

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl.

G01N 30/84 (2006.01)

G01N 30/80 (2006.01)

G01N 30/88 (2006.01)



[12] 发明专利说明书

专利号 ZL 200510003868.8

[45] 授权公告日 2007 年 11 月 21 日

[11] 授权公告号 CN 100350243C

[22] 申请日 2005.1.19

[21] 申请号 200510003868.8

[30] 优先权

[32] 2004. 1. 19 [33] JP [31] 009927/04

[73] 专利权人 株式会社岛津制作所

地址 日本京都市

[72] 发明人 岩田庸助 福田宏之

[56] 参考文献

US20010120860A1 2004. 1. 24

EP1262759A1 2004. 12. 4

CN2181689Y 1994. 11. 2

JP5 - 256749A 1993. 10. 5

W002096541A1 2002. 5. 12

Automated sample preparation/concentration of biological samples prior to analysis via MALDI - TOF mass spectroscopy. Joan Stevens et al. Gilson, No. 222. 2004

QSTAR PULSAR I 型串联四极杆飞行时间液质联用质谱仪简介及其应用. 赵和平等. 现代仪器, 第 2 期. 2004

蛋白质芯片及其分析应用新进展. 梁建功等. 分析化学, 第 32 卷第 2 期. 2004

审查员 陈 静

[74] 专利代理机构 北京市柳沈律师事务所

代理人 魏晓刚 李晓舒

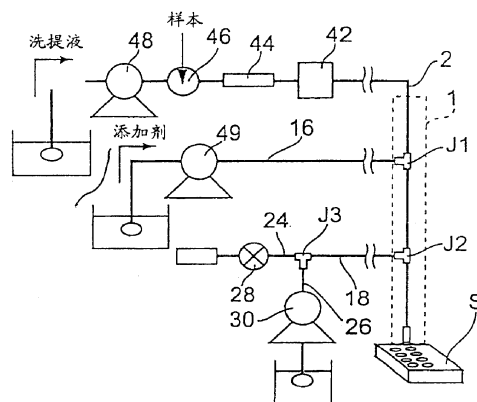
权利要求书 1 页 说明书 5 页 附图 2 页

[54] 发明名称

分离设备

[57] 摘要

本发明公开了一种分离设备, 其中, 取样器具具有三层管结构, 其中, 来自液相色谱仪的洗提液流过最内侧流道, 基质溶液流过最内侧流道外侧的流道, 而空气或丙酮流过最外侧流道。在分析之前, 流过丙酮来清洗在先前分析中沉积的基质化合物, 并清理取样器的尖端部分, 然后流过空气来蒸发清洗溶液。



1. 一种用于色谱法分析或质谱分析中的分离设备，包括：

取样器，用于将添加剂溶液与从液体供给机构提供的样本溶液一起从取样器的尖端部分滴到板上；

其中，所述取样器包括清洗溶液流道，用来将清洗溶液提供到所述取样器的所述尖端部分，而所述清洗溶液用来溶解来自所述添加剂溶液的沉积物；

所述取样器的尖端部分具有三层管结构，带有最内侧管、中间管和最外侧管，其中，所述样本溶液流过最内侧管，所述添加剂溶液流过最内侧管外侧的中间管，而最外侧管是所述清洗溶液流道。

2. 如权利要求 1 所述的分离设备，其中，所述取样器具有供气流动道，用来将气体供给到所述尖端部分，来干燥所述取样器的所述尖端部分。

3. 如权利要求 2 所述的分离设备，其中，所述最外侧管用作所述清洗溶液流道和所述供气流动道。

4. 如权利要求 1 所述的分离设备，其中，所述添加剂溶液是基质化合物溶液，用来制备样本，该样本要通过基质辅助的激光解吸离子化质谱分析法来加以分析，所述清洗溶液是溶解所述基质化合物的有机溶剂。

5. 如权利要求 1 所述的分离设备，其中，所述液体供给机构是液相色谱仪。

分离设备

技术领域

本发明涉及一种分离设备，该设备包括一取样器，用来将从液体供给机构，如 HPLC（高性能液相色谱仪）提供的样本液体与添加剂溶液一起从取样器的尖端部分滴到如微量培养板或采样板(sample plate)的板上以移动一样本，其中，分离设备制备要由 MALDI-TOF-MS（基质辅助的激光解吸离子化度越时间质谱分析法）分析的样本。

背景技术

在用于说明蛋白质或肽的结构或作用的蛋白分析领域中，近年来受到关注的MALDI-TOF-MS 被用来进行分析。MALDI-TOF-MS 是这样一种方法，即：向生物样本中加入基质溶液，并干燥它而得到样本，然后将激光束施加到样本上使之离子化，并进行质谱分析，其中，所使用的样本量只有几 μL 那么少。

可溶解脂肪的材料被用作基质化合物，并且基质溶液是通过将基质化合物高浓度溶解在溶剂中而制得。基质化合物非常易于溶解在乙腈的有机溶剂中。然而，在生物样本由液相色谱仪分离并洗提的情况下，基质溶液同时添加，并且样本溶液为了分离而滴下，分离时间通常是 10 分钟或更长。由于高浓度的基质溶液在取样器尖端部分处一直与大气接触，随着时间消逝而溶剂蒸发，从而基质化合物沉积在取样器的尖端部分处。

当基质化合物沉积在取样器的尖端部分处时，取样器的尖端部分与采样板之间的距离不能保持恒定，并且不能确定滴落位置，由此难于形成均匀一致的液滴。

此外，从 HPLC 分离并洗提的测量成分被吸收到所沉积的基质中，使得分析不正确。

因此，在现有技术中，在为了分离而滴下之前，取样器的尖端部分利用圆筒(cylinder)由丙酮溶液手工清洗，以便去除沉积在取样器尖端部分处的基质化合物。

在分离操作之前手工清洗取样器尖端部分的工作非常繁琐，并且可操作性较差。

发明内容

因此，本发明的目的是提供一种分离设备，该分离设备在加入添加剂溶液时自动洗去取样器尖端部分处的沉积物。

本发明提供了一种分离设备，其包括取样器，该取样器用来将从诸如液相色谱仪的液体供给机构所提供的样本液体与添加剂溶液一起从取样器的尖端部分滴到板上。在分离设备中，取样器包括清洗溶液流道，用来供给清洗溶液，该清洗溶液随时溶解自添加剂溶液沉积到尖端部分的沉积物。

在优选的方式中，取样器的尖端部分具有三层管结构，其中，样本溶液流过最内侧管，添加剂溶液流过其外侧的中间管，而最外侧的管是清洗溶液流道。取样器可以具有供气流动道，用于向尖端部分提供气体，以随时干燥尖端部分。

在这种情况下优选形式中，取样器的尖端部分具有三层管结构，其中，取样液体流过最内侧管，添加剂溶液流过其外侧的中间管，而最外侧管用作清洗溶液流道和供气流动道。

添加剂溶液的一个示例是基质化合物的溶液，该溶液用来制备要通过带有基质辅助的激光解吸离子化的质谱分析来进行分析的样本，其中，清洗溶液是溶解基质化合物的有机溶剂。

在这个发明中，由于提供了清洗溶液流道来向取样器的尖端部分提供清洗溶液，自动去除了沉积在取样器尖端部分处的基质化合物。

对于用布去除在尖端部分残留的清洗溶液的方法，布可能会与取样器相接触，而偏移取样器的位置，并使得滴注位置不精确。然而，如果从取样器的尖端部分吹气来干燥和蒸发残留在取样器尖端部分处的清洗溶液，那么在清洗后，液滴的滴注位置不会偏移，并因此可以均匀地分离生物样本。

附图说明

图 1 是示出根据本发明一个实施例的液相色谱仪分离设备的示意图；

以及

图 2 是示出本实施例中的取样器的详细结构的纵向横截面图。

具体实施方式

下面将描述本发明的一个实施例。

高性能液相色谱仪包括用于提供洗提液的泵 48；用于喷射样本的喷射器 46；用于分离样本成分的柱管(column)；以及探测器 42，该探测器沿着洗提液的流道设置。用于滴注液滴的取样器 1 经毛细管 2 连接到探测器 42 的下游。

取样器 1 包括 T 形三通接头 J1 和 J2，其中，下游接头 J1 连接用来提供洗提液的毛细管 2 以及用于提供基质溶液的管 16，而下游接头 J2 连接毛细管 2 和用于提供空气和作为清洗溶液的丙酮的管 18，其中，在取样器 1 排出一侧上的尖端部分形成一个三层管结构。

洗提液由泵 48 提供，而样本从喷射器 46 喷出。从喷射器 46 喷出的样本由柱管 44 针对每种成分分离，并由探测器 42 探测。洗提液穿过毛细管 2，从取样器 1 滴注到采样板 S 上并记录(captured)。

加入到洗提液中的添加剂的一个示例是基质溶液。基质化合物的示例包括烟酸、2-吡嗪羧酸、芥子酸(3,5-二甲氧基-4-羟基肉桂酸)、2,5-二羟基苯甲酸、5-甲氧基水杨酸、 α -氰基-4-羟基肉桂酸(CHCA)、3-羟基吡啶甲酸、二氨基萘、2-(4-羟苯偶氮基)苯甲酸、dislanol、琥珀酸、5-(三氟甲基)尿嘧啶、和甘油。

用来溶解基质化合物的清洗溶液可以是有机溶剂，如丙酮或乙腈。

在此，例如，基质溶液采用饱和的溶液(10mg/mL)，其中，CHCA(α -氰基-4-羟基肉桂酸)由水和乙腈的混合溶液溶解，并且清洗溶液采用丙酮。

基质溶液由泵 49 通过连接到毛细管 2 上的管 16、经 T 形三通接头 J1 供给，流到毛细管 2 的外侧，并与包含样本成分的洗提液一起从取样器 1 的尖端部分滴注。

空气供给管 24 和清洗溶液供给管 26 由 T 形三通接头 J3 连接，并且作为公共流道的管 18 连接到洗提液流过的毛细管 2 以及基质溶液通过其经 T 形三通接头 J2 流过的管上，由此空气和清洗溶液进一步流动到基质

溶液流过的管的外侧。清洗溶液例如采用丙酮。

阀 28 连接到空气供给管 24 上，其中，空气的供给是通过阀 28 的开启和关闭予以控制的。泵 30 设置在清洗溶液供给管 26 内，由此在泵 30 工作的作用下，丙酮的清洗溶液通过清洗溶液供给管 26 提供到取样器 1 上。

在从液相色谱仪滴注洗提液时，基质溶液与洗提液一起从取样器 1 的尖端部分滴落到采样板 S 上。在滴注液体之后，基质化合物可能会沉积在取样器 1 的尖端部分上，由此将丙酮的清洗溶液通过清洗溶液供给管 26 提供到取样器 1 的尖端部分处，来清洗取样器 1 的尖端部分。为了在清洗取样器 1 的尖端部分后防止清洗溶液残留到尖端部分上，阀 28 开启，而将空气提供到取样器 1 的尖端部分，并蒸发残留在取样器 1 的尖端部分上的清洗溶液。

图 2 是示出本实施例中取样器的详细结构的纵向横截面图。

在上游一侧上第一 T 形三通接头 J1 的两个非正交的接头 a 和 b 由最细的毛细管 2 穿过，而来自高性能液相色谱仪的洗提液通过该毛细管 2 供给。在上游一侧的接头 a 经套管 12 由管接头 10a（如公螺母）紧密密封。

T 形三通接头 J1 的正交接头 c 连接到流过基质溶液的管 16，并由管接头 10c（如公螺母）紧密密封。在最细的毛细管 2 从其穿过的接头 b 中，毛细管 4 以一定间隙覆盖在毛细管 2 上，并且经套管 22 由诸如公螺母的管接头 10b 紧密密封。

毛细管 2 和 4 从上游一侧的接头插入到下游一侧的 T 形三通接头 J2 中，并且经套管 32 由诸如公螺母的管接头 20a 紧密密封。正交于毛细管 2 和 4 的接头 c 连接到用于提供空气和丙酮清洗溶液的管 18 上，并由诸如公螺母的管接头 20c 紧密密封。在最下游一侧上的接头 b 中，管 8 以一定间隙覆盖在毛细管 2 和 4 之上，并由诸如公螺母的管接头 20b 紧密密封。

来自接头 a 的空气供给管 24、从接头 b 连接到 T 形三通接头 J2 的管 18、以及来自接头 c 的清洗溶液供给管 26 插入到位于 T 形三通接头 J2 侧向的 T 形三通接头 J3 中，并由诸如公螺母的管接头 30a、30b 和 30c 紧密密封。

空气供给管 24 设置有阀 28，由此通过开启或关闭阀 28，打开或关闭空气向取样器尖端部分的提供。清洗溶液供给管 26 设置有泵 29，由此通

过管 18 向取样器 1 的尖端部分提供丙酮可以通过开始或终止泵 29 的操作来予以打开或关闭。

由于基质溶液是这样一种溶液，其中脂溶性物质的基质化合物以高浓度溶解在溶剂中，如果样本由液相色谱仪分解和洗提，同时加入基质溶液，并且样本溶液为了分离而滴注，基质溶液与大气接触，并且溶剂在取样器的尖端部分处蒸发，从而基质化合物沉积在取样器的尖端部分处。

从而，在分析结束后或下一个分析开始之前，起动泵 29，以例如提供 200 μ L 的丙酮，由此来清洗取样器 1 的尖端部分。由泵 29 提供的丙酮流经用来与双管和取样器 1 的三层管之间的干燥蒸发气体管线相连接的 T 形接头 J3，以洗去固定到取样器 1 的尖端部分上的基质化合物。此后，干燥蒸发气阀 28 开启，而蒸发掉残留的丙酮。

在这个实施例中，空气供给管 24 和清洗溶液供给管 26 利用 T 形接头手工连接，其中，优选的是调节流道阻力来防止丙酮的清洗溶液回流到气阀 28。例如，空气供给管 24 可以具有 0.1mm 的内径和大约 100mm 的长度。

代替 T 形接头 J3，可以采用三通电磁阀，在这种情况下，不需要考虑清洗溶液回流到气阀 28 中。

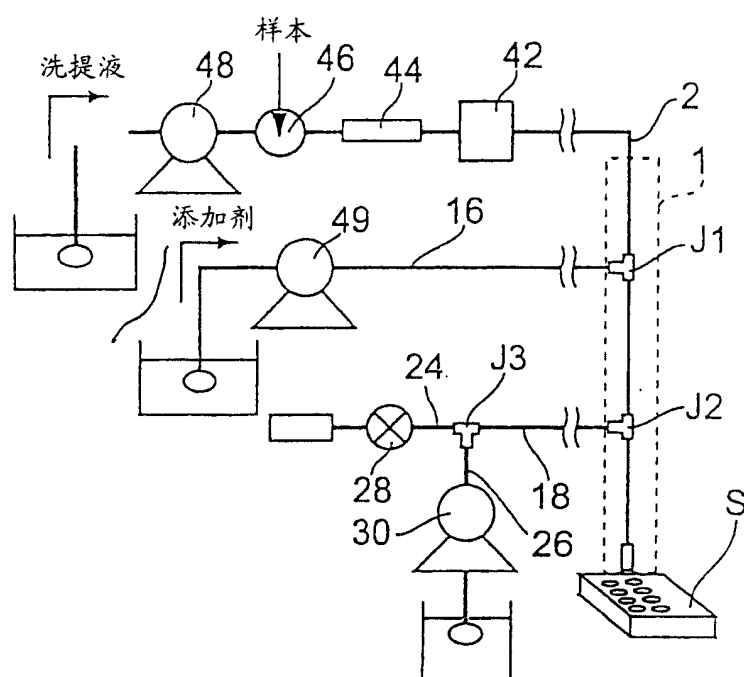


图 1

