0 の表面の近くに設置されうる環状毛细管を囲む外側チューブとすることができる。液体微小接合界面は、液体微小接合表面サンプリングプローブと溶解サンプル領域 3 4 を覆う吸収層 2 0 の上部表面との間に形成されうる。液体微小接合表面サンプリングプローブの動作中に、溶解されたサンプル材料を形成する埋設サンプル材料は、溶解サンプル領域 3 4 から抽出されうる。あるいは、液体微小接合表面サンプリングプローブは、シーリング表面サンプリングプローブ ( S S S P ) とすることができる。

【 0 0 4 1 】

液体抽出表面サンプリングプローブは、液体内に入れるための少なくとも 1 つの入口 ( 図示せず )、溶離剤のストリーム、および溶離液のストリームを出すための出口 ( 図示せず ) を含むうる。入口は、溶離剤のストリームが吸収層 2 0 に向かってそこを通して流れうる環状毛细管に連続して接続されうる。出口は、溶離液のストリームがそこを通して流れうる内部毛细管に連続して接続されうる。内部毛细管の端部は、質量分析計の大気圧イオン化源内に分注する出口とすることができる。

【 0 0 4 2 】

種々の実施形態では、少なくとも 1 つのデバイス 4 0 は、サンプル組立体上に液体を分注し、溶解したサンプル材料をサンプル組立体から引出すように構成されうる。種々の実施形態では、少なくとも第 1 のデバイスは、サンプル組立体上に液体を分注するように構成され、第 2 のデバイスは、溶解したサンプル材料をサンプル組立体 ( 1 0 , 2 0 ) から引出すように構成されうる。第 1 のデバイスおよび第 2 のデバイスは、独立に移動する 2 つの別個の部品とすることができる、または、両者は、動作前に、サンプル組立体 ( 1 0

、20)の上部表面に近づきうる同じプローブ上に搭載されうる。

【0043】

種々の実施形態では、少なくとも第1のデバイスは、図1Aに示すデバイスと同様に、サンプル組立体上に帯電した液滴のストリームを空圧で生成するように構成されうる。高速度の帯電した液滴は、サンプル材料に瞬間的に接触するかまたはサンプル表面に埋め込まれ、サンプル材料を溶解しうる。帯電した液滴は、微小液接合と同様の方式で、溶解したサンプル材料をサンプル表面から抽出し、サンプル表面から跳ね返ってイオン化デバイスに入りうる。

【0044】

図3Dを参照して、本出願人の教示による種々の実施形態では、抽出動作後の、サンプル組立体(10, 20)および少なくとも1つのデバイス40の近位端の略断面図が示される。吸収層20は、疎水性周囲部分22に横方向に接触する被分析エリア31を含みうる。液体の横方向拡散の程度は、抽出動作中に溶解サンプル領域34内で液体を横方向に囲むかまたはその他の方法で横方向に封じ込める疎水性周囲部分22によって制限される。したがって、抽出動作が終了すると、被分析エリアの全体は、実質的に異質材料がなくなりうる、すなわち、サンプル領域30が吸収層20内に形成される前の、吸収層20の元の材料と実質的に同じ組成物を有しうる。

【0045】

図4A~4Dの別の実施形態では、本出願人の教示による種々の実施形態では、サンプルウェル35は、たとえば図4Aに示すようにワックス層を側部バリア36と下部バリア37内にパターン化することによって、サンプルが添加される前に吸収材料内に形成されうる。サンプルは、ウェルに添加されると、図4Bに示すように一定容積まで満たし、過剰のサンプルは、バリアから溢れ、隣接する吸収エリアに広がりうる。過剰のサンプルが入手可能であるときに、一定の分析容積が得られ、サンプルの正確なピペット操作は実用的でない。図4Cでは、本出願人の教示による種々の実施形態では、付加的な疎水性バリア38は、サンプリングエリアを囲み、吸収モート39を生成しうる。図4Dに示すように、本出願人の教示による種々の実施形態では、過剰のサンプルは、サンプルウェル30から流出すると、閉じ込められ、吸収紙の他の領域へ広がるのをモート39によって防止されうる。

【0046】

図5A~5Eを参照して、本出願人の教示による種々の実施形態では、図3Cおよび図3Dの少なくとも1つのデバイス40は、サンプル組立体上に液体を分注し、サンプル組立体から液体を抽出するかまたは取出すように構成されたデバイスのセットに置換されうる。複数のサンプル組立体が、種々の実施形態で、順次分析されうる。

【0047】

種々の態様では、少なくとも1つのデバイスは、同時にまたは分注と抽出との間のある時間間隔を用いて、サンプル組立体上に液体を分注し、サンプル組立体から液体を抽出しうる。さらに、少なくとも1つのデバイスは、連続してまたは断続的にサンプル組立体上に液体を分注しうる。同様に、少なくとも1つのデバイスは、連続してまたは断続的にサンプル組立体から液体を抽出しうる。

【0048】

少なくとも1つの露出したウェルは、サンプル組立体内のサンプル領域からの溶解した材料の抽出のために使用される液体(抽出溶媒とすることができ)で満たされうる。動作時、表面サンプリングプロセスを始めるために、ロボットアームは、図5Aに示すように、伝導性ピペット先端をピックアップし、先端を、抽出溶媒を含むウェルの上の位置に移動させる。先端は、図5Bに示すようにウェル内に下げられ、液体が、先端内に吸引されうる。

【0049】

その後、ピペット先端は、サンプリングされるサンプル組立体の(図2Cのサンプル領域30に対応する)サンプル領域の上に配置されうる。液体の特定容積が、先端からサン

10

20

30

40

50

プル上に分注されうる。液体は、図 5 C に示すように、ピペット先端とサンプル組立体のサンプル領域の表面との間の液体接合を破壊することなく分注されうる。液体は、サンプル領域内に封じ込められうる。疎水性周囲部分 2 2 が存在するため、異種材料がない吸収部分 2 0 A (図 2 C 参照) へ吸収されることがない図 2 C のサンプル領域を参照されたい。こうした液体接合の直径は、通常直径が約 1 mm であるピペット先端の寸法のオーダとすることができる。先端と表面との距離および吸引され分注される容積は、それぞれの個々の表面について最適化されうる。

#### 【 0 0 5 0 】

溶解したサンプルを含む溶液は、その後、図 5 D に示すように、ピペットの先端に戻るよう吸引されうる。収集された液体、サンプル溶液は、図 5 E に示すナノスプレーノズルを通して噴霧されうる。質量分析計がナノスプレーのノズルに設けられる場合、関心の分析物の質量分析応答が、たとえば選択反応モニタリング (SRM) を使用して収集されうる。

#### 【 0 0 5 1 】

ロボットアームは、ウェルから引出され、エレクトロスプレーイオン化 (ESI) チップであるナノスプレーチップの背面にピペット先端を係合させうる。このチップは、20 ~ 500 nl / 分の流量で液体サンプルのナノエレクトロスプレーイオン化を生成する微小作製されたノズルを含む。ナノエレクトロスプレーは、ピペット先端に適切な高電圧を印加し、液体にガス圧を加えることによって始動されうる。必要である場合、各ノズルおよびピペット先端は、サンプルからサンプルへの持ち越しの可能性をなくすために、1 回だけ使用されうる。この実施形態の少なくとも 1 つのデバイス 40 の機械的構成要素は、Vilmosz Kertesz および Gary J. Van Berkel 著「Fully Automated Liquid Extraction-based Surface Sampling and Ionization Using a Chip-based Robotic Nanoelectrospray Platform」J. Mass. Spectrom. Vol. 45, Issue 3, Pages 252 - 260 (2009) に記載される。

#### 実施例

図 6 を参照して、第 1 の実施例では、本出願人の教示による疎水性材料コーティング済み吸収層は、未処理表面と比較される。未処理親水性順相高性能薄層クロマトグラフィ (HPTLC) プレート上の吸収済み水滴および疎水性コーティング処理済み順相 HPTLC プレート上の未吸収水滴は、中央の 2 つの水滴として示される。この実施例で疎水性コーティングを提供する材料はシリコンである。サンプル領域は、書字「OBMS」および「ORN L」を含むエリアに対応する。疎水性コーティングは、未処理プレートで示すように HPTLC プレートに吸収される代わりに、水滴が表面上に張り付くように、疎水性コーティング処理済み順相 HPTLC プレートの表面を疎水性にする。

#### 【 0 0 5 2 】

図 7 を参照して、本出願人の教示による疎水性コーティング処理済み吸収層の第 2 の実施例が示され、第 2 の実施例は、いくつかのサンプル領域を含む疎水性コーティング処理済み吸収剤清浄化組織 (Kim Wipes (登録商標)) である。疎水性コーティング周囲部分および疎水性層の形成は、処理済み吸収剤清浄化組織の表面を疎水性にする。液体抽出表面サンプリングプローブによって未処理吸収剤清浄化組織上でのサンプル領域を分析する試みは、吸収剤清浄化組織内での埋設材料の横方向外側への拡散をもたらしたが、疎水性コーティング処理済み吸収剤清浄化組織上の疎水性コーティング周囲部分は、液体がサンプル領域に塗着された後に埋設サンプル材料を横方向に封じ込め、それにより、液体抽出表面サンプリングプローブが、吸収剤清浄化組織内での横方向外側への拡散による損失なしで、埋設サンプル材料の全てを収集することを可能にする。

#### 【 0 0 5 3 】

図 8 を参照して、本出願人の教示による、疎水性コーティング処理済み収集層の第 3 の実施例が示され、第 3 の実施例は、疎水性コーティング処理済み血斑紙である。血斑紙は

、血液サンプルの分析のために広く使用されてきた。しかし、血斑紙の吸収性の性質のために、血斑紙内の埋設材料を疎水化処理なしの状態に置くことは、たとえば液体抽出表面サンプリングプローブを使用して溶離液を生成しようとして液体が塗着されると、埋設材料の横方向外側への拡散をもたらす。血斑紙に対する疎水性コーティング処理は、図 8 の疎水性コーティング処理済み吸収層によって示すように、血斑紙の表面を疎水性にする。血斑紙の表面が疎水性になると、疎水性コーティング処理済み血斑紙は、血斑紙内での横方向外側への拡散による、埋設サンプル材料、すなわち血液サンプルの喪失なしで、液体抽出表面サンプリングプローブを使用することによる分析を受けうる。

【 0 0 5 4 】

図 9 A ~ 9 G は、ゴールデンシール根抽出物のサンプルに関するクロマトグラフィから得られた現像後処理済み順相 H P T L C プレートの液体微小接合表面サンプルプローブスキャンからの種々の  $m/z$  設定における時間依存性読み出しである。ゴールデンシール根抽出物は、ゴールデンシール植物に由来する一般的なハーブ製品である。ゴールデンシール根抽出物は、ベルベリン、ヒドラスチン、およびヒドラスチニンなどの多くの化学物質を含む。高性能薄層クロマトグラフィ ( H P T L C ) ランは、親水性である順相 H P T L C プレートを使用してゴールデンシール根抽出物に関して実施された。順相 H P T L C プレートは、その後、順相 H P T L C プレートの表面が疎水性になるように、当出願人の教示の方法に従って、疎水性コーティングで処理された。順相 H P T L C プレートの各バンドは、液体抽出表面サンプリングプローブによる分析を受けた。

【 0 0 5 5 】

各バンドからの溶離液は、質量分析を受け、時間依存性のある読みが、各バンドの予想される組成に対応する所定の  $m/z$  設定で取得された。

第 1 の液体抽出表面サンプリングランが、疎水性コーティング処理済み順相 H P T L C プレート内の第 1 のバンドに関して実施されたとき、有意の強度の信号、すなわち背景レベルを十分に超える信号が、190 の  $m/z$  比において検出された。図 9 A は、第 1 のバンドに関する第 1 の液体抽出表面サンプリングランからの 190 の  $m/z$  設定における時間依存性読み出しを示す。図 9 A の x 軸は、第 1 の液体抽出表面サンプリングランの開始からの時間 ( 分単位 ) であり、y 軸は、質量分析計によって検出されるピーク強度 ( 任意の単位 ) である。190 の  $m/z$  設定は、ヒドラスチニン、ゴールデンシール根抽出物の化合物に対応する。

【 0 0 5 6 】

第 2 の液体抽出表面サンプリングランが、疎水性コーティング処理済み順相 H P T L C プレート内の第 2 のバンドに関して実施されたとき、有意の強度の信号が、384 の  $m/z$  比において検出された。図 9 B は、第 2 のバンドに関する第 2 の液体抽出表面サンプリングランからの 384 の  $m/z$  設定における時間依存性読み出しを示す。図 9 B の x 軸は、第 2 の液体抽出表面サンプリングランの開始からの時間 ( 分単位 ) であり、y 軸は、質量分析計によって検出されるピーク強度 ( 任意の単位 ) である。384 の  $m/z$  設定は、ヒドラスチン、ゴールデンシール根抽出物の化合物に対応する。

【 0 0 5 7 】

第 3 の液体抽出表面サンプリングランが、疎水性コーティング処理済み順相 H P T L C プレート内の第 3 のバンドに関して実施されたとき、有意の強度の信号が、338 の  $m/z$  比において検出された。図 9 C は、第 3 のバンドに関する第 3 の液体抽出表面サンプリングランからの 338 の  $m/z$  設定における時間依存性読み出しを示す。図 9 C の x 軸は、第 3 の液体抽出表面サンプリングランの開始からの時間 ( 分単位 ) であり、y 軸は、質量分析計によって検出されるピーク強度 ( 任意の単位 ) である。338 の  $m/z$  設定は、ジャトロロジン、ゴールデンシール根抽出物の化合物に対応する。

【 0 0 5 8 】

第 4 の液体抽出表面サンプリングランが、疎水性コーティング処理済み順相 H P T L C プレート内の第 4 のバンドに関して実施されたとき、有意の強度の信号が、352 の  $m/z$  比において検出された。図 9 C は、第 4 のバンドに関する第 3 の液体抽出表面サンプリ

ングランからの352のm/z設定における時間依存性読みを示す。図9Dのx軸は、第4の液体抽出表面サンプリグランの開始からの時間(分単位)であり、y軸は、質量分析計によって検出されるピーク強度(任意の単位)である。352のm/z設定は、ペルベラスチン、ゴールデンシール根抽出物の化合物に対応する。

【0059】

第5の液体抽出表面サンプリグランが、疎水性コーティング処理済み順相HPTLCプレート内の第5のバンドに関して実施されたとき、有意の強度の信号が、336のm/z比において検出された。図9Eは、第5のバンドに関する第5の液体抽出表面サンプリグランからの336のm/z設定における時間依存性読みを示す。図9Eのx軸は、第5の液体抽出表面サンプリグランの開始からの時間(分単位)であり、y軸は、質量分析計によって検出されるピーク強度(任意の単位)である。336のm/z設定は、ペルベリン、ゴールデンシール根抽出物の化合物に対応する。

10

【0060】

第6の液体抽出表面サンプリグランが、疎水性コーティング処理済み順相HPTLCプレート内の第6のバンドに関して実施されたとき、有意の強度の信号が、370のm/z比において検出された。図9Fは、第6のバンドに関する第6の液体抽出表面サンプリグランからの370のm/z設定における時間依存性読みを示す。図9Fのx軸は、第6の液体抽出表面サンプリグランの開始からの時間(分単位)であり、y軸は、質量分析計によって検出されるピーク強度(任意の単位)である。370のm/z設定は、カナダリン、ゴールデンシール根抽出物の化合物に対応する。

20

【0061】

第7の液体抽出表面サンプリグランが、疎水性コーティング処理済み順相HPTLCプレート内の第7のバンドに関して実施されたとき、有意の強度の信号が、340のm/z比において検出された。図9Gは、第7のバンドに関する第7の液体抽出表面サンプリグランからの340のm/z設定における時間依存性読みを示す。図9Gのx軸は、第7の液体抽出表面サンプリグランの開始からの時間(分単位)であり、y軸は、質量分析計によって検出されるピーク強度(任意の単位)である。340のm/z設定は、テトラヒドロペルベリン、ゴールデンシール根抽出物の化合物に対応する。

【0062】

要約すると、疎水性コーティング処理済み順相HPTLCプレート内のあるバンドに関する各液体抽出表面サンプリグランは、別のバンドの材料を抽出することなく、または、そのバンドの材料を外側に押出すことによって別のバンドを汚染することなく、うまくバンドの化学物質を抽出した。個々のバンドの各サンプルエリア内への液体、すなわち溶離溶媒の閉じ込めは、各バンドの周りの疎水性周囲部分の存在によって行われうる。そのため、当出願人の教示の疎水性コーティング方法は、液体抽出表面サンプリグランと組合せて使用されて、複数のサンプル領域が同じ吸収層上に存在するときに、感度の向上、サンプル喪失の減少、他のサンプル領域の汚染の削除を可能に示す。

30

【0063】

特許、特許出願、記事、本、条約文、およびウェブページを含むがそれらに限定されない、本出願で挙げられる全ての文献および同様の資料は、こうした文献および同様の資料の形式によらず、参照によりその全体が明示的に組込まれる。組込まれる文献および同様の資料の1つまたは複数が、限定はしないが定義される用語、用語使用法、述べられる技法、または同様なものを含む本出願と異なる、または、矛盾する場合、本出願がコントロールする。

40

【0064】

本出願人の教示が、特定の例証的な実施形態を参照して特に示され述べられたが、形態および詳細における種々の変更が、本教示の範囲および趣旨から逸脱することなく、行われることができることが理解されるべきである。したがって、本教示の範囲および趣旨内に入る全ての実施形態およびその等価物が特許請求される。本出願人の教示の方法の説明および線図は、その趣旨で述べられない限り、要素の述べられる順序に限定されるものと

50



して読まれるべきでない。

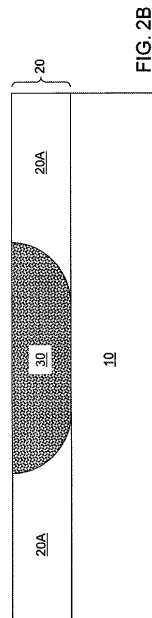
【 0 0 6 5 】

本出願人の教示が、種々の実施形態および実施例に関連して述べられたが、本出願人の教示がこうした実施形態または実施例に限定されることは意図されない。逆に、本出願人の教示は、当業者によって認識されるように、種々の代替物、変更物、および等価物を包含し、全てのこうした変更物または変形物は、本出願人の教示のスフィアおよび範囲内にあると思われる。

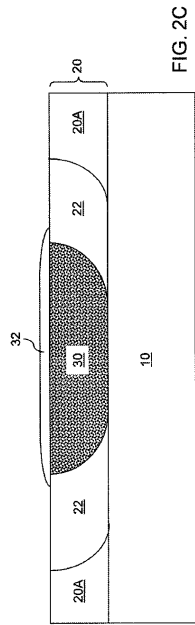
【 図 2 A 】



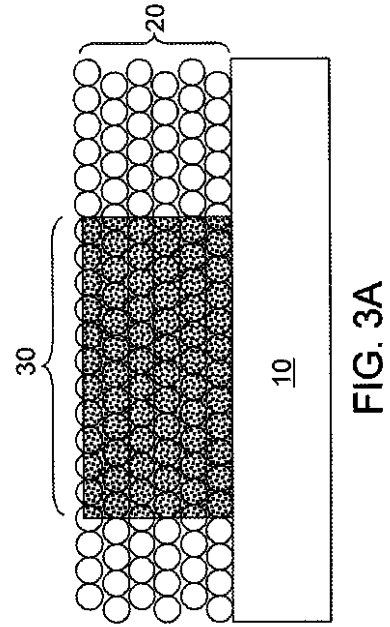
【 図 2 B 】



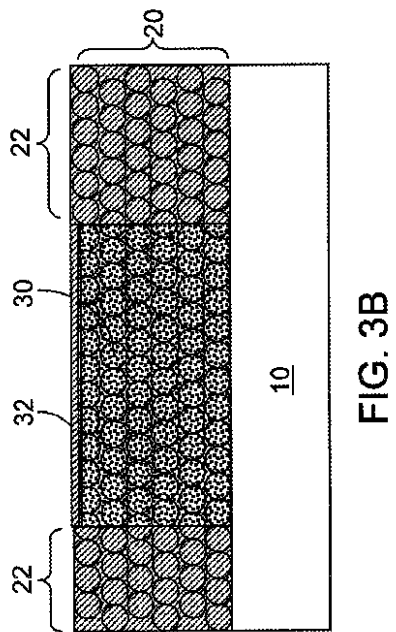
【図 2 C】



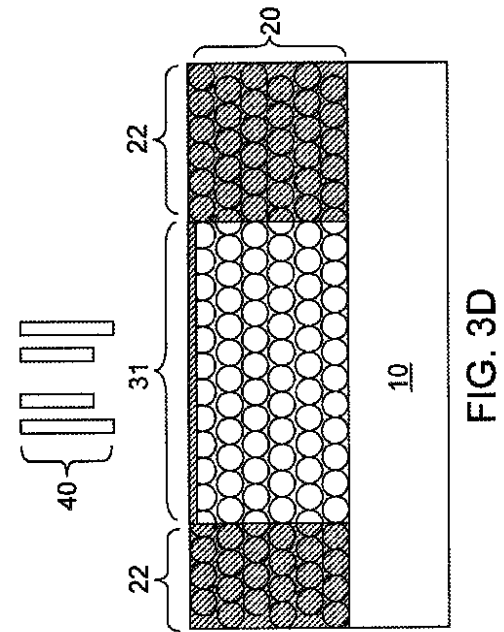
【図 3 A】



【図 3 B】



【図 3 D】



【図 4 A】

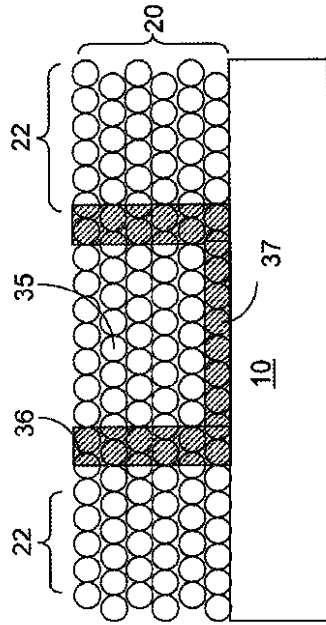


FIG. 4A

【図 4 B】

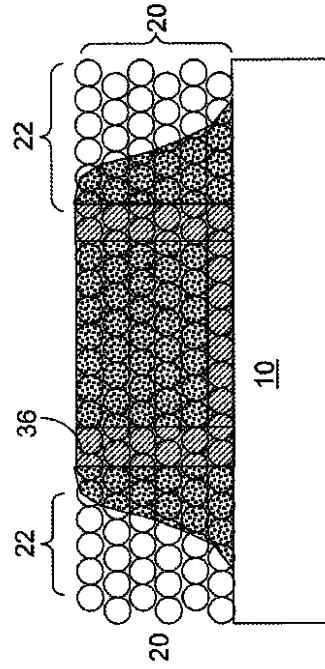


FIG. 4B

【図 4 C】

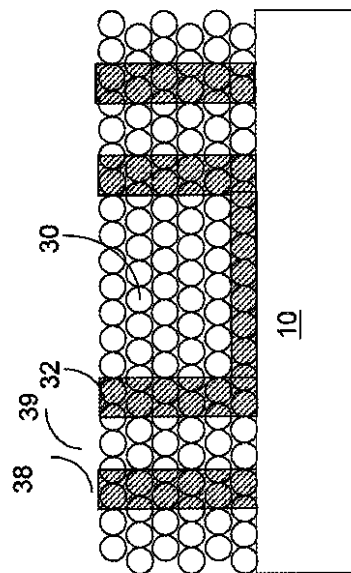


FIG. 4C

【図 4 D】

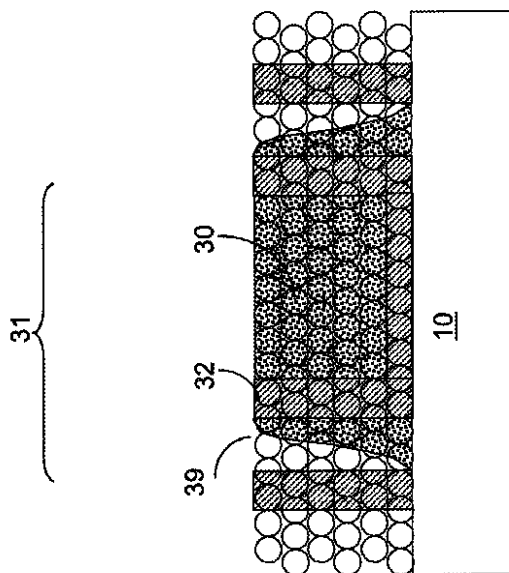


FIG. 4D

【図 5 E】

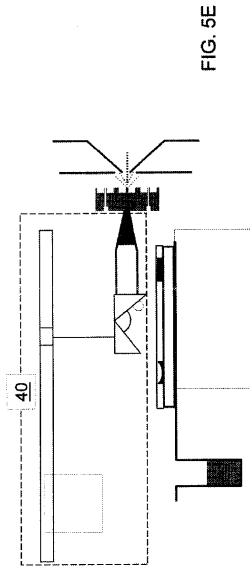


FIG. 5E

【図 7】



FIG. 7

【図 9 A】

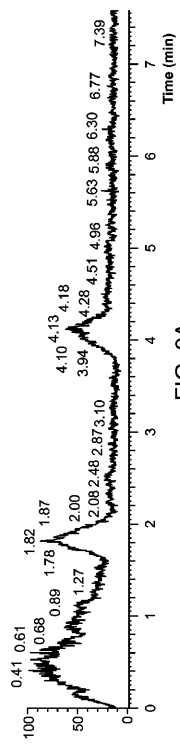


FIG. 9A

【図 8】

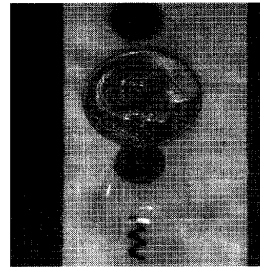


FIG. 8

【図 9 B】

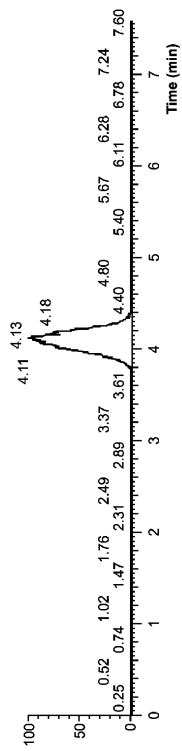


FIG. 9B

【 9 C 】

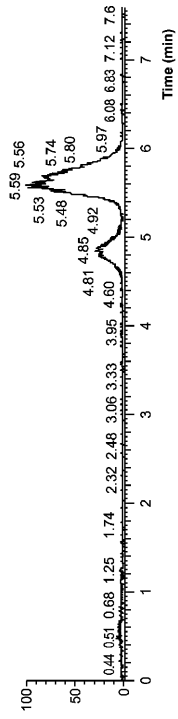


FIG. 9C

【 9 D 】

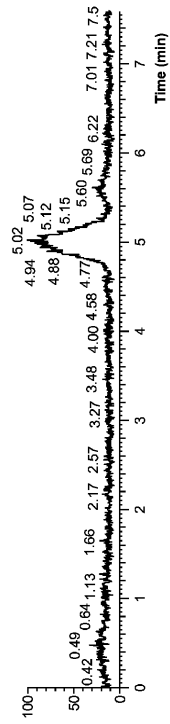


FIG. 9D

【 9 E 】

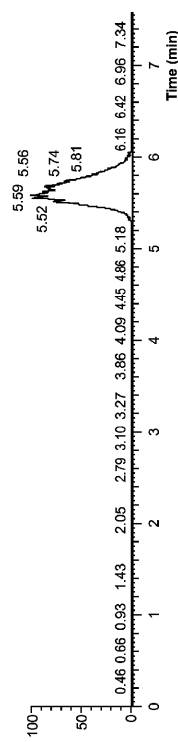


FIG. 9E

【 9 F 】

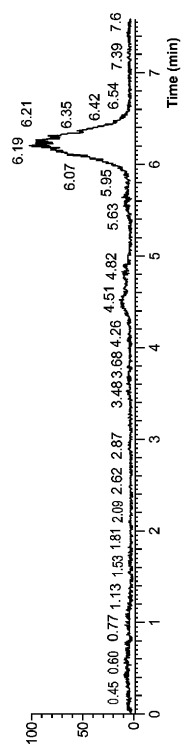


FIG. 9F

【 9 G 】

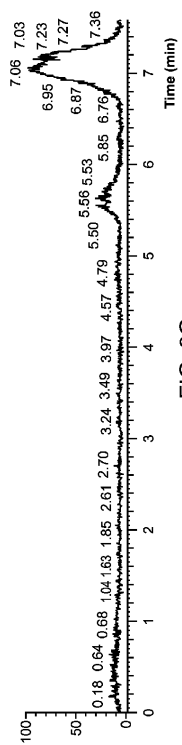
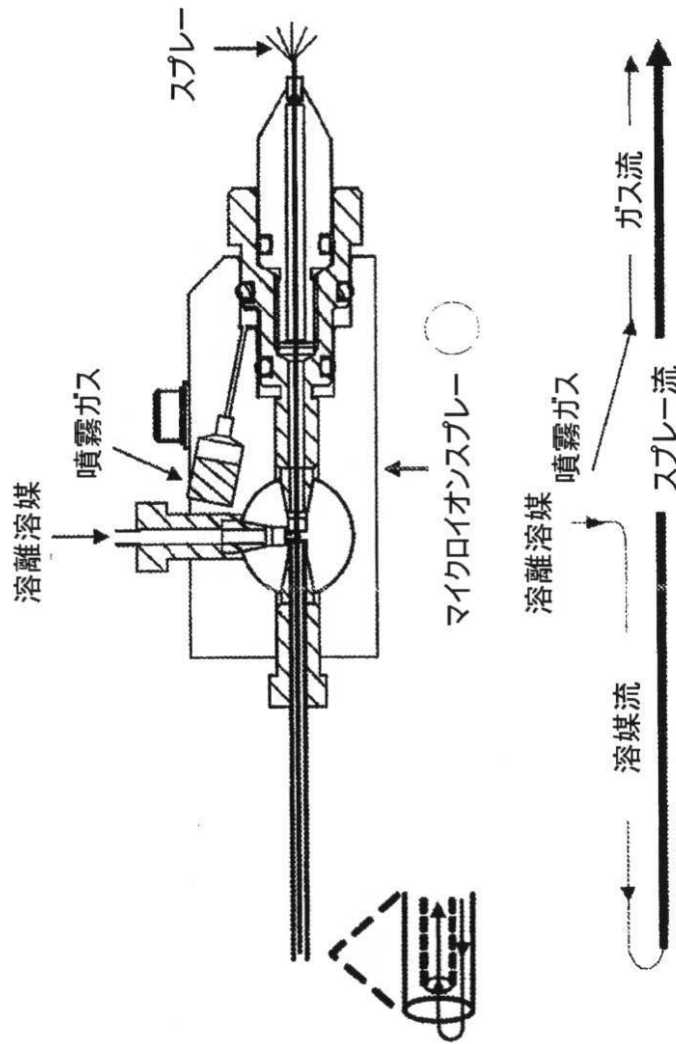
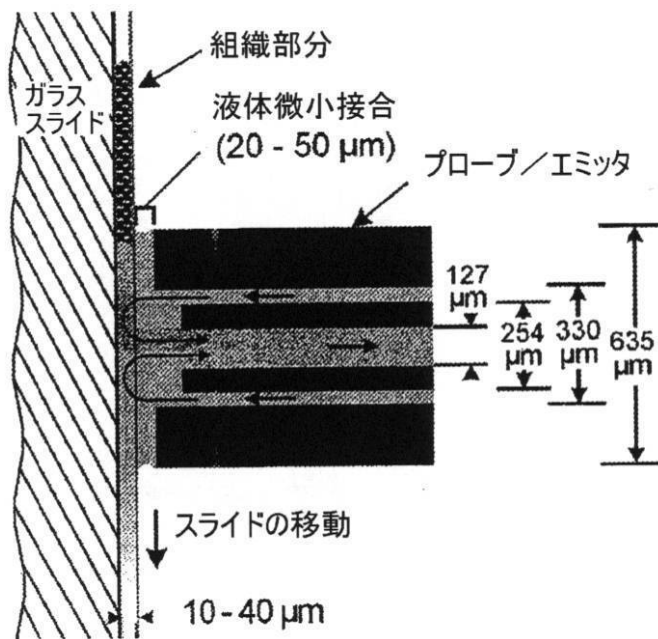


FIG. 9G

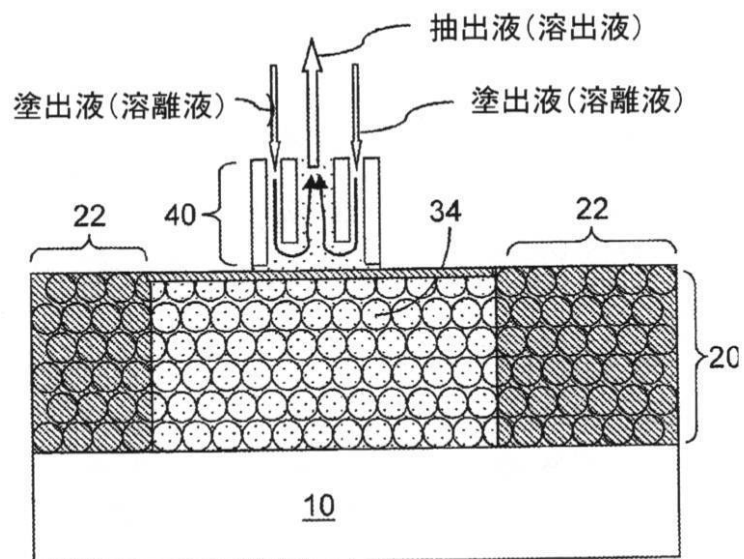
【図 1 A】



【図 1 B】

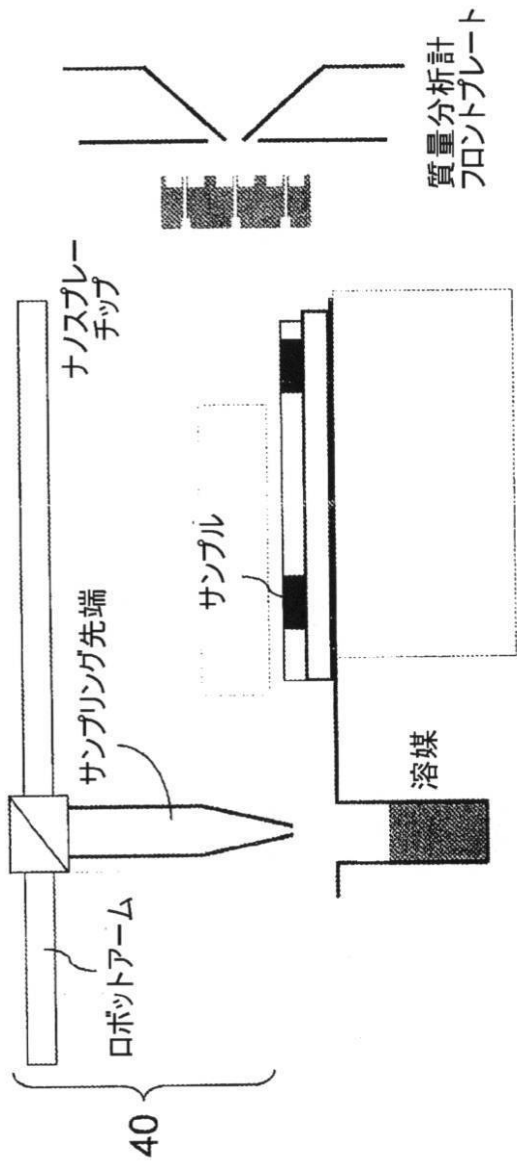


【図 3 C】

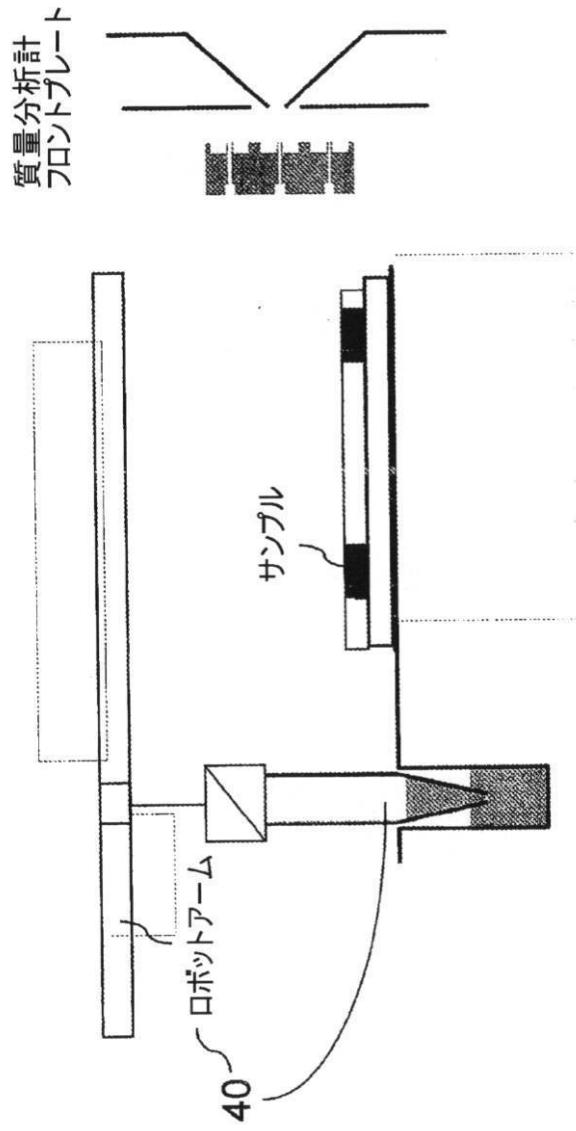




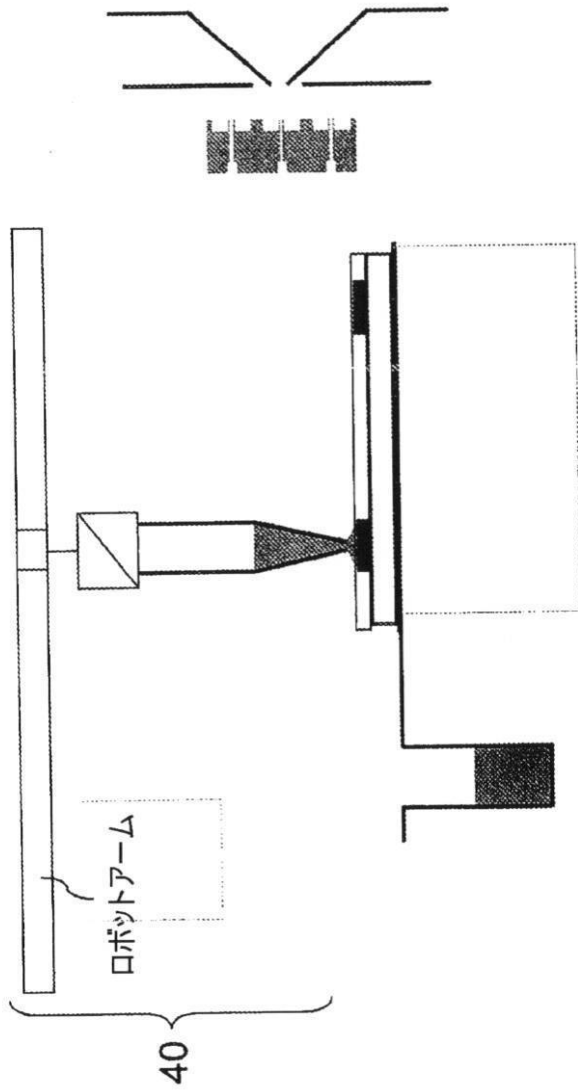
【図 5 A】



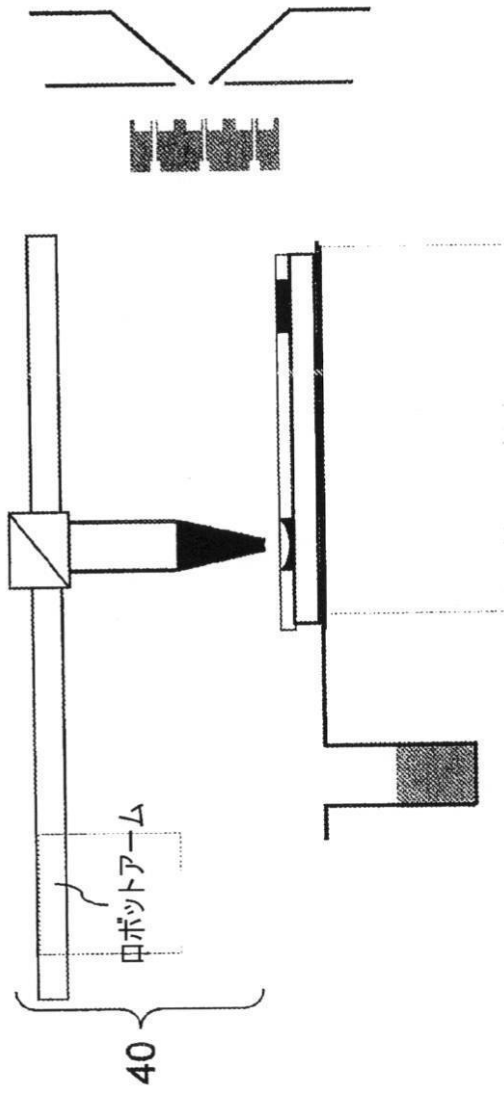
【図 5 B】



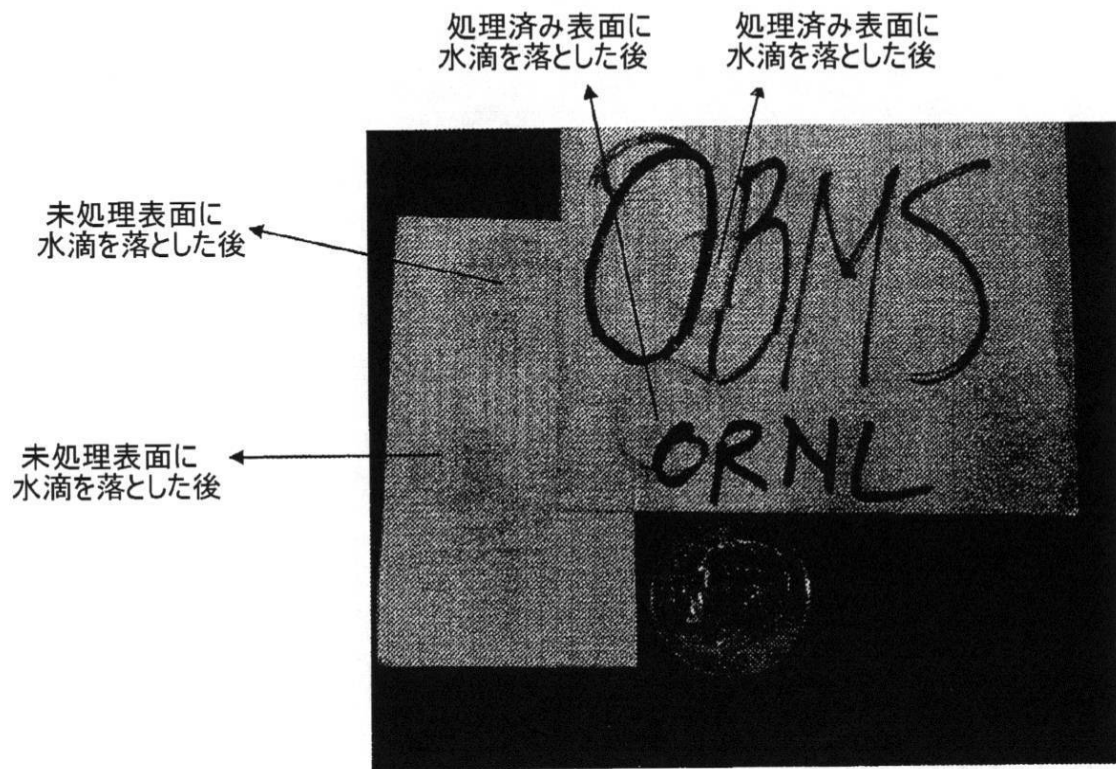
【図5C】



【図5D】



【図 6】



## フロントページの続き

(74)代理人 100105957

弁理士 恩田 誠

(74)代理人 100142907

弁理士 本田 淳

(72)発明者 バン バーケル、ゲイリー ジェイ、

アメリカ合衆国 37830 テネシー州 オーク リッジ ベイパス ドライブ 124

(72)発明者 コビー、トーマス

カナダ国 L4C 4M1 オンタリオ州 リッチモンド ヒル エルジン ミルズ ロード ウ  
エスト 187

審査官 野田 洋平

(56)参考文献 特表2005-523456(JP, A)

特開平11-304666(JP, A)

特開2004-184137(JP, A)

国際公開第2008/038507(WO, A1)

国際公開第2007/066518(WO, A1)

英国特許出願公開第01451599(GB, A)

BAILIN ZHANG, et al., ANALYTICAL CHEMISTRY, 米国, AMERICAN CHEMICAL SOCIETY, 2001  
年 6月 1日, Vol.73, No.11, Pages 2675-2681

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

G01N 1/00 - 1/44

G01N 27/62

G01N 35/02、35/10