(19)日本国特許庁(JP)　(12)特　許　公　報(B2)　(11)特許番号

特許第5671523号
(P5671523)

(45)発行日　平成27年2月18日(2015.2.18)　(24)登録日　平成26年12月26日(2014.12.26)

(51)Int.Cl.		F I		
H01J 49/10	(2006.01)	H01J	49/10	
H01J 49/26	(2006.01)	H01J	49/26	
G01N 27/62	(2006.01)	G01N	27/62	F

請求項の数 40　(全 48 頁)

(21)出願番号	特願2012-508672 (P2012-508672)
(86)(22)出願日	平成22年4月29日 (2010.4.29)
(65)公表番号	特表2012-525687 (P2012-525687A)
(43)公表日	平成24年10月22日 (2012.10.22)
(86)国際出願番号	PCT/US2010/032881
(87)国際公開番号	WO2010/127059
(87)国際公開日	平成22年11月4日 (2010.11.4)
審査請求日	平成25年3月21日 (2013.3.21)
(31)優先権主張番号	61/308,332
(32)優先日	平成22年2月26日 (2010.2.26)
(33)優先権主張国	米国(US)
(31)優先権主張番号	61/174,215
(32)優先日	平成21年4月30日 (2009.4.30)
(33)優先権主張国	米国(US)

(73)特許権者　598063203
パーデュー・リサーチ・ファウンデーション
ＰＵＲＤＵＥ　ＲＥＳＥＡＲＣＨ　ＦＯＵＮＤＡＴＩＯＮ
アメリカ合衆国・インディアナ州　４７９０６－４１８２・ウエスト　ラファイエット・ウィン　ヘンチェル　ブルーヴァード　１２８１
(74)代理人　100078282
弁理士　山本　秀策
(74)代理人　100062409
弁理士　安村　高明
(74)代理人　100113413
弁理士　森下　夏樹

最終頁に続く

(54)【発明の名称】濡れた多孔質材料を用いるイオン生成

(57)【特許請求の範囲】

【請求項１】

少なくとも１つの平板状の多孔質材料であって、前記少なくとも１つの平板状の多孔質材料の少なくとも１つの先端部は徐々に細くなっており、前記１つの平板状の多孔質材料は高電圧源に接続されており、前記多孔質材料は溶媒の流れとは分離している、少なくとも１つの平板状の多孔質材料と、

質量分析器と

を備える質量分析システム。

【請求項２】

前記多孔質材料は、紙またはＰＶＤＦ膜である、請求項１に記載のシステム。

【請求項３】

前記紙は、濾紙である、請求項２に記載のシステム。

【請求項４】

前記濾紙は、三角形の小片として形作られる、請求項３に記載のシステム。

【請求項５】

前記多孔質材料は、円錐形状を持つ、請求項１に記載のシステム。

【請求項６】

前記多孔質材料は、ゲルである、請求項１に記載のシステム。

【請求項７】

前記平板状の多孔質材料は、複数の先端部を備える、請求項１に記載のシステム。

【請求項８】
スプレーを発生させる前記先端部は、前記平板状の多孔質材料の他の先端部より小さい角度を持つ、請求項７に記載のシステム。
【請求項９】
前記多孔質材料に付けられた溶媒をさらに備える、請求項１に記載のシステム。
【請求項１０】
前記溶媒は、前記多孔質材料中を通るサンプルの輸送を支援する、請求項９に記載のシステム。
【請求項１１】
前記溶媒は、内部標準を含む、請求項９に記載のシステム。
【請求項１２】
前記溶媒は、異なった化学的特性を持つサンプル成分の差異的な保持を可能にする、請求項９に記載のシステム。
【請求項１３】
前記溶媒は、塩およびマトリックス効果を最小限に抑える、請求項９に記載のシステム。
【請求項１４】
前記溶媒は、選択された検体のオンラインの化学的誘導体化を可能にする、請求項９に記載のシステム。
【請求項１５】
前記質量分析器は、質量分析計またはハンドヘルド型質量分析計用である、請求項１に記載のシステム。
【請求項１６】
前記質量分析器は、四重極子イオントラップ、直線構成イオントラップ、円筒状イオントラップ、イオンサイクロトロン共鳴トラップ、オービトラップ、飛行時間、フーリエ変換イオンサイクロトロン共鳴、およびセクター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１７】
サンプルを分析するための方法であって、前記方法は、
サンプルを少なくとも１つの平板状の多孔質材料に接触させることであって、前記少なくとも１つの平板状の多孔質材料の少なくとも１つの先端部は徐々に細くなっており、前記多孔質材料は、溶媒の流れから隔てられた状態に保たれる、こと；
前記多孔質材料から排出される前記サンプル中の検体のイオンを発生させるために、前記多孔質材料に高電圧を印加すること；および
前記排出されたイオンを分析すること
を含む、方法。
【請求項１８】
前記多孔質材料に溶媒を付けることをさらに含む、請求項１７に記載の方法。
【請求項１９】
前記サンプルは、液体である、請求項１７に記載の方法。
【請求項２０】
前記サンプルは、固体である、請求項１７に記載の方法。
【請求項２１】
前記サンプルは、化学種または生物学的種である、請求項１７に記載の方法。
【請求項２２】
前記多孔質材料は、ゲルであり、前記サンプルは、オリゴヌクレオチドまたはポリヌクレオチドである、請求項１７に記載の方法。
【請求項２３】
前記溶媒は、前記多孔質材料中を通る前記サンプルの輸送を支援する、請求項１８に記載の方法。

【請求項２４】
前記溶媒は、内部標準を含む、請求項１８に記載の方法。
【請求項２５】
前記溶媒は、異なった化学的特性を持つサンプル成分の差異的な保持を可能にする、請求項１８に記載の方法。
【請求項２６】
前記溶媒は、塩およびマトリックス効果を最小限に抑える、請求項１８に記載の方法。
【請求項２７】
前記溶媒は、選択された検体のオンラインの化学的誘導体化を可能にする、請求項１８に記載の方法。
【請求項２８】
前記多孔質材料は、紙またはＰＶＤＦ膜である、請求項１７に記載の方法。
【請求項２９】
分析することは、前記サンプル中の検体の質量スペクトルを発生させるために質量分析器を提供することを含む、請求項１７に記載の方法。
【請求項３０】
前記高電圧によって発生した電界は、前記多孔質材料中を通る前記サンプルの輸送を支援する、請求項１７に記載の方法。
【請求項３１】
前記溶媒は、前記多孔質材料の表面を被う薄い液膜を形成する、請求項１８に記載の方法。
【請求項３２】
前記高電圧によって発生した電界は、前記薄い液膜中の前記検体の輸送を支援する、請求項３１に記載の方法。
【請求項３３】
サンプルをイオン化する方法であって、前記方法は、前記サンプル中の検体のイオンを発生させるために、少なくとも１つの平板状の多孔質材料に高電圧を印加することであって、前記少なくとも１つの平板状の多孔質材料の少なくとも１つの先端部は徐々に細くなっている、ことを含み、前記多孔質材料は、溶媒の流れとは分離している、方法。
【請求項３４】
前記多孔質材料は、紙またはＰＶＤＦ膜である、請求項３３に記載の方法。
【請求項３５】
質量分析プローブであって、
固体先端部と統合された少なくとも１つの多孔質材料を備え、前記プローブは高電圧源に接続されており、前記プローブは溶媒の流れとは分離している、質量分析プローブ。
【請求項３６】
前記少なくとも１つの多孔質材料は、複数の多孔質材料である、請求項３５に記載のプローブ。
【請求項３７】
サンプルを分析するための方法であって、該方法は、
固体先端部と統合された少なくとも１つの多孔質材料を含むプローブにサンプルを接触させることであって、該プローブは、溶媒の流れとは隔てられた状態に保たれる、こと；
前記固体先端部から排出される前記サンプル中の検体のイオンを発生させるために、前記プローブに高電圧を印加すること；および
前記排出されたイオンを分析すること
を含む、方法。
【請求項３８】
前記多孔質材料に溶媒を付けることをさらに含む、請求項３７記載の方法。
【請求項３９】
前記溶媒は、前記多孔質材料の前記表面を被う薄い液膜を形成する、請求項３７に記載

の方法。
【請求項４０】
前記少なくとも１つの多孔質材料は、複数の多孔質材料である、請求項３７に記載の方法。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
（関連出願）
本願は、米国仮特許出願第６１／１７４，２１５号（２００９年４月３０日出願）、米国仮特許出願第６１／２４６，７０７号（２００９年９月２９日出願）、および米国仮特許出願第６１／３０８，３３２号（２０１０年２月２６日出願）に対する優先権を主張する。これらの仮特許出願の内容はその全体が、参照により本明細書中に援用される。
【０００２】
（技術分野）
本発明は、一般にサンプルの質量分析分析のためのシステムおよび方法に関する。
【背景技術】
【０００３】
質量分析法は、分析化学、特に生命科学の重要な研究および応用に用いられる非常に高感度の分析方法である。エレクトロスプレーイオン化（ＥＳＩ：ｅｌｅｃｔｒｏｓｐｒａｙ　ｉｏｎｉｚａｔｉｏｎ）は、溶液相における分子のイオン化用として最もよくキャラクタライズされ、かつ最も効率的な方法であると一般に見做されている。このプロセスは、便宜上、３つの段階：液滴形成、液滴蒸発およびイオン形成に分けることができる（非特許文献１）。質量分析計のプローブ中を流れる溶液に強い電界を印加したときに、プローブの先端部にテイラーコーンが形成され、結果として小さい液滴のミストがコーンの先端部から放出される。自由な液滴の蒸発とクーロン力とに起因して、サンプル検体のイオンが生成される。このイオンが質量分析計に入り、その後、分析される。
【０００４】
多種類のサンプルの分析にＥＳＩを使用しうるためには、依然としてサンプル調製が必要なステップであることが、ＥＳＩでは問題である。ＥＳＩ質量分析法によってサンプルを分析する前に、サンプルは、サンプルを精製するため、例えば、塩および洗浄剤を除去するための抽出および濾過プロトコルを受けることになるであろう。かかるプロトコルは、複雑で時間がかかり、費用もかかる。さらにまた、精製プロセス中に使用される試薬が、精製されたサンプルにおける標的検体のその後の分析を阻害することもありうる。加えて、溶液状でないサンプルは、ＥＳＩ分析前に、精製のみならず溶解もされなければならない。
【０００５】
最近になって、大気イオン化の概念が発展し、現在、この大気イオン化ファミリーは、脱離エレクトロスプレーイオン化（ＤＥＳＩ：ｄｅｓｏｒｐｔｉｏｎ　ｅｌｅｃｔｒｏｓｐｒａｙ　ｉｏｎｉｚａｔｉｏｎ）およびリアルタイム直接分析（ＤＡＲＴ：ｄｉｒｅｃｔ　ａｎａｌｙｓｉｓ　ｉｎ　ｒｅａｌ　ｔｉｍｅ）のような、２０を超えるメンバーを有する。質量分析法による大気イオン化は、多くの、またはいかなるサンプル調製および／または予備分離もなしに、周囲環境下において、濃縮相サンプルから検体をイオン化することを可能にして、複合混合物および生物学的サンプルのリアルタイムかつｉｎ　ｓｉｔｕの分析に解決策を提供する。これらの大気イオン化法は、生命科学、環境モニタリング、法医学的応用および治療用分析における質量分析の革新を先導し、かつ拡大している。しかしながら、上記の大気イオン化技術では、サンプルの分析に圧縮空気の支援、溶媒の連続流、および高圧電源が依然として必要とされる。
【０００６】
サンプル調製と前処理とを組み合わせうるシステムおよび方法、ならびにサンプルの分析に圧縮空気の支援も溶媒の連続流も必要としない、サンプルを質量分析するためのイオ

ン化プロセスに対する満たされていないニーズが存在する。
【先行技術文献】
【非特許文献】
【０００７】
【非特許文献１】Ｇａｓｋｅｌｌ，Ｓ．Ｊ．Ｊｏｕｒｎａｌ　ｏｆ　Ｍａｓｓ　Ｓｐｅｃｔｒｏｍｅｔｒｙ　１９９７，３２，６７７－６８８
【発明の概要】
【課題を解決するための手段】
【０００８】
本発明は、一般に、質量分析分析のために、流体および固体サンプルからイオンを発生させる新規のシステムおよび方法に関する。液体を保持して移動させるために、濾紙または同様の材料のような、多孔質材料が用いられ、この材料に高電圧が印加されたときに、材料の端部から直接にイオンが生成される。多孔質材料は、溶媒の流れとは分離した（すなわち、とは別の、または切り離された）状態に保たれる。あるいは、多孔質材料上にサンプルがスポットされるか、または多孔質材料が濡らされて、サンプルを含んだ表面を拭き取るために用いられる。スポットされるか、または拭き取られたサンプルを含む多孔質材料は、次に濡らされ、かつ高電圧源に接続されて、サンプルのイオンを生成し、その後、これらのイオンが分析される。サンプルは、別個の溶媒流の必要なしに、多孔質材料中を輸送される。
【０００９】
本発明のデバイスおよび方法は、サンプルの質量分析に必要なイオン化プロセスを、サンプル調製および前処理と組み合わせる。本発明のデバイスおよび方法は、生体液および組織などの複合マトリックスにおける、未処理の生物学的サンプル中の化学物質を、サンプル調製なしに、迅速かつ直接に分析することを可能にする。特定の実施形態において、本発明のデバイスおよび方法は、血液または尿の乾燥スポットを分析することを可能にする。
【００１０】
本発明の様態は、高電圧源に接続された多孔質材料であって、溶媒の流れとは分離している多孔質材料を含む質量分析プローブを提供する。例となる多孔質材料は、紙、例えば濾紙、またはＰＶＤＦ膜を含む。多孔質材料は、任意の形状とすることができる。ある実施形態において、多孔質材料は、三角形の小片として提供される。
【００１１】
ある実施形態において、プローブは、離散量の溶媒、例えば、多孔質材料に付けられた液滴（単数または複数）をさらに含む。溶媒は、液滴（単数または複数）として、多孔質材料を濡らすのに十分な量が付けられる。多孔質材料に付けられたときに、溶媒は、多孔質材料中を通るサンプルの輸送を支援することができる。溶媒は、内部標準を含むことができる。溶媒／基材の組み合わせによって、異なった化学的特性を持つサンプル成分の差異的な保持が可能になる。ある実施形態において、溶媒は、塩およびマトリックス効果を最小限に抑える。他の実施形態において、溶媒は、選択された検体のオンラインの化学的誘導体化を可能にする化学試薬を含む。
【００１２】
本発明の別の様態は、高電圧源に接続された多孔質材料であって、溶媒の流れから隔てられた状態に置かれた多孔質材料を含んだプローブ；および質量分析器を含む、サンプル材料を分析するためのシステムを提供する。質量分析器は、ベンチトップ型質量分析計またはハンドヘルド型質量分析計の質量分析器とすることができる。例となる質量分析器は、四重極イオントラップ、直線状イオントラップ、円筒状イオントラップ、イオンサイクロトロン共鳴トラップおよびオービトラップを含む。
【００１３】
本発明の別の様態は、サンプルを多孔質材料に接触させることであって、多孔質材料は、溶媒の流れから隔てられた状態に保たれる、接触させること；多孔質材料から排出され

るサンプル中の検体のイオンを発生させるために、多孔質材料に高電圧を印加すること；および、排出されたイオンを分析することを含んだ、サンプルを分析するための方法を含む。本方法は、離散量の溶媒、例えば、液滴（単数または複数）を多孔質材料に付けることをさらに含むことができる。ある実施形態において、分析することは、サンプル中の検体の質量スペクトルを発生させるために、質量分析器を提供することを含む。

【００１４】

ある実施形態において、サンプルは液体である。他の実施形態において、サンプルは固体である。サンプルが固体である実施形態において、サンプルを表面から拭き取るために、多孔質材料を用いることができる。固体が拭き取られる前かまたは後に、多孔質材料に溶媒を付けることができる。例となるサンプルは、化学種または生物学的種を含む。

【００１５】

本発明の別の様態は、サンプルをイオン化する方法であって、サンプル中の検体のイオンを発生させるために、多孔質材料に高電圧を印加することを含み、多孔質材料は、溶媒流から隔てられたままである方法を提供する。例となる多孔質材料は、紙またはＰＶＤＦ膜を含む。

【図面の簡単な説明】

【００１６】

【図１Ａ】図１Ａは、エレクトロスプレーイオン化のために紙片に供給されるサンプル溶液の図面である。

【図１Ｂ】図１Ｂは、紙上に予めスポットされるサンプル溶液、およびエレクトロスプレーイオン化のために、次に紙に供給される溶媒の液滴の図面である。

【図２Ａ】図２Ａは、本発明のプローブを用いた、ヘロイン（濃度：１ｐｐｍ、容量：１０μｌ、溶媒：ＭｅＯＨ／H_2O／ＨＯＡｃ（５０：４９：１，ｖ／ｖ／ｖ）のＭＳスペクトルである。

【図２Ｂ】図２Ｂは、ヘロイン（濃度：１ｐｐｂ、容量：１０μｌ、溶媒：ＭｅＯＨ／H_2O／ＨＯＡｃ（５０：４９：１，ｖ／ｖ／ｖ）のＭＳ／ＭＳスペクトルである。

【図３Ａ】図３Ａは、本発明のプローブを用いた、カフェイン（濃度：１０ｐｐｍ、容量：１０μｌ、溶媒：ＭｅＯＨ／H_2O／ＨＯＡｃ（５０：４９：１，ｖ／ｖ／ｖ）のＭＳスペクトルである。

【図３Ｂ】図３Ｂは、カフェイン（濃度：１０ｐｐｂ、容量：１０μｌ、溶媒：ＭｅＯＨ／H_2O／ＨＯＡｃ（５０：４９：１，ｖ／ｖ／ｖ）のＭＳ／ＭＳスペクトルである。

【図４Ａ】図４Ａは、本発明のプローブを用いた、ベンゾイルエクゴニン（濃度：１０ｐｐｍ、容量：１０μｌ、溶媒：ＭｅＯＨ／H_2O／ＨＯＡｃ（５０：４９：１，ｖ／ｖ／ｖ）のＭＳスペクトルである。

【図４Ｂ】図４Ｂは、ベンゾイルエクゴニン（濃度：１０ｐｐｂ、容量：１０μｌ、溶媒：ＭｅＯＨ／H_2O／ＨＯＡｃ（５０：４９：１，ｖ／ｖ／ｖ）のＭＳ／ＭＳスペクトルである。

【図５Ａ】図５Ａは、本発明のプローブを用いた、セリン（濃度：１ｐｐｍ、容量：１０μｌ、溶媒：ＭｅＯＨ／H_2O／ＨＯＡｃ（５０：４９：１，ｖ／ｖ／ｖ）のＭＳスペクトルである。

【図５Ｂ】図５Ｂは、セリン（濃度：１００ｐｐｂ、容量：１０μｌ、溶媒：ＭｅＯＨ／H_2O／ＨＯＡｃ（５０：４９：１，ｖ／ｖ／ｖ）のＭＳ／ＭＳスペクトルである。

【図６Ａ】図６Ａは、本発明のプローブを用いた、ペプチド・ブラジキニン２－９（濃度：１０ｐｐｍ、容量：１０μｌ、溶媒：ＭｅＯＨ／H_2O／ＨＯＡｃ（５０：４９：１，ｖ／ｖ／ｖ）のＭＳスペクトルである。

【図６Ｂ】図６Ｂは、ブラジキニン２－９（濃度：１ｐｐｍ、容量：１０μｌ、溶媒：ＭｅＯＨ／H_2O／ＨＯＡｃ（５０：４９：１，ｖ／ｖ／ｖ）のＭＳ／ＭＳスペクトルである。

【図７Ａ】図７Ａは、「スポット」法によって全血サンプルからヘロインを検出できることを示すＭＳ／ＭＳスペクトルである。

【図７Ｂ】図７Ｂは、ヘロインのない血液スポットのＭＳ／ＭＳスペクトルを示す。
【図８Ａ】図８ＡのＭＳ／ＭＳスペクトルは、「スポット」法によって、未処理の尿サンプルからヘロインを検出できることを示す。
【図８Ｂ】図８Ｂは、ヘロインのない尿スポットのＭＳ／ＭＳスペクトルを示す。
【図９Ａ】図９Ａは、コーラ飲料からサンプル調製なしに検出されたカフェインを示すＭＳスペクトルである。
【図９Ｂ】図９Ｂは、コーヒー粉末から検出されたカフェインを示すＭＳスペクトルである。紙の薄片を用いて表面を拭き取ることによって、コーヒーバッグからコーヒー粉末が採集された。
【図１０Ａ】図１０は、サンプル調製なしの尿分析のＭＳスペクトルを示し、図１０Ａは、コーヒーを消費したヒトからの尿にカフェインが検出されたことを示すＭＳスペクトルである。
【図１０Ｂ】図１０は、サンプル調製なしの尿分析のＭＳスペクトルを示し、図１０Ｂは、コーヒーを消費しなかったヒトからの尿にカフェインが検出されなかったことを示すＭＳスペクトルである。
【図１１Ａ】図１１は、同じパラメータ（約２ｋＶ、溶媒：ＭｅＯＨ：H_2O＝１：１）を用いた、（Ａ）三角紙および（Ｂ）ＰＶＤＦ膜上でのペプチド分析（１０ｐｐｍのブラジキニン２－９）間の違いを示すＭＳスペクトルである。
【図１１Ｂ】図１１は、同じパラメータ（約２ｋＶ、溶媒：ＭｅＯＨ：H_2O＝１：１）を用いた、（Ａ）三角紙および（Ｂ）ＰＶＤＦ膜上でのペプチド分析（１０ｐｐｍのブラジキニン２－９）間の違いを示すＭＳスペクトルである。
【図１２Ａ】図１２は、４種類の植物のスライス組織を用いた、植物組織の直接的なＭＳスペクトルを示す。（Ａ）タマネギ、（Ｂ）スプリング・オニオン、ならびに２つの異なった葉（Ｃ）および（Ｄ）。
【図１２Ｂ】図１２は、４種類の植物のスライス組織を用いた、植物組織の直接的なＭＳスペクトルを示す。（Ａ）タマネギ、（Ｂ）スプリング・オニオン、ならびに２つの異なった葉（Ｃ）および（Ｄ）。
【図１２Ｃ】図１２は、４種類の植物のスライス組織を用いた、植物組織の直接的なＭＳスペクトルを示す。（Ａ）タマネギ、（Ｂ）スプリング・オニオン、ならびに２つの異なった葉（Ｃ）および（Ｄ）。
【図１２Ｄ】図１２は、４種類の植物のスライス組織を用いた、植物組織の直接的なＭＳスペクトルを示す。（Ａ）タマネギ、（Ｂ）スプリング・オニオン、ならびに２つの異なった葉（Ｃ）および（Ｄ）。
【図１３Ａ】図１３は、ビタミンＣのＭＳ／ＭＳスペクトルを示し、図１３Ａは、サンプル調製なしのタマネギの直接分析。
【図１３Ｂ】図１３は、ビタミンＣのＭＳ／ＭＳスペクトルを示し、図１３Ｂは、標準液を使用。
【図１４Ａ】図１４Ａは、紙上の乾燥血液スポット分析を示す絵である；０．４μＬの全血が、クロマトグラフィ用紙の三角形の切片（典型的に高さ１０ｍｍ、底辺５ｍｍ）に直接に付けられる。銅クリップが、紙の切片をＬＴＱ質量分析計（Ｔｈｅｒｍｏ　Ｆｉｓｈｅｒ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ，Ｓａｎ　Ｊｏｓｅ，ＣＡ）の注入口前に保持し、１０μＬのメタノール／水（１：１　ｖ／ｖ）で濡らした紙に直流電圧（４．５ｋＶ）が印加される。
【図１４Ｂ】図１４Ｂは、イマチニブ（ＧＬＥＥＶＥＣ）の分子構造と、４μｇ／ｍＬのイマチニブを含んだ０．４μＬの全血のペーパースプレー・タンデム型質量スペクトルとを示す。イマチニブは、ＭＳ／ＭＳトランジション　ｍ／ｚ　４９４□ｍ／ｚ　３９４（挿入図）によって同定され、かつ定量化される（挿入図）。
【図１４Ｃ】図１４Ｃは、イマチニブ（６２.５～４μｇ／ｍＬ）およびそのアイソトポマーのイマチニブ－ｄ８（１μｇ／ｍＬ）を加えた全血の定量分析を示す。挿入図のプロットは、低濃度範囲を示す。

【図１５】図１５は、アンジオテンシンＩ溶液のペーパースプレー質量スペクトルである。挿入図は、質量範囲６３０～７００にわたる拡大図を示す。
【図１６】図１６は、本発明のプローブによる動物組織中のホルモンの直接分析を示す質量スペクトルである。
【図１７Ａ】図１７Ａは、ヒト前立腺腫瘍組織の直接分析を示す質量スペクトラムである。
【図１７Ｂ】図１７Ｂは、ヒト前立腺正常組織の直接分析を示す質量スペクトラムである。
【図１８】図１８は、１０μｇ／ｍＬのアテノロールを加えた全血の質量スペクトルである。データは、本発明のシステムおよび方法をハンドヘルド型質量分析計と組み合わせることによって得られた。
【図１９Ａ】図１９Ａ～Ｆは、６つの異なった種類の紙（異なった細孔サイズを持つワットマン濾紙：（ａ）３μｍ）、（ｂ）４～７μｍ、（ｃ）８μｍ、（ｄ）１１μｍ、（ｅ）グラスファイバ紙、（ｆ）クロマトグラフィ紙）からスプレーされたコカインの質量スペクトルを示す。スプレー電圧は、４．５ｋＶであった。
【図１９Ｂ】図１９Ａ～Ｆは、６つの異なった種類の紙（異なった細孔サイズを持つワットマン濾紙：（ａ）３μｍ）、（ｂ）４～７μｍ、（ｃ）８μｍ、（ｄ）１１μｍ、（ｅ）グラスファイバ紙、（ｆ）クロマトグラフィ紙）からスプレーされたコカインの質量スペクトルを示す。スプレー電圧は、４．５ｋＶであった。
【図１９Ｃ】図１９Ａ～Ｆは、６つの異なった種類の紙（異なった細孔サイズを持つワットマン濾紙：（ａ）３μｍ）、（ｂ）４～７μｍ、（ｃ）８μｍ、（ｄ）１１μｍ、（ｅ）グラスファイバ紙、（ｆ）クロマトグラフィ紙）からスプレーされたコカインの質量スペクトルを示す。スプレー電圧は、４．５ｋＶであった。
【図１９Ｄ】図１９Ａ～Ｆは、６つの異なった種類の紙（異なった細孔サイズを持つワットマン濾紙：（ａ）３μｍ）、（ｂ）４～７μｍ、（ｃ）８μｍ、（ｄ）１１μｍ、（ｅ）グラスファイバ紙、（ｆ）クロマトグラフィ紙）からスプレーされたコカインの質量スペクトルを示す。スプレー電圧は、４．５ｋＶであった。
【図１９Ｅ】図１９Ａ～Ｆは、６つの異なった種類の紙（異なった細孔サイズを持つワットマン濾紙：（ａ）３μｍ）、（ｂ）４～７μｍ、（ｃ）８μｍ、（ｄ）１１μｍ、（ｅ）グラスファイバ紙、（ｆ）クロマトグラフィ紙）からスプレーされたコカインの質量スペクトルを示す。スプレー電圧は、４．５ｋＶであった。
【図１９Ｆ】図１９Ａ～Ｆは、６つの異なった種類の紙（異なった細孔サイズを持つワットマン濾紙：（ａ）３μｍ）、（ｂ）４～７μｍ、（ｃ）８μｍ、（ｄ）１１μｍ、（ｅ）グラスファイバ紙、（ｆ）クロマトグラフィ紙）からスプレーされたコカインの質量スペクトルを示す。スプレー電圧は、４．５ｋＶであった。
【図２０Ａ】図２０Ａは、ペーパースプレーの空間分布をキャラクタライズするための図式的なセットアップを示す。
【図２０Ｂ】図２０Ｂは、質量分析計の注入口に対して、プローブがｘ－ｙ面内で移動したときのｍ／ｚ　３０４の相対強度を示す２次元等高線図である。
【図２０Ｃ】図２０Ｃは、コカイン溶液を異なった濃度または容量で紙上に添着するか、あるいはテフロン（登録商標）膜でシールしたときのｍ／ｚ　３０４の信号継続時間を示すグラフである。
【図２１Ａ】図２１は、純粋な化学溶液のＭＳスペクトルとそれらに対応するＭＳ／ＭＳスペクトルとの一組である。スペクトルは、（Ａ）セリン、（Ｂ）メタドン、（Ｃ）ロキシスロマイシン、および（Ｄ）ブラジキニン２－９に対して得られた。
【図２１Ｂ】図２１は、純粋な化学溶液のＭＳスペクトルとそれらに対応するＭＳ／ＭＳスペクトルとの一組である。スペクトルは、（Ａ）セリン、（Ｂ）メタドン、（Ｃ）ロキシスロマイシン、および（Ｄ）ブラジキニン２－９に対して得られた。
【図２１Ｃ】図２１は、純粋な化学溶液のＭＳスペクトルとそれらに対応するＭＳ／ＭＳスペクトルとの一組である。スペクトルは、（Ａ）セリン、（Ｂ）メタドン、（Ｃ）ロキ

シスロマイシン、および（Ｄ）ブラジキニン２－９に対して得られた。
【図２１Ｄ】図２１は、純粋な化学溶液のＭＳスペクトルとそれらに対応するＭＳ／ＭＳスペクトルとの一組である。スペクトルは、（Ａ）セリン、（Ｂ）メタドン、（Ｃ）ロキシスロマイシン、および（Ｄ）ブラジキニン２－９に対して得られた。
【図２２－１】図２２は、複雑な混合物からの化学物質の分析とサンプル調製なしの表面からの直接分析とを示す一連の質量スペクトルであり、図２２Ａは、（Ａ）正モードにおいて紙上で直接に分析されたコカコーラ（コーラ飲料）の質量スペクトルである。図２２Ｂは、（Ｂ）負モードにおいて紙上で直接に分析されたコカコーラ（コーラ飲料）の質量スペクトルである。図２２Ｃは、カフェインの質量スペクトルである。図２２Ｄは、安息香酸カリウムの質量スペクトルである。図２２Ｅは、アセスルファムカリウムの質量スペクトルである。図２２Ｆは、尿から検出されたカフェインの質量スペクトルである。図２２Ｇは、そのときの発明のプローブによる表面の拭き取り後に、デスクトップ表面から直接に検出されたヘロインの質量スペクトルである。
【図２２－２】図２２は、複雑な混合物からの化学物質の分析とサンプル調製なしの表面からの直接分析とを示す一連の質量スペクトルであり、図２２Ａは、（Ａ）正モードにおいて紙上で直接に分析されたコカコーラ（コーラ飲料）の質量スペクトルである。図２２Ｂは、（Ｂ）負モードにおいて紙上で直接に分析されたコカコーラ（コーラ飲料）の質量スペクトルである。図２２Ｃは、カフェインの質量スペクトルである。図２２Ｄは、安息香酸カリウムの質量スペクトルである。図２２Ｅは、アセスルファムカリウムの質量スペクトルである。図２２Ｆは、尿から検出されたカフェインの質量スペクトルである。図２２Ｇは、そのときの発明のプローブによる表面の拭き取り後に、デスクトップ表面から直接に検出されたヘロインの質量スペクトルである。
【図２２－３】図２２は、複雑な混合物からの化学物質の分析とサンプル調製なしの表面からの直接分析とを示す一連の質量スペクトルであり、図２２Ａは、（Ａ）正モードにおいて紙上で直接に分析されたコカコーラ（コーラ飲料）の質量スペクトルである。図２２Ｂは、（Ｂ）負モードにおいて紙上で直接に分析されたコカコーラ（コーラ飲料）の質量スペクトルである。図２２Ｃは、カフェインの質量スペクトルである。図２２Ｄは、安息香酸カリウムの質量スペクトルである。図２２Ｅは、アセスルファムカリウムの質量スペクトルである。図２２Ｆは、尿から検出されたカフェインの質量スペクトルである。図２２Ｇは、そのときの発明のプローブによる表面の拭き取り後に、デスクトップ表面から直接に検出されたヘロインの質量スペクトルである。
【図２３Ａ】図２３Ａは、血液分析に用いられる本発明のプローブの画像を示す。この実施形態において、多孔質材料は紙である。左側のパネルは、全血でスポットする前である。中央のパネルは、全血でスポットして、スポットを乾燥させた後である。右側のパネルは、紙にメタノールを加えて紙の中を進ませた後である。右側のパネルは、メタノールが、血液スポットと相互作用して、イオン化および分析のために、検体を紙の先端部へ進ませたことを示す。
【図２３Ｂ】図２３Ｂは、全血からのアテノロールの質量スペクトルである。
【図２３Ｃ】図２３Ｃは、全血からのヘロインの質量スペクトルである。
【図２４－１】図２４は、ＴＬＣによって分離された２つの色素、メチレンブルー（ｍ／ｚ　２８４）およびメチルバイオレット（ｍ／ｚ　３５８．５）の分析を示す。色素の混合溶液（０．１μｌの１ｍｇ／ｍＬ溶液）が、ＴＬＣおよびペーパースプレーＭＳ分析前に、クロマトグラフィ紙（４ｃｍ×０．５ｃｍ）に付けられ、乾燥された。
【図２４－２】図２４は、ＴＬＣによって分離された２つの色素、メチレンブルー（ｍ／ｚ　２８４）およびメチルバイオレット（ｍ／ｚ　３５８．５）の分析を示す。色素の混合溶液（０．１μｌの１ｍｇ／ｍＬ溶液）が、ＴＬＣおよびペーパースプレーＭＳ分析前に、クロマトグラフィ紙（４ｃｍ×０．５ｃｍ）に付けられ、乾燥された。
【図２４－３】図２４は、ＴＬＣによって分離された２つの色素、メチレンブルー（ｍ／ｚ　２８４）およびメチルバイオレット（ｍ／ｚ　３５８．５）の分析を示す。色素の混合溶液（０．１μｌの１ｍｇ／ｍＬ溶液）が、ＴＬＣおよびペーパースプレーＭＳ分析前

に、クロマトグラフィ紙（４ｃｍ×０．５ｃｍ）に付けられ、乾燥された。
【図２５】図２５は、本発明のプローブのための様々な形状、厚さ、および角度を示す。図２５Ａは、鋭さを示す。図２５Ｂは、先端部の角度を示す。図２５Ｃは、紙の厚さを示す。図２５Ｄは、複数のスプレー先端部を持つデバイスを示す。図２５Ｅは、鋭い針で作製されたマイクロスプレー先端部を持つＤＢＳカードを示す。
【図２６】図２６は、円錐状Ｃ４ジップチップからの直接スプレーを用いた、ヒト血清からのイマチニブの一連の質量スペクトルである。イマチニブを含んだヒト血清サンプル（各１．５μＬ）が、多孔質のＣ４抽出材料中を３回通され、その後、スプレーを生成するために４ｋＶの正の直流電圧が印加され、ジップチップ上に３μＬのメタノールが加えられた。図２６Ａは、５μｇ／ｍＬに対するＭＳスペクトルを示す。図２６Ｂは、５ｎｇ／ｍＬに対するＭＳ／ＭＳスペクトルを示す。
【図２７Ａ】図２７Ａは、本発明のプローブのための様々な先端角度を示す写真である。角度は、左から右へそれぞれ３０、４５、９０、１１２、１２６度である。
【図２７Ｂ】図２７Ｂは、ＭＳ信号強度に対する角度の影響を示すグラフである。すべてのＭＳ信号は、９０度の先端部を用いたＭＳ信号に規格化された。
【図２８Ａ】図２８Ａは、本発明の高スループットプローブ・デバイスの写真である。
【図２８Ｂ】図２８Ｂは、デバイスの１つの先端部から質量分析計の注入口中へのスプレーを示す。
【図２８Ｃ】図２８Ｃは、高スループット・モードにおけるＭＳ信号強度を示す一連の質量スペクトルである。
【図２９Ａ】図２９Ａは、本発明のプローブを用いた、動物組織の直接分析のためのプロトコルを描いた概略図である。
【図２９Ｂ】図２９Ｂは、組織で検出された様々な化学物質を示す質量スペクトルである。
【図２９Ｃ】図２９Ｃは、組織で検出された様々な化学物質を示す質量スペクトルである。
【図２９Ｄ】図２９Ｄは、組織で検出された様々な化学物質を示す質量スペクトルである。
【図３０Ａ】図３０Ａは、普通紙上での乾燥血清スポットの質量スペクトル分析を示す。
【図３０Ｂ】図３０Ｂは、ベタインアルデヒド（ＢＡ：ｂｅｔａｉｎｅ　ａｌｄｅｈｙｄｅ）クロリドを予め添着した紙上での乾燥血清スポットの質量スペクトル分析を示す。
【図３０Ｃ】図３０Ｃは、反応生成物［Ｍ＋ＢＡ］$^{+}$（ｍ／ｚ　４８８．６）のＭＳ／ＭＳ分析を示す。
【図３１Ａ】図３１Ａは、修飾された紙基材を用いて記録されたＭＳ／ＭＳスペクトルを示す。
【図３１Ｂ】図３１Ｂは、修飾されていない紙基材を用いて記録されたＭＳ／ＭＳスペクトルを示す。
【図３２】図３２は、負のイオン源電位を用いてイオンを発生させることができるが、正に帯電したイオンが質量分析されることを示す質量スペクトルである。
【図３３】図３３Ａは、容量制御バイアルおよびオーバーフロー・バイアルを持つサンプル・カートリッジのデザインを示す概略図である。容量制御バイアルの底部を塞ぐために、内部標準化学物質を含んだ可溶性プラグが用いられる。図３３Ｂは、制御された容量の血液から紙上に乾燥血液スポットを調製するために、血液サンプルをカートリッジに付ける段階的なプロセスを示す。
【図３４】図３４Ａは、食料雑貨店から購入し、紙で拭き取ったレモンの皮上に存在した農薬の質量スペクトルを示す。図３４Ｂは、食料雑貨店から購入し、紙で拭き取ったレモンの皮上に存在した農薬の質量スペクトルを示す。
【図３５】図３５は、複数の角を持つペーパースプレー用基材のデザインを示す。スプレーに用いられる角の角度は、他の角より小さい。
【図３６】図３６Ａは、ＳＵ－８　２０１０フォトレジストを用いて、クロマトグラフィ

紙の小片上に作製されたスプレー先端部を示す。図３６Ｂは、ＳＵ－８　２０１０フォトレジストを用いて、クロマトグラフィ紙の小片上に作製されたスプレー先端部を示す。図３６Ｃは、アスパラギン類の混合物を含んだメタノール／水溶液のＭＳスペクトルを示す。

【発明を実施するための形態】

【００１７】

質量分析分析のために、流体および固体からイオンを発生させる新しい方式が記載される。液体および固体を保持して移動させるために、紙（例えば、濾紙もしくはクロマトグラフィ紙）または他の同様の材料などの多孔質材料が用いられ、この材料に高電圧が印加されたときに、材料の端部から直接にイオンが生成される（図１）。多孔質材料は、溶媒の連続流のような溶媒の流れとは分離した（すなわち、から隔てられた、または切り離された）状態に保たれる。あるいは、サンプルが、多孔質材料上にスポットされるか、またはサンプルを含んだ表面から多孔質材料上へ拭き取られる。スポットされるか、または拭き取られたサンプルは、次に高電圧源に接続されて、サンプルのイオンを生成し、続いてこれらのイオンが質量分析される。サンプルは、別個の溶媒流の必要なしに、多孔質材料中を輸送される。検体を輸送するための圧縮空気の支援は必要ではない；むしろ、質量分析計前に保持された多孔質材料に、単に電圧が印加されるだけである。

【００１８】

ある実施形態において、多孔質材料は、任意のセルロースに基づく材料である。他の実施形態において、多孔質材料は、綿、リネンウール、合成繊維品、または植物組織のような、非金属の多孔質材料である。さらに他の実施形態において、多孔質材料は、紙である。紙の利点は、以下を含む：コスト（紙は、安価である）；紙は、十分に商品化されており、その物理的・化学的特性を調整できる；紙は、液体サンプルから微粒子（細胞およびダスト）を濾過できる；紙は、容易に形作られる（例えば、カットする、裂く、または折り畳むのが容易である）；液体が毛細管作用下で紙の中を（例えば、外部ポンピングおよび／または電源なしに）流れる；しかも紙は、ディスポーザブルである。

【００１９】

ある実施形態において、多孔質材料は、スプレーのために最適化された巨視的な角度を持つ固体先端部と集積化される。これらの実施形態において、多孔質材料は、固体タイプでスプレーされるための検体を含んだ、溶媒の濾過、予備濃縮、およびウィッキングに用いられる。

【００２０】

特定の実施形態において、多孔質材料は、濾紙である。例となる濾紙は、セルロース濾紙、無灰濾紙、ニトロセルロース紙、ガラス・マイクロファイバ濾紙、およびポリエチレン紙を含む。任意の細孔サイズを持つ濾紙を用いることができる。例となる細孔サイズは、等級１（１１μｍ）、等級２（８μｍ）、等級５９５（４～７μｍ）および等級６（３μｍ）を含む、細孔サイズは、スプレー材料内での液体の輸送に影響するだけでなく、先端部におけるテイラーコーンの形成にも影響を及ぼすであろう。最適な細孔サイズは、安定したテイラーコーンを発生させて、液体の蒸発を低減することになろう。濾紙の細孔サイズは、濾過における重要なパラメータでもある、すなわち、紙は、オンラインの前処理デバイスとしての機能を果たす。低いｎｍ範囲の細孔サイズを持つ市販の再生セルロース製限外濾過膜は、１０００Ｄａと小さい粒子を保持するように設計されている。１０００Ｄａから１００,０００Ｄａに及ぶカットオフ分子量を持つ限外濾過膜を商業的に入手することができる。

【００２１】

本発明のプローブは、単に多孔質材料の端部で発生する高電界を利用することだけに基づく、マイクロメートル・スケールの液滴の発生用として良好に機能する。特定の実施形態において、多孔質材料は、イオン発生のために、三角形の先端のような、巨視的に鋭い先端を持つように形作られる。本発明のプローブは、様々な先端幅を有してもよい。ある実施形態において、プローブの先端幅は、少なくとも約５μｍ以上、少なくとも約１０μ

m以上、少なくとも約５０μm以上、少なくとも約１５０μm以上、少なくとも約２５０μm以上、少なくとも約３５０μm以上、少なくとも約４００μm以上、少なくとも約４５０μm以上などである。特定の実施形態において、先端幅は、少なくとも３５０μm以上である。他の実施形態において、プローブの先端幅は、約４００μmである。他の実施形態において、本発明のプローブは、円錐形状のような３次元形状を持つ。

【００２２】

上述のように、液滴を輸送するために圧縮空気の支援は必要ではない。検体の大気イオン化は、これらの帯電した液滴に基づいて実現され、溶液相サンプルを質量分析するための簡単で使い易いアプローチを提供する。

【００２３】

サンプル溶液は、質量分析計の注入口前に保持された多孔質材料に、前処理なしに直接に付けられる。その後、濡れた多孔質材料に高電位を印加することによって、大気イオン化が行われる。ある実施形態において、多孔質材料は、液体を輸送するための数的な細孔およびマイクロチャンネルを含むタイプの多孔質材料である、紙である。細孔およびマイクロチャンネルは、紙がフィルタ・デバイスとして機能することも可能にし、物理的に汚れた、または汚染したサンプルを分析するのに役立つ。

【００２４】

他の実施形態において、多孔質材料は、多孔質材料中にマイクロチャンネルを生成するため、或いは本発明のプローブとして用いる材料の特性を向上させるために処理される。例えば、紙は、マイクロチャンネルまたは構造を紙上に生成するために、シリル化パターン形成プロセスを受けてもよい。かかるプロセスは、紙のシリル化をもたらすために、例えば、紙の表面をトリデカフルオロ－１，１，２，２－テトラヒドロオクチル－１－トリクロロシランに曝露することを含む。他の実施形態において、多孔質材料中にマイクロチャンネルを生成するため、あるいは本発明のプローブとして用いる材料の特性を向上させるために、ソフトリソグラフィ・プロセスが用いられる。他の実施形態において、親水性の低い化合物を予め濃縮するために、紙の中に疎水性の捕獲領域が作り出される。

【００２５】

フォトリソグラフィ、プリント法またはプラズマ処理を用いて、紙上に疎水性領域のパターンを形成し、２００～１０００μmの横方向フィーチャを持つ親水性チャンネルを規定することができる。Ｍａｒｔｉｎｅｚ ｅｔ ａｌ．（Ａｎｇｅｗ．Ｃｈｅｍ．Ｉｎｔ．Ｅｄ．２００７，４６，１３１８－１３２０）；Ｍａｒｔｉｎｅｚ ｅｔ ａｌ．（Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ２００８，１０５，１９６０６－１９６１１）；Ａｂｅ ｅｔ ａｌ．（Ａｎａｌ．Ｃｈｅｍ．２００８，８０，６９２８－６９３４）；Ｂｒｕｚｅｗｉｃｚ ｅｔ ａｌ．（Ａｎａｌ．Ｃｈｅｍ．２００８，８０，３３８７－３３９２）；Ｍａｒｔｉｎｅｚ ｅｔ ａｌ．（Ｌａｂ Ｃｈｉｐ ２００８，８，２１４６－２１５０）；およびＬｉ ｅｔ ａｌ．（Ａｎａｌ．Ｃｈｅｍ．２００８，８０，９１３１－９１３４）を参照。これらそれぞれの内容は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。かかる紙ベースのデバイス上に添着された液体サンプルは、毛細管作用によって駆動され、親水性チャンネルに沿って進むことができる。

【００２６】

修飾された表面の別の用途は、表面との、および溶液との親和性の違いに従って、化合物を分離または濃縮することである。いくつかの化合物は、優先的に表面上に吸収され、一方でマトリックス中の他の化学物質は、水相内に留まることを選ぶ。洗浄を通じて、サンプル・マトリックスを除去することができるのに対して、対象化合物は表面上に留まる。この対象化合物は、後の時点で、他の高親和性溶媒によって表面から除去することができる。プロセスの繰り返しは、元のサンプルの脱塩、さらに濃縮も助ける。

【００２７】

本発明の方法およびシステムは、質量スペクトル分析用の検体を保持して輸送するために、多孔質材料、例えば、紙を用いる。多孔質材料に高電圧を印加してイオンを発生させるために、多孔質材料中において、サンプル中の検体が、統合された仕方で予備濃縮、富

化、および精製される。ある実施形態では、多孔質材料中を通る検体の移動を支援するために、離散量（例えば、１つの液滴または少数の液滴）の輸送溶液が付けられる。ある実施形態では、検体は、多孔質材料に付けられた溶液中にすでに存在する。かかる実施形態では、多孔質材料に追加的な溶媒を加える必要はない。他の実施形態では、検体は、表面を拭き取ることによって容易に採集されうる粉末サンプル中に存在する。本発明のシステムおよび方法は、植物または動物組織、あるいは生体内組織の分析を可能にする。

【００２８】

本発明の方法およびシステムは、エピネフリン、セリン、アトラジン、メタドン、ロキシスロマイシン、コカインおよびアンジオテンシンＩを含めて、多種多様な小分子の分析に用いることができる。すべてが、様々な多孔質表面からの高品質の質量およびＭＳ／ＭＳプロダクトイオン・スペクトル（以下の実施例を参照）を表示する。本発明の方法およびシステムは、検体濃度がおよそ０．１から１０μｇ／ｍＬ（総量検体５０ｐｇから５ｎｇ）の小容量溶液、典型的に数μＬの使用を可能にして、１から数分続くシグナルを与える。

【００２９】

本発明の方法およびシステムは、タンパク質およびペプチド類を含めて、多種多様な生体分子の分析にも用いることができる。本発明の方法は、ゲルからのオリゴヌクレオチド類を分析するためにも用いることができる。ゲル中でのオリゴヌクレオチド類の電気泳動分離後に、当分野で知られる方法を用いて、対象バンド（単数または複数）が、多孔質材料にブロットされる。ブロッティングは、ゲル中のバンドにおける少なくともいくらかのオリゴヌクレオチド類の多孔質材料への移動をもたらす。その後、多孔質材料に高電圧源が接続され、オリゴヌクレオチドがイオン化されて、質量スペクトル分析のために質量分析計中にスプレーされる。

【００３０】

本発明の方法およびシステムは、全血または尿のような、複合混合物の分析に用いることができる。血液中の薬剤または他の化合物を分析するための典型的な手順は、分析前にできるだけ多くの干渉を取り除くように設計された多段階プロセスである。初めに、血液細胞が、およそ１０００×ｇで１５分間の遠心分離によって、血液の液体部分から分離される（Ｍｕｓｔａｒｄ，Ｊ．Ｆ；Ｋｉｎｌｏｕｇｈ－Ｒａｔｈｂｏｎｅ，Ｒ．Ｌ．；Ｐａｃｋｈａｍ，Ｍ．Ａ．Ｍｅｔｈｏｄｓ ｉｎ Ｅｎｚｙｍｏｌｏｇｙ；Ａｃａｄｅｍｉｃ Ｐｒｅｓｓ，１９８９）。次に、結果として生じた血漿中に内部標準が加えられ、できるだけ多くのマトリックス化学物質を除去し、一方では検体のほとんどすべてを回収するという目的で、液液抽出または固相抽出が行われる（Ｂｕｈｒｍａｎ，Ｄ．Ｌ．；Ｐｒｉｃｅ，Ｐ．Ｉ．；Ｒｕｄｅｗｉｃｚ，Ｐ．Ｊ．Ｊｏｕｒｎａｌ ｏｆ ｔｈｅ Ａｍｅｒｉｃａｎ Ｓｏｃｉｅｔｙ ｆｏｒ Ｍａｓｓ Ｓｐｅｃｔｒｏｍｅｔｒｙ １９９６，７，１０９９－１１０５）。抽出相は、通常は溶媒を蒸発させることによって乾燥され、その後、高速液体クロマトグラフィ（ＨＰＬＣ：ｈｉｇｈ ｐｅｒｆｏｒｍａｎｃｅ ｌｉｑｕｉｄ ｃｈｒｏｍａｔｏｇｒａｐｈｙ）の流動相として用いられる溶媒中に再懸濁される（Ｍａｔｕｓｚｅｗｓｋｉ，Ｂ．Ｋ．；Ｃｏｎｓｔａｎｚｅｒ，Ｍ．Ｌ．；Ｃｈａｖｅｚ－Ｅｎｇ，Ｃ．Ｍ．Ｉｔｈａｃａ，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，Ｊｕｌ ２３－２５ １９９７；８８２－８８９）。最終的に、サンプルは、ＨＰＬＣを行う過程で、およそ５～１０分間にわたって分離されて、溶離液が、エレクトロスプレーイオン化・タンデム型質量分析によって分析される（Ｈｏｐｆｇａｒｔｎｅｒ，Ｇ；Ｂｏｕｒｇｏｇｎｅ，Ｅ．Ｍａｓｓ Ｓｐｅｃｔｒｏｍｅｔｒｙ Ｒｅｖｉｅｗｓ ２００３，２２，１９５－２１４）。

【００３１】

本発明の方法およびシステムは、上記のサンプル後処理ステップを回避する。本発明の方法およびシステムは、抽出手順をわずかに修正して、乾燥血液スポットを同様の方法で分析する。初めに、専用デバイスを用いて、それぞれの乾燥血液スポットから同一サイズのディスクがパンチアウトされる。次に、これらのディスク上の材料が、内部標準を含ん

だ有機溶媒中に抽出される（Ｃｈａｃｅ，Ｄ．Ｈ．；Ｋａｌａｓ，Ｔ．Ａ．；Ｎａｙｌｏｒ，Ｅ．Ｗ．Ｃｌｉｎｉｃａｌ　Ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ　２００３，４９，１７９７－１８１７）。抽出されたサンプルが紙の基材上で乾燥されて、本明細書に記載されるように分析が進む。

【００３２】

以下の例は、本発明の方法およびシステムが、尿中のカフェイン、ヒトの指上の５０ｐｇのコカイン、デスクトップ表面上の１００ｐｇのヘロイン、ならびに未変化の腎臓組織におけるホルモン類およびリン脂質類のような、複合混合物の個別成分を、分析前のサンプル調製の必要なしに、直接に検出できることを示す（以下の実施例を参照）。本発明の方法およびシステムは、紙へ直接に移した針生検組織切片を相次いで検査することによって、簡単な画像化実験を行うことを可能にする。

【００３３】

溶液からの検体が、検査のために多孔質材料に付けられ、この溶液の溶媒成分は、エレクトロスプレー溶媒としての役割を果たすことができる。ある実施形態では、検体（例えば、固体または溶液）が、多孔質材料、例えば、紙上に予めスポットされ、検体を溶解して質量スペクトル分析用にスプレー中へ輸送するために、多孔質材料に溶媒が付けられる。

【００３４】

ある実施形態において、分離／抽出およびイオン化を支援するために、多孔質材料に溶媒が付けられる。質量分析分析に適合する任意の溶媒を用いることができる。特定の実施形態において、好ましい溶媒は、エレクトロスプレーイオン化にも利用される溶媒であろう。例となる溶媒は、水、メタノール、アセトニトリル、およびＴＨＦの組み合わせを含む。有機含有量（メタノール、アセトニトリルなどの水に対する比率）、ｐＨ、および揮発性塩（例えば、酢酸アンモニウム）は、分析すべきサンプルに依存して変化しうる。例えば、薬物イマチニブのような、塩基性分子は、ｐＨが低いほどより効率的に抽出され、かつイオン化される。シロリムスのような、イオン化基はないが多数のカルボニル基を持つ分子は、溶媒がアンモニウム塩を含むと付加体が形成されるために、より良好にイオン化する。

【００３５】

ある実施形態においては、多次元のアプローチが試みられる。例えば、サンプルは、１次元に沿って分離され、続いて別の次元でイオン化される。これらの実施形態では、分離とイオン化とを個別に最適化することができ、それぞれの相に対して異なった溶媒を用いることができる。

【００３６】

他の実施形態において、紙上での検体の輸送が、溶媒と電界とを組み合わせることによって達成される。高電位を印加したときに、紙上で検体が移動する方向は、溶液中における検体の帯電形態の極性に関連すると思われる。濡れた紙上の一点に電極を置くことによって、スプレー前の検体の予備濃縮も、紙上で達成することができる。紙の先端部付近に接地電極を置くことによって、直流電圧を印加したときに、濡れた多孔質材料を通して強電界が生成され、帯電した検体は、この電界下で前方へ駆動される。スプレーが開始される前に、特定の検体を紙のいくつかの部分で濃縮させることもできる。

【００３７】

ある実施形態において、多孔質材料の化学的特性を変更するために、多孔質材料に化学物質が付けられる。例えば、異なった化学的特性を持つサンプル成分の差異的な保持を可能にする化学物質を付けることができる。加えて、塩およびマトリックス効果を最小限に抑える化学物質を付けることもできる。他の実施形態において、スポッティング時のサンプルのｐＨを調整するために、酸性または塩基性の化合物が多孔質材料に加えられる。ｐＨの調整は、血液のような、生体液の分析を改善するために特に有用でありうる。加えて、例えば、効率的なエレクトロスプレーイオン化のために、非極性の化合物を塩に転換すべく、選択された検体のオンラインの化学的誘導体化を可能にする化学物質を付けること

ができる。
【００３８】
ある実施形態において、多孔質材料を修飾するために付けられる化学物質は、内部標準である。定量分析用の内部標準を提供するために、多孔質材料中に内部標準を組み込み、溶媒が流れる間に既知の速度でこれを放出させることができる。他の実施形態において、多孔質材料は、対象検体の質量スペクトル分析前の予備分離および予備濃縮を可能にする化学物質によって修飾される。
【００３９】
スプレー液滴は、正イオンモードでは、強い照明下で可視化することができ、ナノエレクトロスプレー・イオン源（ｎＥＳＩ：ｎａｎｏ－ｅｌｅｃｔｒｏｓｐｒａｙ　ｉｏｎ　ｓｏｕｒｃｅ）から放出される液滴と同等サイズである。負イオンモードでは、電子が放出され、ベンゾキノンのような気相の電子捕獲剤を用いて、これを捕獲することができる。作用に関する特定の理論またはメカニズムに制限されることなしに、イオン化の原因は、個々の流体チャンネルにおける電界ではなく、多孔質材料の先端部における高電界であると考えられる。
【００４０】
本明細書に記載される方法論は、ニオタル・スクリーニング、治療薬モニタリング、および組織生検分析を含めて、臨床応用にとって望ましい特徴を有する。手順は、簡単で迅速である。多孔質材料が、フィルタとしての第２の役割を果たし、例えば、全血分析の間に血液細胞を保持する。意義深いことに、サンプルは、多孔質材料上に保存することができ、これを分析前に多孔質材料から移動させる必要なしに、後日、保存された多孔質材料から直接に分析することができる。本発明のシステムは、研究室実験をオープンラボ環境で行うことを可能にする。
【００４１】
参照による組み込み
本開示の全体にわたって、特許、特許出願、特許公報、ジャーナル、本、論文、ウェブコンテンツのような他の文献に対する参照および引用がなされる。すべてのかかる文献は、あらゆる目的に対してその全体が参照により本明細書に組み込まれる。
【００４２】
相当物
本明細書に図示され、かつ記載されるものに加えて、本発明の様々な修正およびその多くのさらなる実施形態は、本明細書に引用される科学文献および特許文献への参照を含む本書類のすべての内容から、当業者に明らかになるであろう。本明細書の主題は、様々な実施形態およびその相当物における本発明の実施に適合しうる重要情報、例示およびガイダンスを含む。
【実施例】
【００４３】
以下の実施例は、本発明のいくつかの実施形態をさらに説明することを意図しており、本発明の範囲を制限すると解釈すべきものではない。本明細書における実施例は、本発明の質量分析プローブが、化学的および生物学的サンプルをイオン化することができ、その後の質量分析および検出を可能にすることを示す。例となるプローブは、三角紙として構築され、紙に高電位を印加することによってマイクロメートル・スケールの液滴を発生させるために、この三角紙が用いられた。検体は、これらの帯電した液滴からイオン化されて、従来型質量分析計中へ輸送された。
【００４４】
以下の実施例は、広範囲のサンプルが、純粋状態と複合混合物とのいずれにおいても、本発明のプローブを用いて、周囲環境中で直接に分析できたことを示す。結果は、紙ベースのスプレーが、以下の利点を持つことを示した：スプレーは、シースガスなしで動作した、すなわち、ｉｎ　ｓｉｔｕ分析にほとんど付属品を必要としなかった；生物学的サンプル(乾燥血液、尿）は、分析前の数カ月間にわたって、プレカット濾紙上に保存するこ

とができた；濾紙は、多くのサンプル（血液細胞、塩およびタンパク質）のエレクトロスプレーまたはナノエレクトロスプレーに見られるマトリックス効果を最小限に抑えて、複合サンプル中の化学物質のＭＳ信号を強化した；粉末サンプルは、紙片を用いて表面を拭き取ることによって容易に採集され、その後、直接に分析された；紙は、内部標準を含むように前処置することができ、この内部標準は、定量分析中に溶媒が流れる間に、既知の速度で放出された；紙は、マトリックス抑制サイトまたは吸収サイトを含むように、もしくはイオン交換を行なうように、または選択された検体のオンラインの化学的誘導体化を可能にするように前処置することができた。

【００４５】

ほとんどの検体の検出は、ｐｐｂと低いレベル（溶液として検査されたとき）か、または低いｎｇからｐｇの範囲（固体が検査されたとき）が達成され、検出時間は、１分未満であった。以下のいくつかの実施例は、乾燥血液スポットを分析するためのプロトコルを提供するが、このプロトコルは、全血サンプルのｉｎ　ｓｉｔｕ分析にも用いることができる。乾燥血液スポット法が、血液スクリーニングおよび他の臨床テストのための血液サンプルの保存および輸送と両立しうることも実証される。

【００４６】

本発明のデバイスは、サンプリング、予備分離、予備濃縮、およびイオン化の能力を統合した。本発明の方法およびシステムは、質量分析器におけるサンプル導入の問題を簡略化する。

【００４７】

（実施例１）

ＭＳプローブの構築

濾紙が、長さ１０mmおよび幅５mmの寸法の三角形の小片にカットされ、スプレーヤとして使用された（図１）。銅クリップが紙に取り付けられ、紙が、質量分析計の注入口と向かい合って置かれた（図１）。銅クリップが３次元移動ステージ上に搭載され、正確にその位置が調節された。高電圧が銅クリップに印加され、質量検出のために検体イオンを発生させるべく質量分析計によって制御された。

【００４８】

サンプル精製および予備濃縮デバイスとしての役割を果たす紙の表面に、サンプルが直接に付けられた。濾紙は、液体サンプルが、毛細管作用と電気的効果とによって駆動され、親水性ネットワーク中を移動して、紙の先端部へ輸送されることを可能にした。この輸送プロセスの間に、分離を生じることができた。紙の表面に高電圧（約４．５ｋＶ）が印加されたときに、先端部からサンプル溶液がスプレーされ、結果としてイオン化とＭＳ検出とをもたらした。

【００４９】

すべての実験は、Ｆｉｎｎｉｇａｎ　ＬＴＱ質量分析計（Ｔｈｅｒｍｏ　Ｅｌｅｃｔｒｏｎ，Ｓａｎ　Ｊｏｓｅ，ＣＡ）を用いて行われた。キャピラリ注入口の典型的な温度は、１５０℃に、一方でヘロイン検出のためには３０℃に設定された。レンズ電圧は、サンプル分析用に６５Ｖ、残存収率実験用に２４０Ｖに設定された。テストしたサンプル中の検体を同定するために、特に複合混合物および血液サンプルに対して、衝突誘起解離（ＣＩＤ：ｃｏｌｌｉｓｉｏｎ－ｉｎｄｕｃｅｄ　ｄｉｓｓｏｃｉａｔｉｏｎ）を用いてタンデム型質量スペクトルが収集された。

【００５０】

（実施例２）

スプレー発生

スプレーは、濡れた三角紙に高電位を印加することによって生成された。１つの三角紙が、その鋭い先端部を注入口に向け、３mm以上隔ててＬＴＱの注入口前に置かれた。三角紙を濡らすために、典型的に１０μＬのサンプル溶液が付けられた。この溶液は、紙を濡らすかまたは飽和させる、あるいは紙の表面上に薄い液膜層を形成することができる。電界を発生させるために、三角紙と質量注入口との間に高電位（３～５ｋＶ）が印加され

、この電界によって、三角紙の先端部において液体上に電荷蓄積が誘発された。クーロン力の増加が、液体を破壊して帯電した液滴を形成し、その後、液滴が紙の先端部から質量分析器へ飛行する間に溶媒が蒸発した。ペーパースプレーは、溶媒を除去するために、シースガス、加熱、あるいは任意の他の支援も必要としなかった。

【００５１】

三角紙上に液体が蓄積されたときに、顕微鏡で検査すると、先端部にテイラーコーンが観察された。形成された液滴が、強い照明下ではっきりと視認できた。テイラーコーンと視認しうるスプレーとは、蒸発およびスプレー後に短時間で見えなくなった。しかしながら、質量信号は、より長い時間（数分）にわたって継続した。このことは、三角紙が２つの質量分析モードで機能しうることを明らかにした。第１のモードでは、液体が、紙の先端部でスプレーとして消費されうるのに比べて、より速い速度で紙の中を輸送され、結果として紙の先端部に大きなコーンが形成されて液滴が発生した。第２のモードでは、紙の中での液体の輸送が、スプレー消費に追随するほど十分に速い速度で移動することができず、液滴は視認できなかった。しかしながら、検体のイオン化が生じることは観察された。第１のモードは、ＥＳＩに類似した質量スペクを提供し、第２のモードは、ＡＰＣＩスペクトルの特徴のいくつかを持つスペクトルを提供した。後者の場合、三角紙は、導電性針に似た役割を果たし、高電界を発生させて、大気中で分子をイオン化する。テスト条件およびサンプルに対して、第１のモードでの質量信号は、第２のモードでの質量信号よりおよそ２桁強いことが観察された。

【００５２】

（実施例３）

プローブの考察

プローブ材料

質量分析のために帯電した液滴を発生させるべく、多数の多孔質材料がテストされた。これらの材料は、鋭い先端部を持つ三角形に形作られ、その後、構築されたプローブにサンプル溶液が付けられた。本明細書におけるデータは、様々な紙のみならず、綿棒、繊維品、植物組織を含めて、任意の親水性多孔質基材を首尾よく使用できたことを示す。これらの材料の多孔質ネットワークもしくはマイクロチャンネルは、液体を保持するのに十分なスペースを提供し、かつ親水性環境が、毛細管作用による液体輸送を可能にした。疎水性の多孔質基材も、適切に選択された疎水性溶媒により首尾よく用いることができた。

【００５３】

さらなる検討のために、６種類の市販紙が選択され、検体検出におけるその能力を評価すべく定性的にテストされた。濾紙およびクロマトグラフィ紙は、セルロース製であり、一方でガラス・マイクロファイバ濾紙は、ガラス・マイクロファイバから作られたものである。図１９は、それらの紙上におけるコカイン検出の質量スペクトルを示す。グラスファイバ紙のスペクトル（図１９Ｅ）は、バックグラウンドの強度が他の紙より２桁低く、コカイン・ピーク（ｍ／ｚ，３０４）を同定できなったことからユニークであった。

【００５４】

グラスファイバ紙は、相対的に厚い（約２ｍｍ）ためにモードＩＩで機能しており、効率的な液滴発生を妨げていることが仮定された。この仮定は、コカイン検出用のグラスファイバ紙から剥がした薄層を用いることによって検証された。その場合、バックグラウンドの強度が増加し、コカイン・ピークが観察された。すべての濾紙が、コカイン検出に対して良好に機能した（図１９Ａ～Ｄ）。クロマトグラフィ紙が、最もきれいなスペクトル、および相対的に高いコカイン強度を示した（図１９Ｆ）。

【００５５】

プローブ形状および先端部の角度

液滴を発生させることに関して、多くの異なったプローブ形状が検討された。多孔質材料の好ましい形状は、少なくとも１つの先端部を含んだ。先端部が、テイラーコーンの素早い形成を可能にすることが観察された。三角形のプローブ形状が、最も頻繁に用いられた。図２５Ａ～Ｃに示されるように、先端部の鋭さ、先端部の角度（図２７ＡおよびＢ）

、ならびに紙基材の厚さによって、スプレー特性をもたらすことができた。複数の先端部を持つ円筒形状のデバイス（図２５Ｄ）は、マルチチップ・スプレーヤとしての機能を果たすことが期待され、スプレー効率が改善されるはずであった。鋭い針により表面に穴を開けて、ＤＢＳカード上にマイクロ・スプレーヤのアレイを作製することもできる（図２５Ｅ）。

【００５６】

（実施例４）

質量分析計の注入口によるプローブの構成

三角紙と質量分析計の注入口との相対的位置によって、いかに質量信号が影響を受けるかを測定するために、２次元移動ステージ上に三角紙が取り付けられた。この三角紙が、ｙ方向に連続的に８ｃｍ、ｘ方向に各ステップに対する増分２ｍｍで３ｃｍ動かされた（図２０Ａ）。コカイン溶液（１μｇ／ｍＬ、メタノール／水、１：１　ｖ／ｖ）が、紙の表面に連続的に供給された。全スキャンの間に、質量スペクトルが連続的に記録された。質量スペクトルから抽出された規格化データから、プロトン化されたコカイン（ｍ／ｚ，３０４）のピーク強度のコンター・プロットが作られた（図２０Ｂ）。このコンター・プロットは、液滴を発生させるために、三角紙を質量分析計の注入口と直接インラインに置く必要はなかったことを示す。

【００５７】

スプレーの継続時間もテストされた（図２０Ｃ）。三角紙（サイズ１０ｍｍ、５ｍｍ）が用意された。初めに、１０μＬの溶液が０．１、１および１０μｇ／ｍＬの異なった濃度で三角紙に付けられた。それぞれの紙に対するスプレー時間は、濃度の違いによってごく僅かに変化した。その後、１μｇ／ｍＬのコカイン溶液が５μＬ、１０μＬ、１５μＬの異なった容量で三角紙に付けられた。スプレー時間は、サンプル容量の増加に従って線形応答を示した。

【００５８】

別のテストでは、溶液の蒸発を防ぐために、紙がＰＴＦＥ膜でシールされ、それによってスプレー時間が約３倍に延長された。これらの結果は、たとえ５μＬの溶液を用いても、ペーパースプレーがデータ収集にとって十分に長いスプレー時間を提供し、全スプレー時間の間に信号の強度が安定であることを示唆する。

【００５９】

（実施例５）

分離および検出

本発明のプローブは、質量分析によるｉｎ　ｓｉｔｕイオン化の前に、生体液中の化学物質を両方分離するために機能することができる、紙のような多孔質材料を含む。この実施例において、プローブ用多孔質材料は、クロマトグラフィ紙であった。図２４に示されるように、２つの色素の混合物が、単一スポットとして紙に付けられた。色素は、初めにＴＬＣ（薄層クロマトグラフ：ｔｈｉｎ　ｌａｙｅｒ　ｃｈｒｏｍａｔｏｇｒａｐｈ）によって紙上で分離され、分離された色素が、本発明の方法によるＭＳ分析を用いて、紙媒体からカットされた紙片で検査された（図２４）。データは、ＭＳ分析によって個別の色素が検出されたことを示す（図２４）。

【００６０】

クロマトグラフィフィ紙は、かくしてサンプル採集、検体分離および検体イオン化を可能にした。これは、クロマトグラフィをＭＳ分析と結合するという著しい簡略化を意味する。クロマトグラフフィ紙は、本発明のプローブ用として良好な材料である、なぜならかかる材料は、溶媒の移動が、毛細管作用によって駆動され、シリンジ・ポンプを必要としない利点を持つからである。別の利点は、目詰まり、従来のナノエレクトロスプレー源にとって深刻な問題が、その多重多孔質特性のために生じそうもないことである。それ故に、ミクロ多孔質のエレクトロスプレーイオン化源として、多重多孔質材料であるクロマトグラフィ紙を用いることができる。

【００６１】

（実施例６）

純粋な化合物：有機薬物、アミノ酸類およびペプチド類

既に記載されたように、本発明のプローブおよび方法は、質量分析のための簡単で便利なイオン化法を提供する。三角紙に、様々な化合物がスポットされ、イオンを生成するために高電圧源が接続された。すべての実験は、Ｆｉｎｎｉｇａｎ　ＬＴＱ質量分析計（Ｔｈｅｒｍｏ　Ｅｌｅｃｔｒｏｎ，Ｓａｎ　Ｊｏｓｅ，ＣＡ）を用いて行われた。本明細書におけるデータは、アミノ酸、治療薬物、違法薬物およびペプチド類を含めて、様々な化学薬品を溶液相中においてイオン化できたことを示す。

【００６２】

図２Ａは、本発明のプローブを用いた、ヘロイン（濃度：１ｐｐｍ、容量：１０μｌ、溶媒：ＭｅＯＨ／H_2O／ＨＯＡｃ（５０：４９：１，ｖ／ｖ／ｖ））のＭＳスペクトルを示す。図２Ｂは、ヘロイン（濃度：１ｐｐｂ、容量：１０μｌ、溶媒：ＭｅＯＨ／H_2O／ＨＯＡｃ（５０：４９：１，ｖ／ｖ／ｖ））のＭＳ／ＭＳスペクトルを示す。

【００６３】

図３Ａは、本発明のプローブを用いた、カフェイン（濃度：１０ｐｐｍ、容量：１０μｌ、溶媒：ＭｅＯＨ／H_2O／ＨＯＡｃ（５０：４９：１，ｖ／ｖ／ｖ））のＭＳスペクトルを示す。図３Ｂは、カフェイン（濃度：１０ｐｐｂ、容量：１０μｌ、溶媒：ＭｅＯＨ／H_2O／ＨＯＡｃ（５０：４９：１，ｖ／ｖ／ｖ））のＭＳ／ＭＳスペクトルを示す。ピーク１６７は、溶媒があってカフェインのないブランク・スペクトルにも存在する。

【００６４】

図４Ａは、本発明のプローブを用いた、ベンゾイルエクゴニン（濃度：１０ｐｐｍ、容量：１０μｌ、溶媒：ＭｅＯＨ／H_2O／ＨＯＡｃ（５０：４９：１，ｖ／ｖ／ｖ））のＭＳスペクトルを示す。図４Ｂは、ベンゾイルエクゴニン（濃度：１０ｐｐｂ、容量：１０μｌ、溶媒：ＭｅＯＨ／H_2O／ＨＯＡｃ（５０：４９：１，ｖ／ｖ／ｖ））のＭＳ／ＭＳスペクトルを示す。

【００６５】

図５Ａは、本発明のプローブを用いた、セリン（濃度：１ｐｐｍ、容量：１０μｌ、溶媒：ＭｅＯＨ／H_2O／ＨＯＡｃ（５０：４９：１，ｖ／ｖ／ｖ））のＭＳスペクトルを示す。図５Ｂは、セリン（濃度：１００ｐｐｂ、容量：１０μｌ、溶媒：ＭｅＯＨ／H_2O／ＨＯＡｃ（５０：４９：１，ｖ／ｖ／ｖ））のＭＳ／ＭＳスペクトルを示す。ピーク７４および８３は、溶媒があってセリンのないブランク・スペクトルにも存在する。図２１Ａは、本発明のプローブを用いた、セリン（ｍ／ｚ，１０６）のＭＳスペクトルを示す。図２１Ａは、セリン（ｍ／ｚ，１０６）のＭＳ／ＭＳスペクトルも示す。

【００６６】

図２１Ｂは、本発明のプローブを用いた、メタドン（ｍ／ｚ，３１０）のＭＳスペクトルを示す。図２１Ｂは、メタドン（ｍ／ｚ，３１０）のＭＳ／ＭＳスペクトルも示す。図２１Ｃは、本発明のプローブを用いた、ロキシスロマイシン（ｍ／ｚ，８３７）のＭＳスペクトルを示す。図２１Ｂは、ロキシスロマイシン（ｍ／ｚ，８３７）のＭＳ／ＭＳスペクトルも示す。

【００６７】

図６Ａは、本発明のプローブを用いた、ペプチドのブラジキニン２－９（濃度：１０ｐｐｍ、容量：１０μｌ、溶媒：ＭｅＯＨ／H_2O／ＨＯＡｃ（５０：４９：１，ｖ／ｖ／ｖ））のＭＳスペクトルを示す。図６Ｂは、ブラジキニン２－９（濃度：１ｐｐｍ、容量：１０μｌ、溶媒：ＭｅＯＨ／H_2O／ＨＯＡｃ（５０：４９：１，ｖ／ｖ／ｖ））のＭＳ／ＭＳスペクトルを示す。スペクトル中の隆起は、産業界でしばしば材料に加えられる、ポリエチレングリコール（ＰＥＧ）のようなポリマーに起因すると思われる。図２１Ｄは、本発明のプローブを用いた、ブラジキニン２－９（ｍ／ｚ，４５３）のＭＳスペクトルを示す。図２１Ｄは、ブラジキニン２－９（ｍ／ｚ，４５３）のＭＳ／ＭＳスペクトルも示す。図２１Ｄは、さらに付加イオン［Ｍ＋Ｈ］（ｍ／ｚ，９０４）、［Ｍ＋２Ｈ］$^{2+}$（ｍ／ｚ，４５３）、［Ｍ＋Ｈ＋Ｎａ］$^{2+}$（ｍ／ｚ，４６４）、および［Ｍ＋２Ｎａ

］$^{2+}$（ｍ／ｚ，４７５）を示す。ｍ／ｚ　４５３のピークは、ＭＳ／ＭＳスペクトルにより確認された二重電荷の付加イオンであった。

【００６８】

図１１は、同じパラメータ（約２ｋＶ、溶媒：ＭｅＯＨ：$Ｈ_2Ｏ$＝１：１）を用いた、（Ａ）紙の薄片および（Ｂ）ＰＶＤＦ膜上のペプチド分析（１０ｐｐｍのブラジキニン２-９）間の違いを示すＭＳスペクトルである。

【００６９】

本明細書におけるデータは、本発明のプローブが、純粋な化合物の検出用として、５０から１０００超の質量／電荷範囲にわたって良好に機能することを示す。データは、ヘロイン、コカインおよびメタドンのような違法薬物を含めて、ほとんどの化学物質に対して１ｎｇ／ｍＬと低いところまで検出が達成されたことをさらに示す。

【００７０】

（実施例７）

複合混合物

本発明の方法、デバイスおよびシステムを用いて、尿、血液、およびコーラ飲料のような複合混合物が検査された。すべての実験は、Ｆｉｎｎｉｇａｎ　ＬＴＱ質量分析計（Ｔｈｅｒｍｏ　Ｅｌｅｃｔｒｏｎ，Ｓａｎ　Ｊｏｓｅ，ＣＡ）を用いて行われた。

【００７１】

図７Ａは、全血サンプルからヘロインが、「スポット」法によって検出されたことを示すＭＳ／ＭＳスペクトルを示す。２００ｐｐｂのヘロインを含んだ０．４μＬの全血サンプルが三角紙の中心に付けられて、$１ｍｍ^2$の血液スポットを形成した。スポットが乾燥した後、１０μｌの溶媒（ＭｅＯＨ／$Ｈ_2Ｏ$／ＨＯＡｃ（５０：４９：１，ｖ／ｖ／ｖ））が三角紙の後端に付けられた。毛細管効果に起因して、溶媒が前方へ移動して、血液スポット中の化学物質を溶解させた。最終的に、溶媒が紙の先端部に到達したときに、エレクトロスプレーが生じた。上述の「血液スポット」法の有効性を実証すべく、エレクトロスプレーのために直接に全血が紙上に加えられた。ＭＳ／ＭＳスペクトルは、たとえ濃度が２０ｐｐｍと高いときでも、１０μｌの全血サンプルからヘロインが検出されなかったことを示した（図７Ｂ）。

【００７２】

図８Ａは、未処理の尿サンプルからヘロインが、「スポット」法によって検出できることを示すＭＳ／ＭＳスペクトルを示す。１００ｐｐｂのヘロインを含んだ０．４μｌの未処理の尿サンプルが三角紙の中心に付けられて、$１ｍｍ^2$の尿スポットを形成した。スポットが乾燥した後、１０μｌの溶媒（ＭｅＯＨ／$Ｈ_2Ｏ$／ＨＯＡｃ（５０：４９：１，ｖ／ｖ／ｖ））が三角紙の後端に付けられた。毛細管効果に起因して、溶媒が前方へ移動し、血液スポット中の化学物質を溶解させた。最終的に、溶媒が紙の先端部に到達したときに、エレクトロスプレーが生じた。上述の「スポット」法の有効性を実証すべく、エレクトロスプレーのために直接に未処理の尿が紙上に加えられた。ＭＳ／ＭＳスペクトルは、濃度が１００ｐｐｂのときに、１０μｌの未処理の尿サンプルからヘロインが検出されないことを示した（図８Ｂ）。

【００７３】

図９Ａは、サンプル調製なしで、コーラ飲料からカフェインが検出されたことを示すＭＳスペクトルである。図９Ｂは、コーヒー粉末からカフェインが検出されたことを示すＭＳスペクトルである。三角紙を用いて表面を拭き取ることによって、コーヒーバッグからコーヒー粉末が収集された。

【００７４】

図２２ＡおよびＢは、それぞれ正モードおよび負モードで分析された、コカコーラ（コーラ飲料）のスペクトルを示す。正モードにおける質量スペクトルでは、ＭＳ／ＭＳスペクトル中で同定された、この飲料中の高濃度のカフェイン（１００μｇ／ｍＬ）に起因して、プロトン化されたカフェインのピーク、ｍ／ｚ　１９５が、支配された（図２２Ｃ）。負モードにおけるＭＳ／ＭＳスペクトルでは、２つの高濃度化合物、安息香酸カリウム

およびアセスルファムカリウムが同定された（図２２Ｄ～Ｅ）。

【００７５】

図２２Ｆは、採尿の２時間前にコカコーラ（コーラ飲料）を飲んだヒトからの尿におけるカフェインのスペクトルを示す。尿は、同じくイオン化され易い尿素を非常に高い濃度で含む。それ故に、プロトン化された尿素[ｍ／ｚ，６１]および尿素２量体［ｍ／ｚ，１２１］が、ＭＳスペクトルでは支配的である。しかしながら、ＭＳ／ＭＳスペクトルでは、プロトン化されたカフェインが同定されて、尿サンプル中で良好な信号対雑音比を示した。

【００７６】

図１０は、サンプル調製なしに、分析のために採られた尿のＭＳスペクトルを示す。図１０Ａは、コーヒーを消費したヒトからの尿に検出されたカフェインの質量スペクトルである。図１０Ｂは、コーヒーを消費しなかったヒトからの尿には、カフェインが検出されなかったことを示す質量スペクトルである。

【００７７】

図２２Ｇは、拭き取られたサンプルとして採集されたヘロイン（ｍ／ｚ，３７０）のＭＳスペクトルを示す。５０ｎｇのヘロインを含んだ５μＬの溶液が、デスクトップの１ｃｍ^{2}領域上にスポットされた。三角紙が濡らされて、デスクトップの表面を拭き取るために用いられた。その後、質量検出のために、この三角紙に高電圧源が接続された。このデータは、本発明のプローブが、質量検出用のイオン化源、ならびにサンプリング・デバイスという二重の役割を持ちうることを示す。本発明のプローブを用いて表面を拭き取ることによって、固体表面上の微量サンプルを簡単に採集することができた。ダストおよび他の妨害物も三角紙上で採集されたが、この複合マトリックスから直接にヘロインを検出することができた。

【００７８】

（実施例８）

抽出なしのＥＳＩによる植物組織の直接分析

図１２は、４種類の植物のスライス組織を用いた、植物組織の直接的なＭＳスペクトルを示す。（Ａ）タマネギ、（Ｂ）スプリング・オニオン、ならびに２つの異なった葉（Ｃ）および（Ｄ）。

【００７９】

図１３は、ビタミンＣ分析のＭＳ／ＭＳスペクトルを示す（Ａ）サンプル調製なしのタマネギの直接分析、（Ｂ）標準液を使用。

【００８０】

（実施例９）

全血および他の生体液

血漿、リンパ、涙、唾液および尿のような体液は、広範囲の分子量、極性、化学的特性および濃度を持つ分子を含んだ複合混合物である。体液中の特定の化学成分のモニタリングは、臨床診断、薬物開発、法医毒性学、乱用薬物検出、および治療薬物モニタリングを含めて、多数の異なった分野において重要である。派生流体である血漿および血清を含めて、血液、ならびに尿のテストは、臨床モニタリングにおいてとりわけ重要である。

【００８１】

臨床の現場では、血液からの多種多様な化学物質が日常的にモニターされる。一般的な例は、ナトリウムおよびカリウムのような電解質を、尿素、グルコース、およびクレアチンとともに測定する基礎代謝検査と、総コレステロール、高密度リポタンパク質（ＨＤＬ：ｈｉｇｈ　ｄｅｎｓｉｔｙ　ｌｉｐｏｐｒｏｔｅｉｎ）、低密度リポタンパク質（ＬＤＬ：ｌｏｗ　ｄｅｎｓｉｔｙ　ｌｉｐｏｐｒｏｔｅｉｎ）およびトリグリセリド類の測定を含む、心血管疾患リスクを持つ個人を特定するための脂質検査とを含む。血液中の化学物質に対するほとんどの臨床検査は、遠心分離を用いて血液細胞から分離された血液の液体成分である、血清について実際は行われる。多くの医療診断テストは、比色分析に依存し、それ故に光学的に透明な流体が必須であることから、このステップが必要である。遠

心分離後に、対象分子の検出は、多数の方法で、すなわち最も一般には、酵素結合免疫吸着測定法（ＥＬＩＳＡ：ｅｎｚｙｍｅ－ｌｉｎｋｅｄ ｉｍｍｕｎｏｓｏｒｂｅｎｔ ａｓｓａｙ）またはラジオイムノアッセイ（ＲＩＡ：ｒａｄｉｏｉｍｍｕｎｏａｓｓａｙ）のようなイムノアッセイか、あるいは、選択的酵素による対象分子の酸化が、コレステロール（コレステロール酸化酵素による酸化）またはグルコース（グルコース酸化酵素による酸化）に対するテストのように、色変化を伴う反応に結び付けられる酵素アッセイによって進められる。

【００８２】

薬学では、紙上の乾燥血液スポットとしての全血サンプルの保存および輸送にかなり関心がある（Ｎ．Ｓｐｏｏｎｅｒ ｅｔ ａｌ．Ａｎａｌ．Ｃｈｅｍ．，２００９，８１，１５５７）。血液中に見られる化学物質のほとんどのテストは、液状サンプルで、典型的には液状の全血から分離された血清または血漿で行われる。液状の血液または血液成分に必要とされる保存、輸送および取扱いは、いくつかの課題を提示する。いくつかのテストには液体形態の血液が不可欠であるが、他は、表面（通常は紙）上にスポットして乾燥させた血液または他の体液で行うことができる。

【００８３】

本発明のプローブおよび方法は、いかなるサンプル調製も必要なしに、全血を分析することができる。サンプルは、次のように調製された。０．４μＬの血液が、三角紙の中心に直接に付けられ、乾燥のために約１分間放置されて、乾燥血液スポットを形成した（図２３Ａ）。１０μＬのメタノール／水（１：１，ｖ／ｖ）が、三角紙の後端付近に付けられた。この溶液は、毛細管作用によって駆動されて紙を横切って進み、その深さ方向全体に紙を濡らした。溶液が、乾燥血液スポットと相互作用するにつれて、血液からの検体が溶液に入り、イオン化のためにプローブ先端部へ輸送された（図２３Ａ）。血液サンプル分析のプロセスは、約２分で完了した。

【００８４】

様々な薬物が全血中に加えられ、上記のように、この血液が本発明のプローブに付けられた。様々な薬物の検出が以下に記載される。

【００８５】

イマチニブ（ＧＬＥＥＶＥＣ）、慢性骨髄性白血病の処置用としてＦＤＡにより承認された２－フェニルアミノピリミジン誘導体は、どちらかと言えば狭い濃度範囲にわたって有効である。治療域を含む濃度のイマチニブを加えたヒト全血が、分析のために小さい三角紙に付けられた（図１４Ａ）。プロトン化されたイマチニブ、ｍ／ｚ ４９４のタンデム型質量スペクトル（ＭＳ／ＭＳ、図１４Ｂ）は、特徴的な単一フラグメントイオンを示した。全血中のイマチニブの定量化は、この信号と、内部標準として加えたイマチニブ－ｄ８の既知の濃度に対する信号とを用いて達成された。相対応答は、治療域全体を含む、広い濃度範囲にわたって線形であった（図１４Ｃ）。

【００８６】

全血分析のためのペーパースプレーを評価すべく、乾燥血液スポット法を用いて、アテノロール、心血管疾患に使用される□－遮断薬がテストされた。アテノロールは、所望の濃度で全血中に直接に加えられ、この血液サンプルが、上記のようにペーパースプレーに用いられた。乾燥血液スポット中の４００ｐｇのプロトン化されたアテノロール（０．４μＬの全血中の１μｇ／ｍＬのアテノロール）が、質量スペクトル中に示され、ＭＳ／ＭＳスペクトルは、たとえ乾燥血液スポット中の２０ｐｇのアテノロール（０．４μＬの全血中の５０ｕｇ／ｍＬのアテノロール）であっても、同定されうることを示唆した（図２３Ｂ）。

【００８７】

図２３Ｃは、全血中のヘロインの質量スペクトルである。本明細書におけるデータは、乾燥血液スポット中の２００ｐｇのヘロインをタンデムマスを用いて検出できたことを示す。

【００８８】

紙媒体が、フィルタとしての第二の役割を果たし、血液細胞を保持することも観察された。意義深いことに、サンプルは、分析前に紙からの移動を必要としないで、保存媒体上で直接に分析された。すべての実験は、オープンラボ環境で行われた。本方法論が、プライマリケア施設における質量分析法の利用拡大に寄与する潜在力を持つことを２つの追加的な特徴が指示した：分析用血液サンプルは、カニューレではなく、ピンプリックによって採取された；実験は、ハンドヘルド型質量分析計を用いて容易に行われた（図１８および以下の実施例１０）。

【００８９】

（実施例１０）

ハンドヘルド型質量分析計

本発明のシステムおよび方法は、ハンドヘルド型質量分析計に適合した。ハンドヘルド型質量分析計（Ｍｉｎｉ　１０，パーデュー大学における特別注文）を用いて、ペーパースプレーが行われた。１０μｇ／ｍＬのアテノロールを加えた全血の分析。血液（０．４μＬ）が乾燥した後（約１分）、質量検出のためにスプレーを発生させるべく、紙にメタノール／水（１：１；１０μＬ）が付けられた（図１８）。挿入図は、たとえアテノロール量が４ｎｇと低いときでも、タンデム型質量スペクトルを用いて、アテノロールを全血中で容易に同定できたことを示す。

【００９０】

（実施例１１）

アンジオテンシンＩ

図１５は、クロマトグラフィ紙上のアンジオテンシンＩ溶液（Ａｓｐ－Ａｒｇ－Ｖａｌ－Ｔｙｒ－Ｉｌｅ－Ｈｉｓ－Ｐｒｏ－Ｐｈｅ－Ｈｉｓ－Ｌｅｕ（配列番号：1）、１０μＬ、メタノール／水、１：１，ｖ／ｖ中に８μｇ／ｍＬ）のペーパースプレー質量スペクトルである（スプレー電圧，４．５ｋＶ）。挿入図は、質量範囲６３０～７００にわたる拡大図を示す。プロトン化されたイオン（［Ｍ＋２Ｈ］$^{2+}$）、およびナトリウム付加イオン（［Ｍ＋Ｈ＋Ｎａ］$^{2+}$、［Ｍ＋２Ｎａ］$^{2+}$）が主要なイオン種である。

【００９１】

（実施例１２）

果物上の農薬

果物上の農薬を速やかに分析するために、紙で拭くことによるサンプル採集と、それに続く本発明のプローブによる分析とが利用された。メタノールで濡らしたクロマトグラフィ紙（３×３ｃｍ）を用いて、食料雑貨店から購入したレモンの皮上の１０ｃｍ^{2}領域が拭かれた。メタノールが乾燥した後、紙の中心から三角形がカットされ、１０μＬのメタノール／水溶液を付けることによって、ペーパースプレーに用いられた。記録されたスペクトル（図３４Ａ～Ｂ）は、元々レモン皮上の防カビ剤、チアベンダゾール（プロトン化された分子イオンに対してｍ／ｚ　２０２、およびナトリウム付加イオンに対してｍ／ｚ　２２４）が、紙上に採集されており、ＭＳにより容易に同定できて、かつＭＳ／ＭＳ分析を用いて確認できたことを示す。別の防カビ剤イマザリル（ｍ／ｚ　２９７）も、存在することが認められた。

【００９２】

（実施例１３）

腫瘍サンプル

本発明のシステムおよび方法を用いて、ヒト前立腺腫瘍組織と正常組織とが分析された。腫瘍組織および隣接正常組織の切片は、１５μｍ厚であり、脱離エレクトロスプレーイオン化（ＤＥＳＩ）を用いた画像研究のために、ガラススライド上に固定された。金属針を用いて、腫瘍領域から、次に正常領域からの体積１ｍｍ^{2}×１５μｍの組織が、ガラススライドから除去されて、ペーパースプレー分析のために三角紙の表面上に置かれた。

【００９３】

一滴のメタノール／水（１：１，ｖ：ｖ；１０μｌ）が溶媒として紙に加えられ、その後、スプレーを生成するために４．５ｋＶの正の直流電圧が印加された。ホスファチジル

コリン（ＰＣ：ｐｈｏｓｐｈａｔｉｄｙｌｃｈｏｌｉｎｅ）およびスフィンゴミエリン（ＳＭ：ｓｐｈｉｎｇｏｍｙｅｌｉｎ）のようなリン脂質が、スペクトル中で同定された（図１７ＡおよびＢ）。腫瘍組織では、正常組織に比べて、ｍ／ｚ　７９８における[ＰＣ（３４：１）＋Ｋ]$^{+}$のピークは、著しくより高く、ｍ／ｚ　７２５における[ＳＭ（３４：１）＋Ｎａ]$^{+}$、ｍ／ｚ　７５６における[ＳＭ（３６：０）＋Ｎａ]$^{+}$およびｍ／ｚ　８０４における[ＳＭ（３６：４）＋Ｎａ]$^{+}$のピークは、著しくより低かった。

【００９４】

（実施例１４）

治療薬物モニタリング

薬物の投与は、安全で効果的なアウトカムを達成するために、適切な投薬ガイドラインを管理することに依拠する。このガイドラインは、薬物に関する薬物動態学（ＰＫ：ｐｈａｒｍａｃｏｋｉｎｅｔｉｃｓ）および薬動力学（ＰＤ：ｐｈａｒｍａｃｏｄｙｎａｍｉｃｓ）を調査する、臨床試験の間に確立される。臨床試験は、標準用量を確立するためにＰＫ－ＰＤ調査を利用し、体重、体表面積などのような変数を用いた式に従って、これを確定もしくは調整することができる。しかしながら、薬物曝露、すなわち経時的に循環する薬物の量は、患者毎に異なる多数の要因によって影響される。例えば、個体の代謝率、血漿タンパク質の種類およびレベル、ならびに腎障害および／または肝障害のような既存の状態は、すべてｉｎ　ｖｉｖｏの薬物暴露に影響を及ぼす役割を担う。さらにまた、他の医薬と組み合わせた薬物の投与も、曝露に影響を及ぼすことがありうる。結果として、最適な薬物投与レジメンを予測して処方することは、往々にして困難である。

【００９５】

薬物への過剰曝露または曝露不足は、それぞれ、毒性効果または効能の低減に繋がることがある。これらの懸念に対処するために、治療薬物モニタリング（ＴＤＭ：ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃ　ｄｒｕｇ　ｍｏｎｉｔｏｒｉｎｇ）を用いることができる。ＴＤＭとは、体内における活性薬物レベルの測定と、それに続く効能を増加させる、および／または毒性を減少させるための投薬あるいはスケジュールの調整とである。ＴＤＭは、薬物における薬物動態の変動が、治療域に比べて大きく、薬物曝露と効能および／または毒性との間に確定した関係が存在するときに示される。ＴＤＭに関する他の要件は、活性成分に対して十分に精密かつ正確なアッセイが利用できなければならないことである。イムノアッセイおよび液体クロマトグラフィ質量分析法（ＬＣ－ＭＳ：ｌｉｑｕｉｄ　ｃｈｒｏｍａｔｏｇｒａｐｈｙ　ｍａｓｓ　ｓｐｅｃｔｒｏｍｅｔｒｙ）が、ＴＤＭによく利用される方法である。イムノアッセイと比較して、ＬＣ－ＭＳは、広い適用性、高感度、良好な定量化、高特異性および高スループットを含む利点を有する。ポイント・オブ・ケアの治療薬物モニタリングを提供するために、本発明のプローブを標準的な質量分析計と結合することもできる。

【００９６】

乾燥血液スポット中の薬物イマチニブ（米国におけるＧＬＥＥＶＥＣおよび欧州／オーストラリアにおけるＧＬＩＶＥＣ、慢性骨髄性白血病の処置用）が、ペーパースプレーおよびラボスケールＬＴＱ質量分析計を用いて分析された。全血中のイマチニブの定量化は、内部標準として使用した既知濃度のイマチニブ－ｄ８によるＭＳ／ＭＳスペクトルを用いて達成された（図１４Ｃ）。相対応答は、治療域全体を含む広範囲の濃度にわたって線形であった（図１４Ｃ）。

【００９７】

（実施例１５）

高スルーアウト検出

マルチチップ・デバイスが作製されて、高スループット分析に適用された（図２８Ａ）。マルチチップ・デバイスは、単一の銅ストリップにすべて接続された三角紙の一組であった（図１８Ａ）。この銅ストリップに電極が接続された。複数のサンプルが、単一の紙基材上に置かれ、マルチチップ・プローブを用いて順次分析された（図２８Ｂ～Ｃ）。それぞれの先端部に１００ｐｐｍのサンプル（コカインまたはカフェイン）を含んだ０．２

μＬのメタノール／水が予め添着されて、乾燥された。次に、マルチチップ・デバイス全体が、移動ステージ上を一定速度で左から右へ動かされて、移動の間に、各先端部に対して後部から７μＬのメタノール／水が付けられた。

【００９８】

スプレー中の汚染物質を防ぐために、２つのサンプル先端部間にブランクが挿入された。図２８Ｃは、全体スキャンに対する信号強度を示す。全強度からは、６つの先端部が６つの個別の高信号ピークを与えた。コカインでは、先端部２および先端部６がスキャンされたときに、ピークが現れたに過ぎなかった。カフェインでは、先端部４から最も高いピークが得られ、サンプルを添着した順序と一致した。

【００９９】

（実施例１６）

組織分析

本発明のプローブを用いた動物組織中の化学物質の直接分析が、図２９Ａに示されるように行われた。組織の小さい切片が除去されて、三角紙上に置かれた。メタノール／水（１：１　ｖ：ｖ；１０μＬ）が溶媒として紙に加えられ、次に、ＭＳ分析のためにスプレーを生成すべく、４．５ｋＶの正の直流電圧が印加された。ブタ副腎組織（１mm^3，図２９Ｂ）に対して、プロトン化されたホルモン・イオンが観察された。図１６は、ペーパースプレーによる動物組織中のホルモンの直接分析を示す質量スペクトルである。ブタ副腎組織の小片（１ｍｍ×１ｍｍ×１ｍｍ）が紙の表面上に置かれて、ＭｅＯＨ／水（１：１　ｖ：ｖ；１０μＬ）が加えられ、スプレーを生成するために紙に電圧が印加された。ホルモンのエピネフリンおよびノルエピネフリンが、スペクトル中で同定された；高質量では、ホスポリピッドの信号が支配的であった。

【０１００】

腫瘍領域および隣接正常領域から除去されたヒト前立腺組織（１mm^2×１５μｍ，図２９ＣおよびＤ）に対して、脂質のプロファイルが得られた。ホスファチジルコリン（ＰＣ）およびスフィンゴミエリン（ＳＭ）のようなリン脂質が、スペクトラム中で同定された。腫瘍組織では、正常組織と比較して、ｍ／ｚ　７９８における[ＰＣ（３４：１）＋Ｋ]$^+$のピークは、著しくより強く（図２９Ｃ）、ｍ／ｚ　７２５における[ＳＭ（３４：１）＋Ｎａ]$^+$、ｍ／ｚ　７５６における[ＳＭ（３６：０）＋Ｎａ]$^+$、およびｍ／ｚ　８０４における[ＳＭ（３６：４）＋Ｎａ]$^+$のピークは、著しくより低かった（図２９Ｄ）。

【０１０１】

（実施例１７）

オンライン誘導体化

比較的低いイオン化効率と、比較的低い混合物中濃度とを持つ標的検体の分析に対しては、十分な感度を提供するために、誘導体化がしばしば必要である。標的検体に適した試薬を含んだメタノール／水溶液のように、スプレー溶液に試薬を加えることによって、オンラインの誘導体化を実行することができる。使用される試薬が紙上で安定であれば、プローブを作製するときに、それらを多孔質材料上に加えることもできる。

【０１０２】

デモンストレーションとして、血清中のコレステロールを分析するために、５００ｎｇのベタインアルデヒドクロリドを含んだ５μＬのメタノールが、三角紙上に加えられ、乾燥されて、誘導体化試薬が予め添着されたサンプル基材が作製された。ヒドロキシル基との反応を介したベタインアルデヒド（ＢＡ：ｂｅｔａｉｎｅ　ａｌｄｅｈｙｄｅ）によるオンラインの電荷ラベリングは、組織中のコレステロールの同定には非常に有効であることが、これまでに明らかにされている（Ｗｕ　ｅｔ　ａｌ．，Ａｎａｌ　Ｃｈｅｍ．２００９，８１：７６１８－７６２４）。分析に三角紙を用いたときに、２μＬのヒト血清が紙上にスポットされ、乾燥スポットが形成されて、その後、ペーパースプレーイオン化を用いて分析された。ベタインアルデヒドとメタノールとの間の反応を回避するためには、メタノール／水の代わりに、１０μＬのＡＣＮ／$CHCl_3$（１：１　ｖ：ｖ）溶液が、

ペーパースプレーに用いられた。

【０１０３】

ブランクと試薬が予め添着された三角紙とを用いた分析間の比較が、図３０ＡおよびＢに示される。誘導体化試薬なしでは、プロトン化されたイオン[Ｃｈｏｌ＋Ｈ]$^{+}$（ｍ／ｚ　３８７）、水損失［Ｃｈｏｌ＋Ｈ－Ｈ$_{2}$Ｏ]$^{+}$（ｍ／ｚ　３６９）、およびナトリウム付加イオン[Ｃｈｏｌ＋Ｎａ]$^{+}$（ｍ／ｚ　４０９）のような、コレステロール関連ピークは、観察されなかった（図３０Ａ）。誘導体化試薬ありでは、イオン[Ｃｈｏｌ＋ＢＡ]$^{+}$が、ｍ／ｚ　４８８．６において観察された（図３０Ｂ）。このイオンに対してＭＳ／ＭＳ分析が行われ、特徴的なフラグメントイオン　ｍ／ｚ　３６９が観察された（図３０Ｃ）。

【０１０４】

（実施例１８）

修飾されたペーパースプレー基材を用いたペプチドの予備濃縮

フォトレジスト処理を用いた、紙の表面上での化学物質の予備濃縮。これまでに記載されたように、ＳＵ－８フォトレジストを用いた処理によって、クロマトグラフィ紙が疎水性にされた（Ｍａｒｔｉｎｅｚ　ｅｔ　ａｌ．，Ａｎｇｅｗ　Ｃｈｅｍ　Ｉｎｔ．Ｅｄ．，２００７，４６：１３１８－１３２０）。次に、５μｌのブラジキニン２－９溶液（純Ｈ$_{2}$Ｏ中に１００ｐｐｍ）が紙の表面上に付けられた。溶液が乾燥したときに、紙が水に入れられて１０秒間洗浄された。洗浄後に、三角紙が、ＭＳ注入口前に保持されて、溶媒として１０μｌの純粋なＭｅＯＨが付けられ、ペーパースプレーのために電圧が４．５ｋＶに設定された。比較のために、処理されていない紙基材を用いて同じ実験が行われた。

【０１０５】

図３１Ａは、フォトレジスト処理ありの紙からのブラジキニン２－９のタンデム型ＭＳスペクトルを示す。最も強いフラグメントイオン４０４の強度は、５．６６Ｅ３である。図３１Ｂは、フォトレジスト処理なしの通常のクロマトグラフィ紙からのブラジキニン２－９のタンデム型ＭＳスペクトルを示す。最も強いフラグメントイオン４０４の強度は、１．４１Ｅ１に過ぎない。これらのデータは、フォトレジスト処置されたクロマトグラフィ紙とペプチドとの間の親和力が、通常のクロマトグラフィ紙とペプチドとの間よりはるかに強く、それ故に、水による洗浄後に、紙の表面上により多くのペプチドが保持されうることを示す。純粋なメタノールを付けたときに、これらの保持されたペプチド類は、脱離して、ＭＳによって検出されるであろう。疎水性の化学物質を紙の表面上で予備濃縮するために、この方法を用いることができ、同じく他の親水性材料（例えば塩）を紙の表面から除去することもできる。

【０１０６】

（実施例１９）

極性反転

プローブに印加される電圧の極性は、質量分析器に用いられる極性と一致する必要はない。とりわけ、本発明のプローブを負電位で動作させ、しかし結果として生じる正に帯電したイオンの質量スペクトルを記録することは可能である。負イオンモードでは、ペーパースプレーにおいて大きな電子（または溶媒和電子）電流が生成される。これらの電子は、エネルギーが適切であれば、然るべき電子親和力を持つ分子によって捕捉されて、ラジカルアニオンを発生させることができる。

【０１０７】

代わりに、これらの電子は、検体の電子イオン化に関与して、ラジカルカチオンを発生させることもあり、あるいは、ＥＳＩが溶媒分子を伴い、かくして溶媒分子が検体との電荷交換を受けて、ラジカルカチオンをさらに発生させることもありうる。もしこのプロセスが十分なエネルギーで生じるのであれば、フラグメンテーションを生じうる前にラジカルカチオンが衝突によって不活性化されないことを条件として、特徴的なフラグメントイオンが生成されることもあろう。

【０１０８】

実験は、溶媒としてメタノール：水を紙に付け、本発明のプローブを－４．５ｋＶで導通させて、ベンチトップＬＴＰ上でトルエン蒸気を用いて行われた。図３２に示されるスペクトルが記録された。プロトン化された分子、ｍ／ｚ　９３を与えるイオン／分子反応が、予想通りに大気圧で生じることが注目される。しかしながら、ラジカルカチオン、ｍ／ｚ　９２、ならびにｍ／ｚ　９１および６５におけるその特徴的フラグメントの存在も注目される。

【０１０９】

興味深いのは、トルエン蒸気源が、ＭＳ注入口の近く、すなわち、紙の先端部とＭＳ注入口との間の放電のカソード領域に置かれたときに、「ＥＩ」フラグメントイオンが最も容易に生成されたことである。これは、「降下」領域におけるエネルギー電子による直接電子イオン化が、少なくとも部分的にこの挙動の原因でありうることを示唆する。

【０１１０】

（実施例２０）

血液分析用カートリッジ

図３３Ａは、質量スペクトル分析に用いられることになる多孔質材料上への血液スポッティングの例となる事例を示す。カートリッジは、容量を含む中心のバイアルとオーバーフロー・バイアルとを持つ。容量制御用バイアルの底部を塞ぐために、プラグ、例えば、設定量の内部標準化学物質を含んだ可溶膜などが用いられる。一滴の血液が、バイアル中に置かれる（図３３Ｂ）。バイアル中の血液容量は、余分な血液をオーバーフロー・バイアル中へ流すことによって制御される（図３３Ｂ）。その後、バイアル中の血液が底部で膜に溶け込み、内部標準化学物質が血液中に混合される（図３３Ｂ）。プラグが溶解すると、血液が紙基材へ流れて、制御された量のサンプルと内部標準とを持つ乾燥血液スポットが、最終的に形成される（図３３Ｂ）。

本発明の好ましい実施形態によれば、例えば、以下が提供される。

（項１）

高電圧源に接続された少なくとも１つの多孔質材料であって、溶媒の流れとは分離している前記多孔質材料、を備える質量分析プローブ。

（項２）

前記多孔質材料は、紙またはＰＶＤＦ膜である、上記項１に記載のプローブ。

（項３）

前記紙は、濾紙である、上記項２に記載のプローブ。

（項４）

前記濾紙は、三角形の小片として形作られる、上記項３に記載のプローブ。

（項５）

前記多孔質材料は、円錐形状を持つ、上記項１に記載のプローブ。

（項６）

前記多孔質材料は、ゲルである、上記項１に記載のプローブ。

（項７）

前記プローブは、複数の先端部を備える、上記項１に記載のプローブ。

（項８）

スプレーを発生させる前記先端部は、前記プローブの他の先端部より小さい角度を持つ、上記項７に記載のプローブ。

（項９）

前記多孔質材料に付けられた溶媒をさらに備える、上記項１に記載のプローブ。

（項１０）

前記溶媒は、前記多孔質材料中を通るサンプルの輸送を支援する、上記項９に記載のプローブ。

（項１１）

前記溶媒は、内部標準を含む、上記項９に記載のプローブ。

（項１２）

前記溶媒は、異なった化学的特性を持つサンプル成分の差異的な保持を可能にする、上記項９に記載のプローブ。
（項１３）
前記溶媒は、塩およびマトリックス効果を最小限に抑える、上記項９に記載のプローブ。
（項１４）
前記溶媒は、選択された検体のオンラインの化学的誘導体化を可能にする、上記項９に記載のプローブ。
（項１５）
高電圧源に接続された少なくとも１つの多孔質材料であって、溶媒の流れとは分離している前記多孔質材料、を含むプローブ；および
質量分析器
を備えるサンプル材料を分析するためのシステム。
（項１６）
前記多孔質材料は、紙またはＰＶＤＦ膜である、上記項１５に記載のシステム。
（項１７）
前記紙は、濾紙である、上記項１５に記載のシステム。
（項１８）
前記濾紙は、三角形の小片として形作られる、上記項１５に記載のシステム。
（項１９）
前記多孔質材料は、ゲルである、上記項１５に記載のシステム。
（項２０）
前期多孔質材料に付けられた溶媒をさらに含む、上記項１５に記載のシステム。
（項２１）
前記質量分析器は、質量分析計またはハンドヘルド型質量分析計用である、上記項１５に記載のシステム。
（項２２）
前記質量分析器は、四重極子イオントラップ、直線構成イオントラップ、円筒状イオントラップ、イオンサイクロトロン共鳴トラップ、オービトラップ、飛行時間、フーリエ変換イオンサイクロトロン共鳴、およびセクターからなる群から選択される、上記項１５に記載のシステム。
（項２３）
サンプルを少なくとも１つの多孔質材料に接触させることであって、前記多孔質材料は、溶媒の流れから隔てられた状態に保たれる、接触させること；
前記多孔質材料から排出される前記サンプル中の検体のイオンを発生させるために、前記多孔質材料に高電圧を印加すること；および
前記排出されたイオンを分析すること
を含むサンプルを分析するための方法。
（項２４）
前記多孔質材料に溶媒を付けることをさらに含む、上記項２３に記載の方法。
（項２５）
前記サンプルは、液体である、上記項２３に記載の方法。
（項２６）
前記サンプルは、固体である、上記項２３に記載の方法。
（項２７）
前記サンプルは、化学種または生物学的種である、上記項２３に記載の方法。
（項２８）
前記多孔質材料は、ゲルであり、前記サンプルは、オリゴヌクレオチドまたはポリヌクレオチドである、上記項２３に記載の方法。
（項２９）

前記溶媒は、前記多孔質材料中を通る前記サンプルの輸送を支援する、上記項２４に記載の方法。
（項３０）
前記溶媒は、内部標準を含む、上記項２４に記載の方法。
（項３１）
前記溶媒は、異なった化学的特性を持つサンプル成分の差異的な保持を可能にする、上記項２４に記載の方法。
（項３２）
前記溶媒は、塩およびマトリックス効果を最小限に抑える、上記項２４に記載の方法。
（項３３）
前記溶媒は、選択された検体のオンラインの化学的誘導体化を可能にする、上記項２４に記載の方法。
（項３４）
前記多孔質材料は、紙またはＰＶＤＦ膜である、上記項２３に記載の方法。
（項３５）
分析することは、前記サンプル中の検体の質量スペクトルを発生させるために質量分析器を提供することを含む、上記項２３に記載の方法。
（項３６）
前記高電圧によって発生した電界は、前記多孔質材料中を通る前記サンプルの輸送を支援する、上記項２３に記載の方法。
（項３７）
前記溶媒は、前記多孔質材料の表面を被う薄い液膜を形成する、上記項２４に記載の方法。
（項３８）
前記高電圧によって発生した電界は、前記薄い液膜中の前記検体の輸送を支援する、上記項３７に記載の方法。
（項３９）
サンプルをイオン化する方法であって、前記方法は、前記サンプル中の検体のイオンを発生させるために、少なくとも１つの多孔質材料に高電圧を印加することを含み、前記多孔質材料は、溶媒の流れとは分離している、方法。
（項４０）
前記多孔質材料は、紙またはＰＶＤＦ膜である、上記項３９に記載の方法。
（項４１）
少なくとも１つの多孔質材料と固体材料とを備える統合基材であって、高電圧源に接続され、溶媒の流れとは分離している前記統合基材を備える、質量分析プローブ。
（項４２）
前記固体材料は、鋭い角を備える、上記項４１に記載のプローブ。
（項４３）
前記少なくとも１つの多孔質材料は、複数の多孔質材料である、上記項４１に記載のプローブ。
（項４４）
サンプルを少なくとも１つの多孔質材料と固体先端部とを備える統合基材に接触させることであって、前記統合基材は、溶媒の流れとは隔てられた状態に保たれる、接触させること；
前記統合基材から排出される前記サンプル中の検体のイオンを発生させるために、前記統合基材に高電圧を印加すること；および
前記排出されたイオンを分析すること
を含むサンプルを分析するための方法。
（項４５）
前記多孔質材料に溶媒を付けることをさらに含む、上記項４４に記載の方法。

（項４６）
前記溶媒は、前記多孔質材料の前記表面を被う薄い液膜を形成する、上記項４５に記載の方法。
（項４７）
前記少なくとも１つの多孔質材料は、複数の多孔質材料である、上記項４４に記載のプローブ。

【図１Ａ】

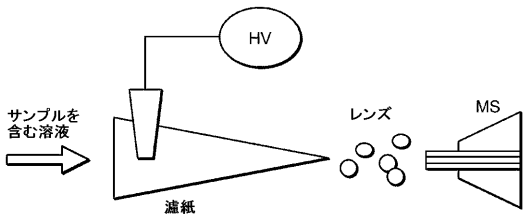


FIG. 1A

【図１Ｂ】

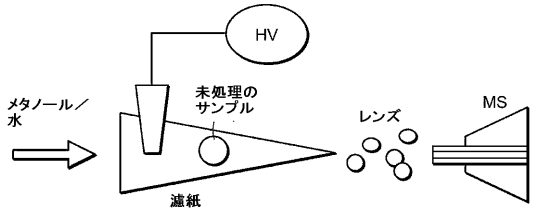
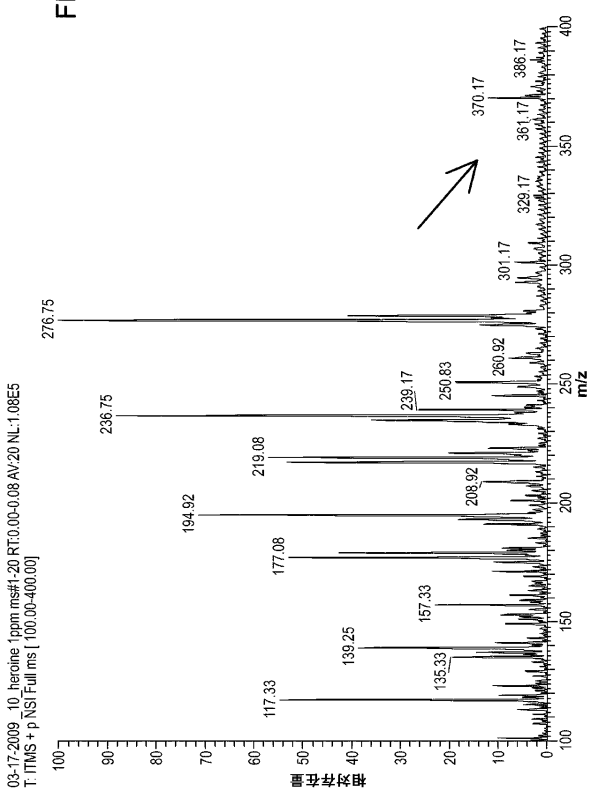


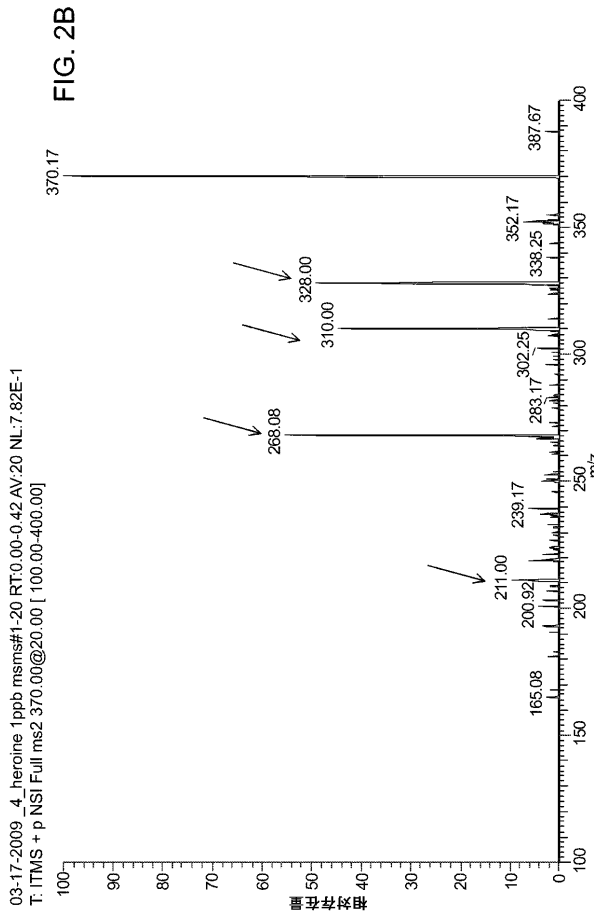
FIG. 1B

【図２Ａ】

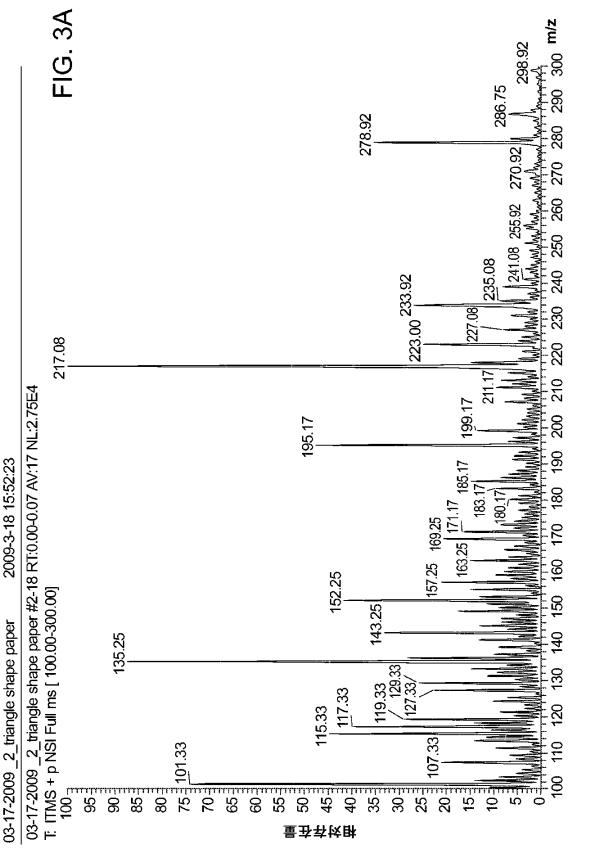
FIG. 2A



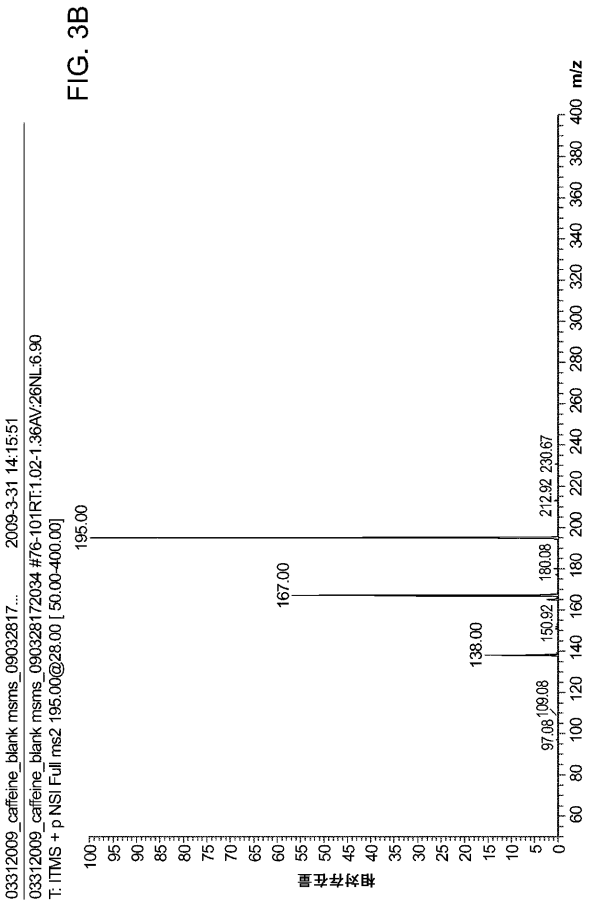
【図２Ｂ】



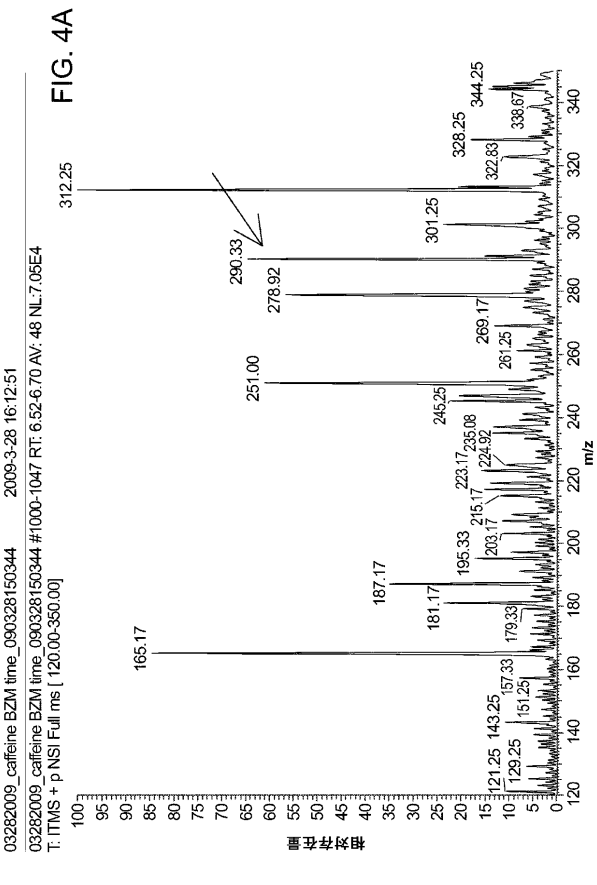
【図３Ａ】



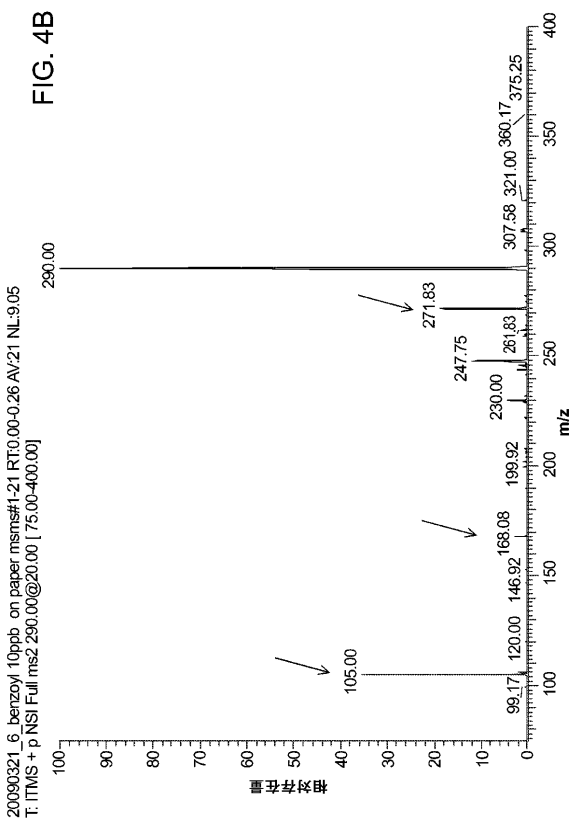
【図３Ｂ】



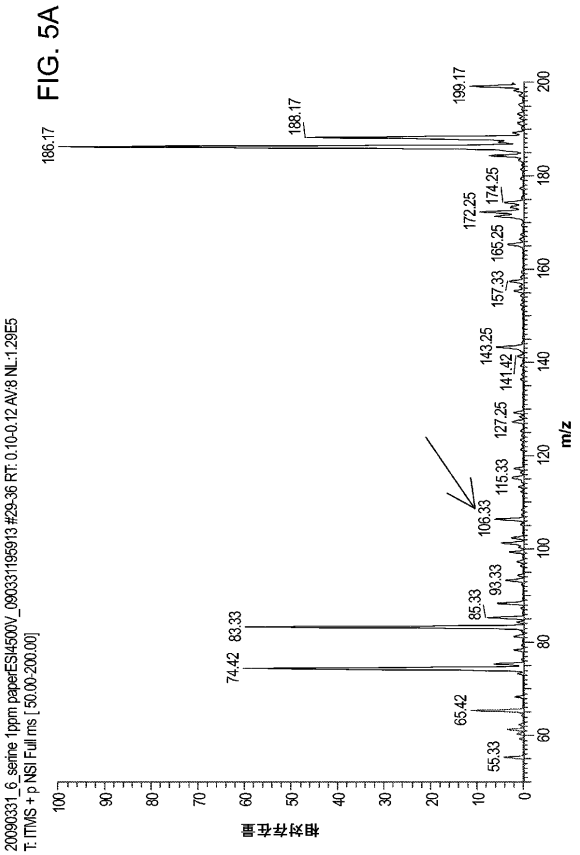
【図４Ａ】



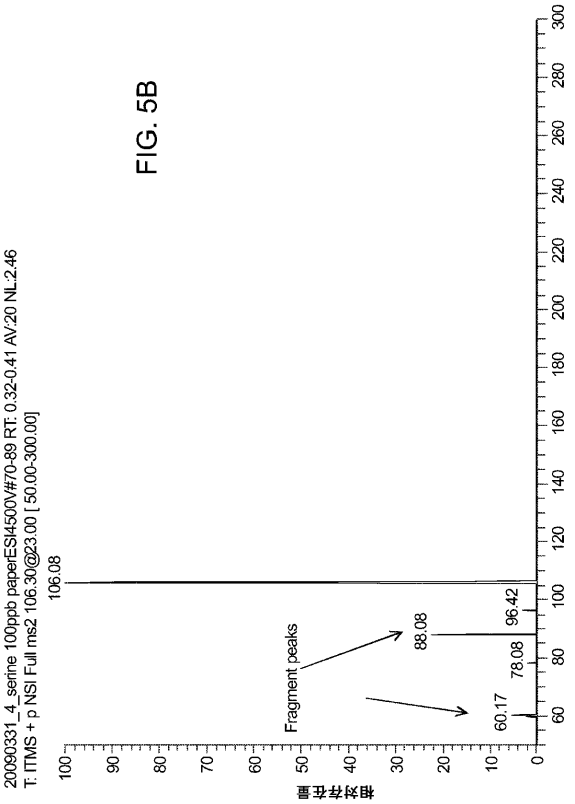
【図４Ｂ】



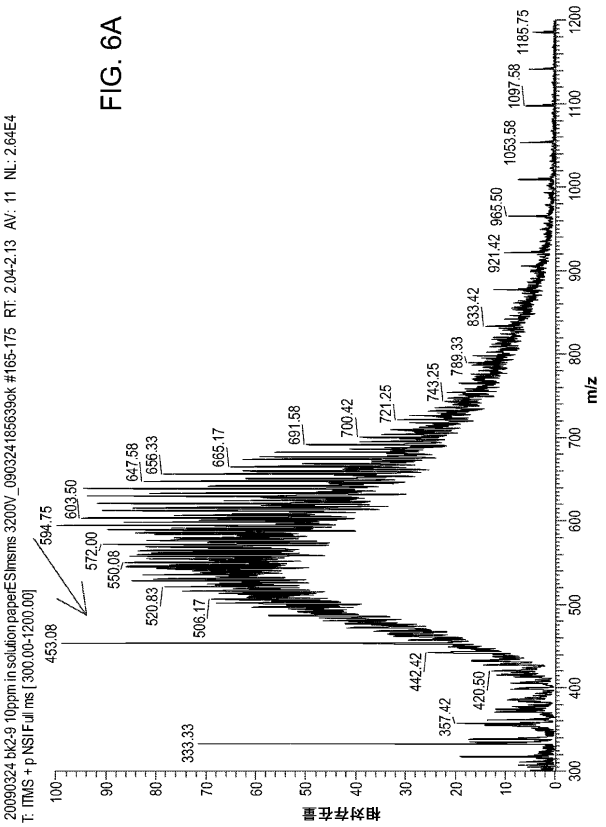
【図５Ａ】



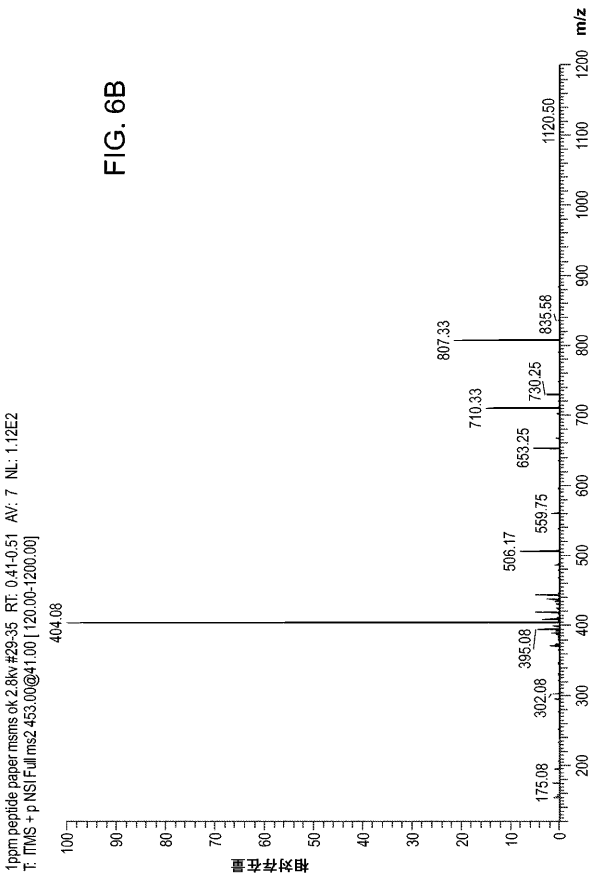
【図５Ｂ】



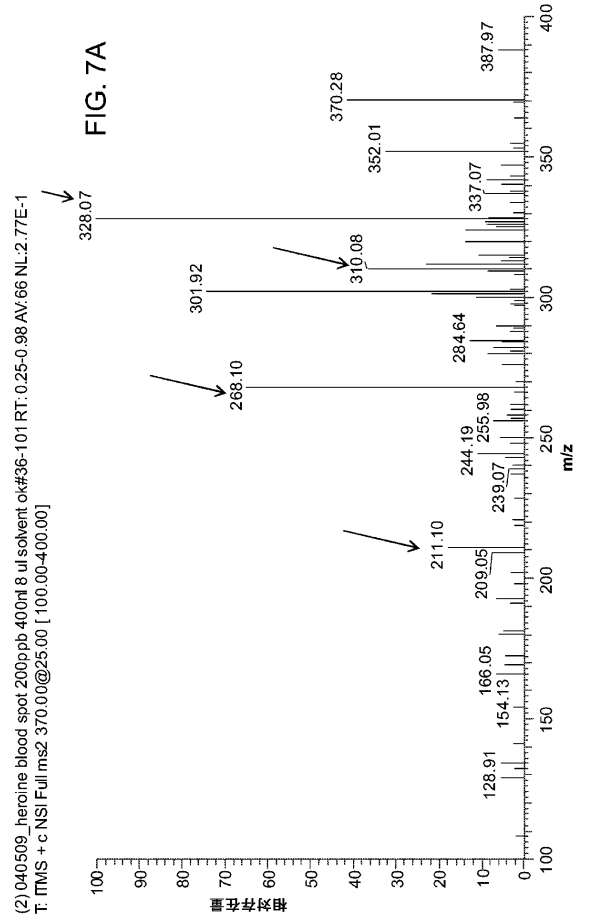
【図６Ａ】



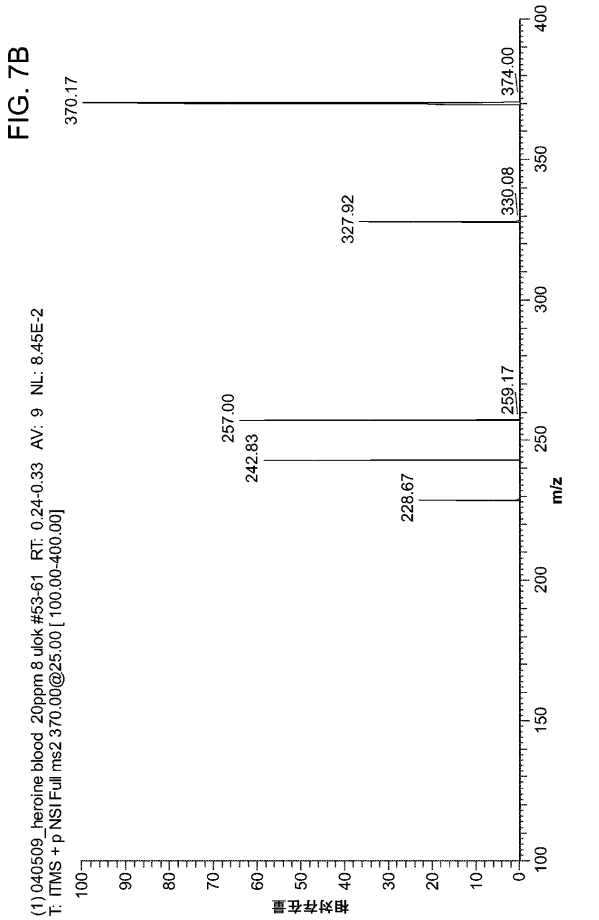
【図６Ｂ】



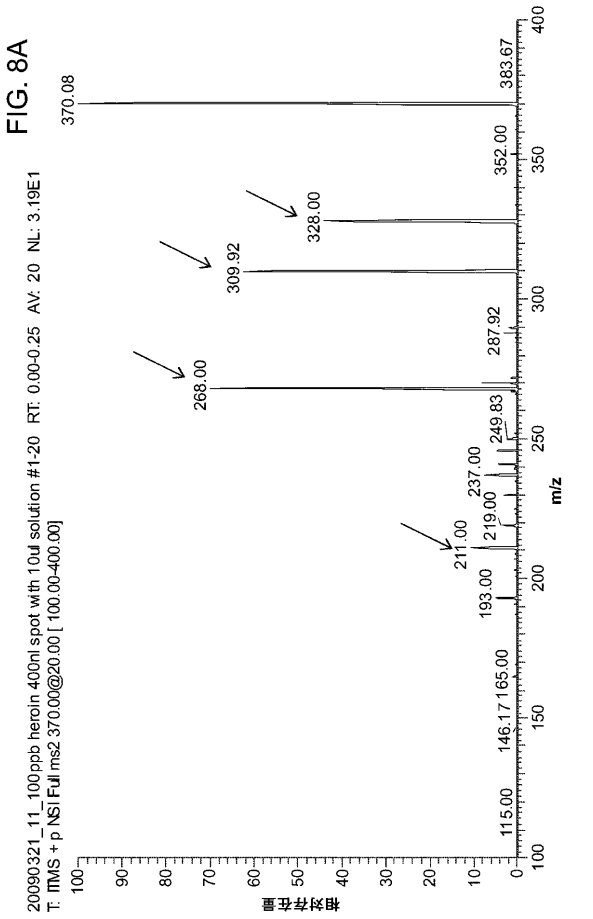
【図７Ａ】



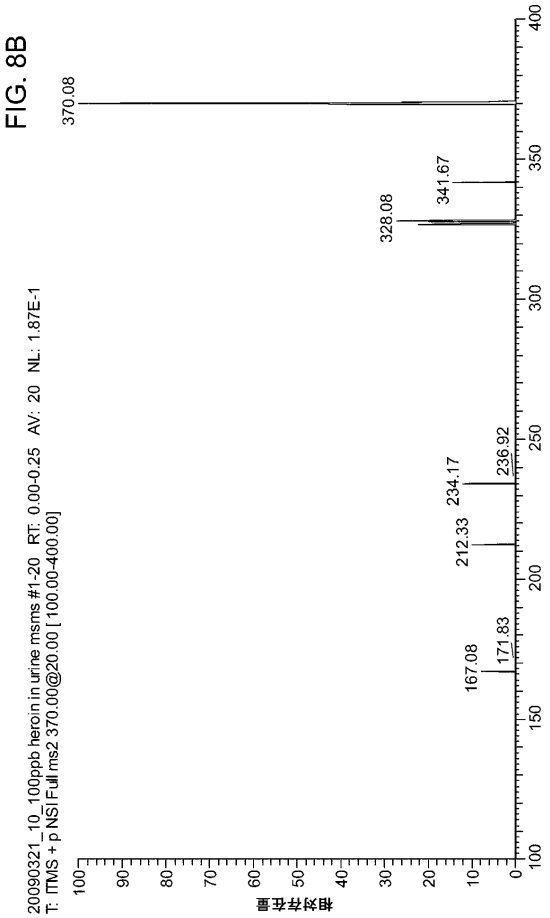
【図７Ｂ】



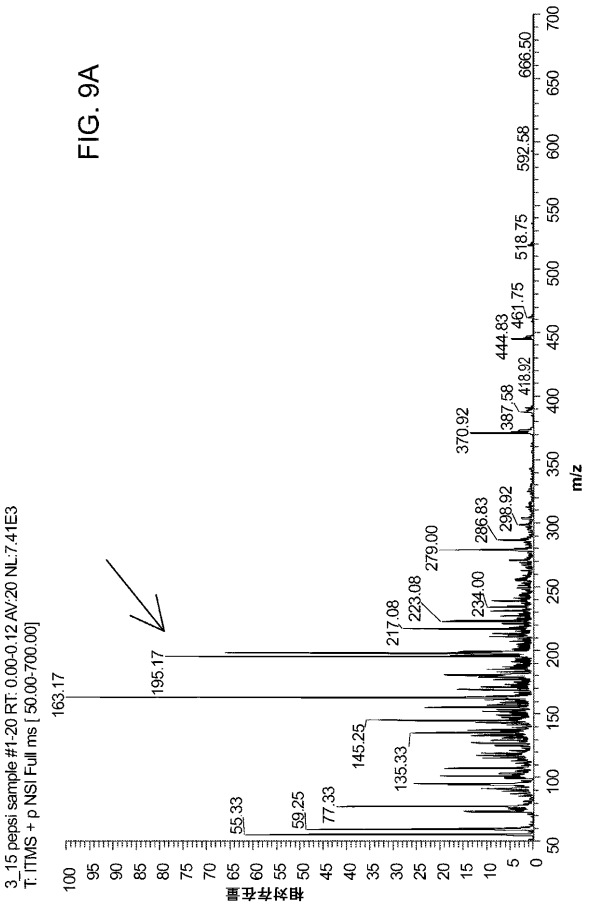
【図８Ａ】



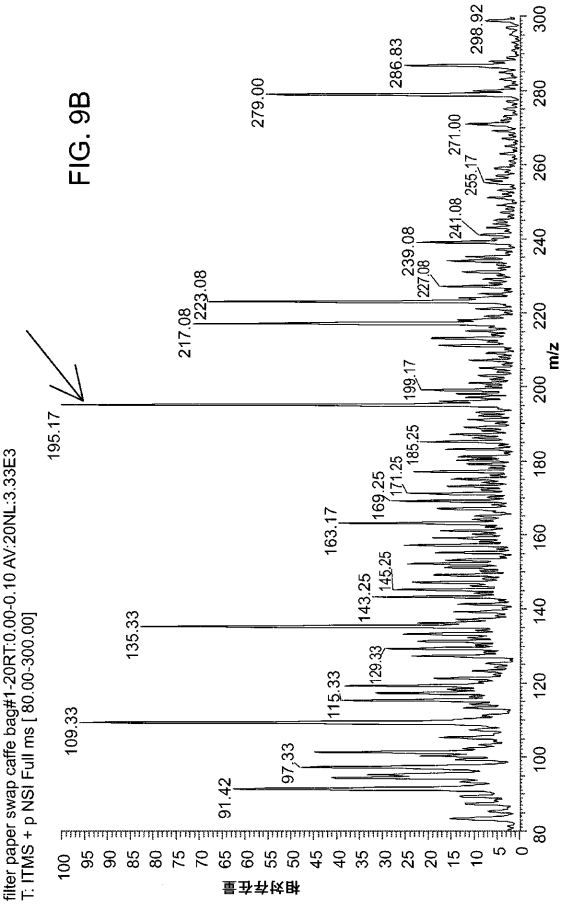
【図８Ｂ】



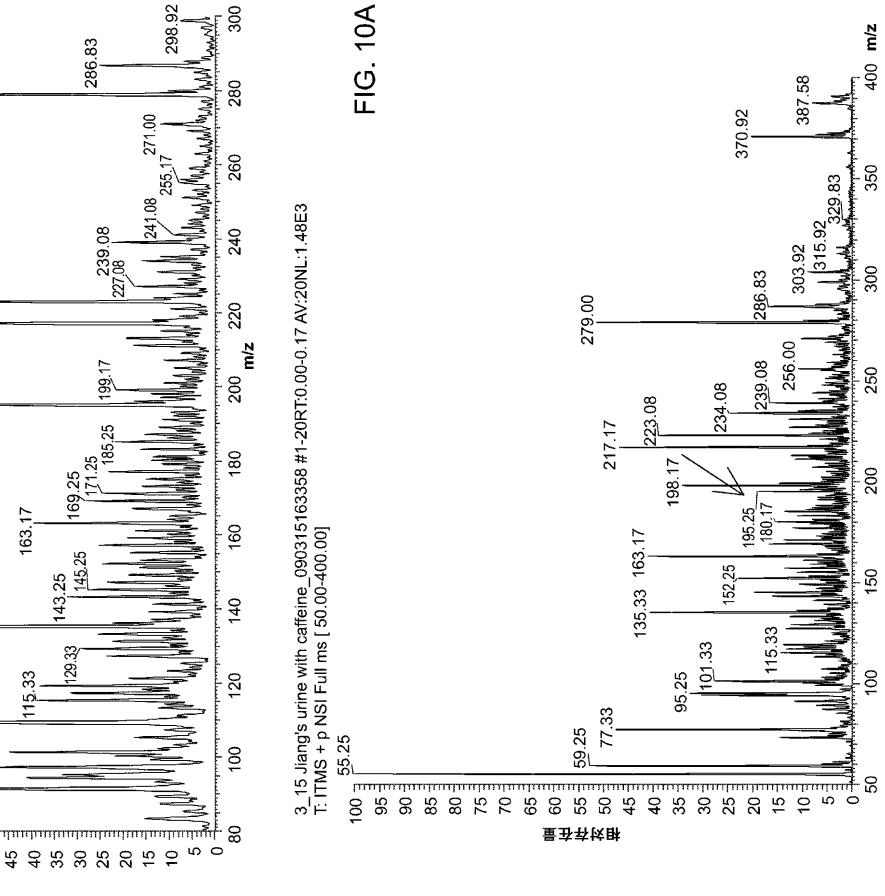
【図９Ａ】



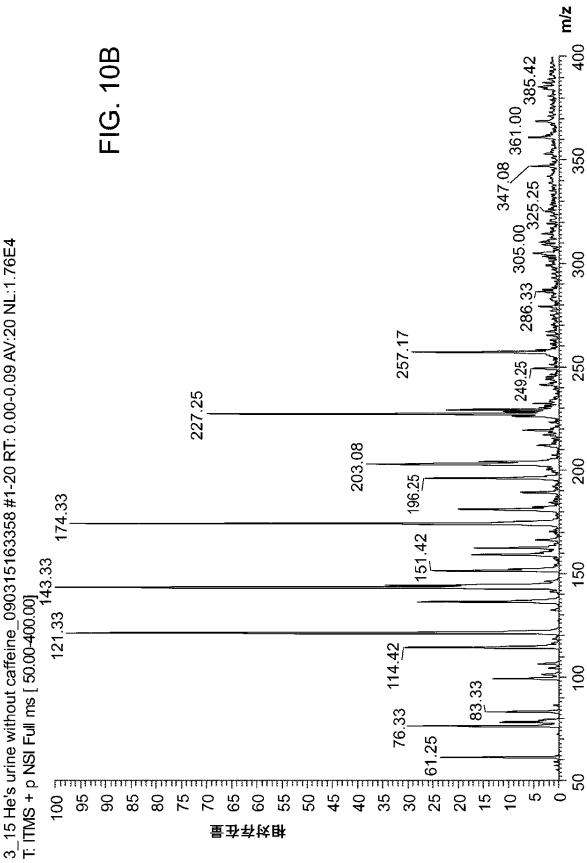
【図９Ｂ】



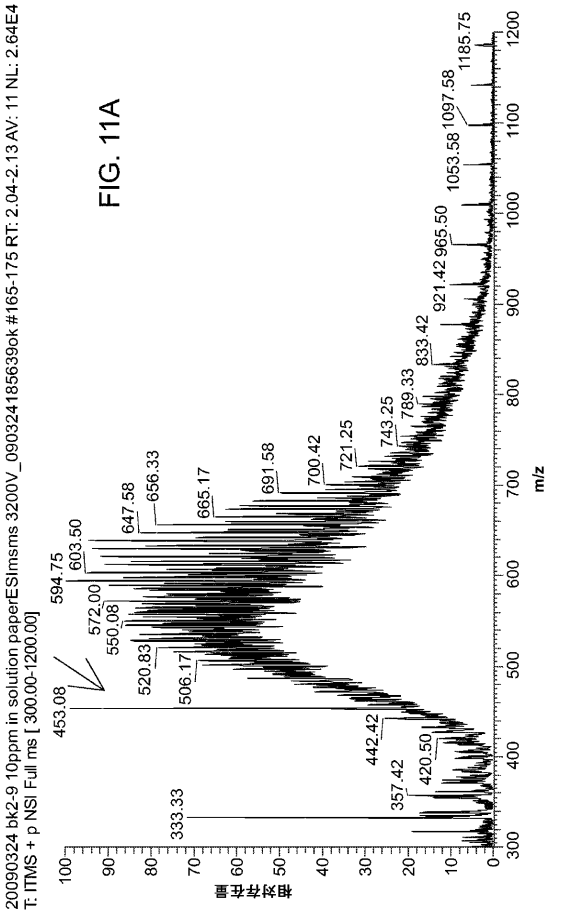
【図１０Ａ】



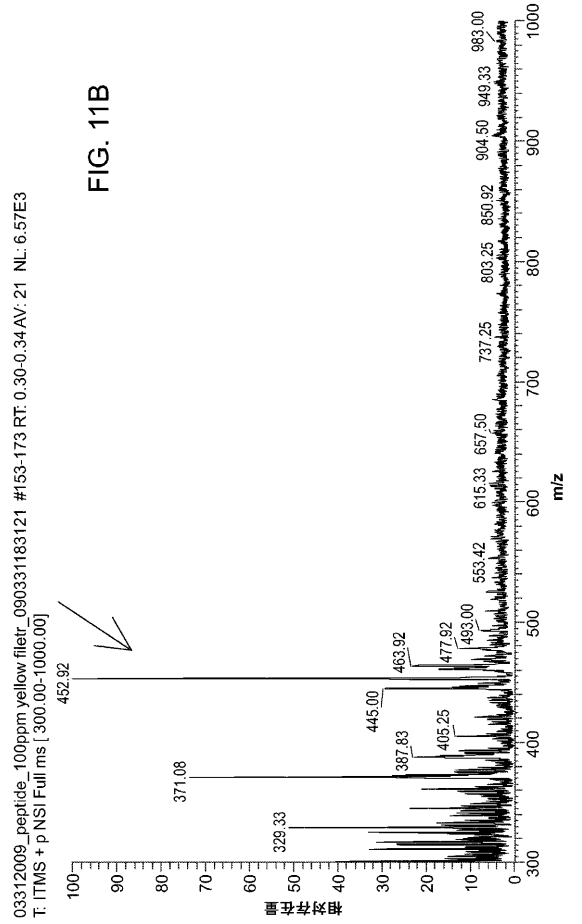
【図１０Ｂ】



【図１１Ａ】



【図１１Ｂ】



【図１２Ａ】

【図１２Ｂ】

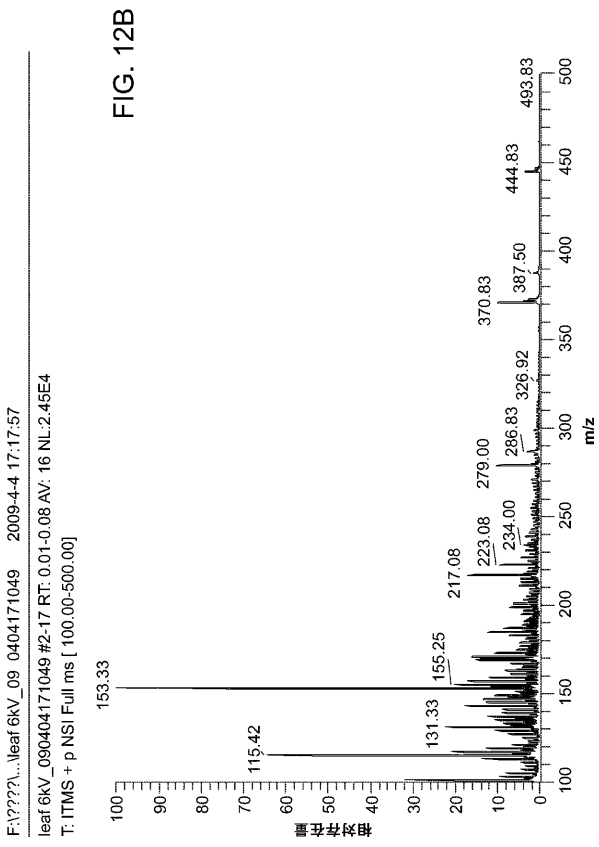


FIG. 12B

【図１２Ｃ】

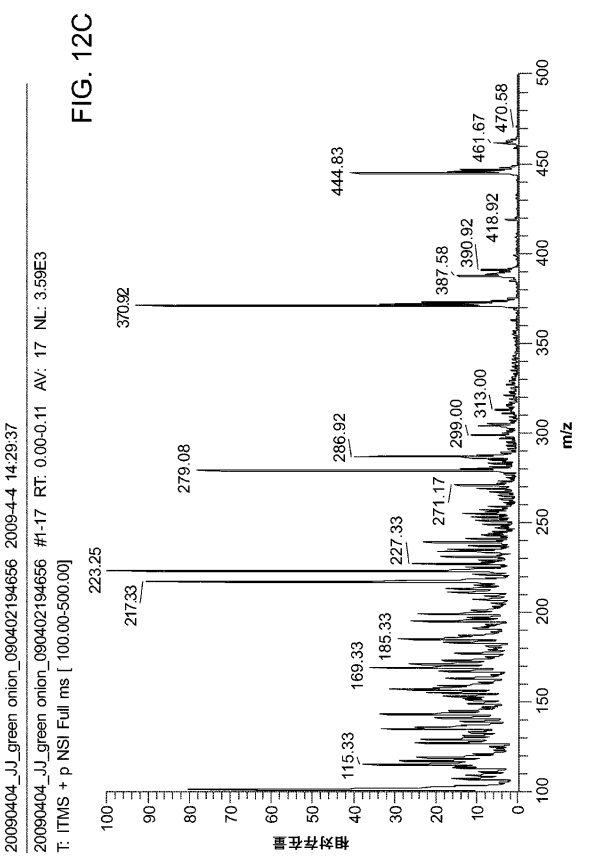


FIG. 12C

【図１２Ｄ】

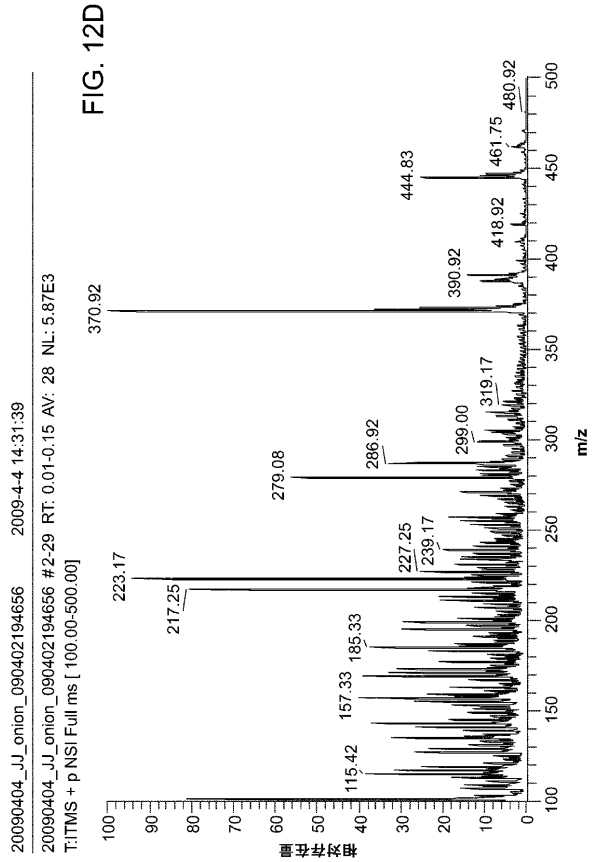


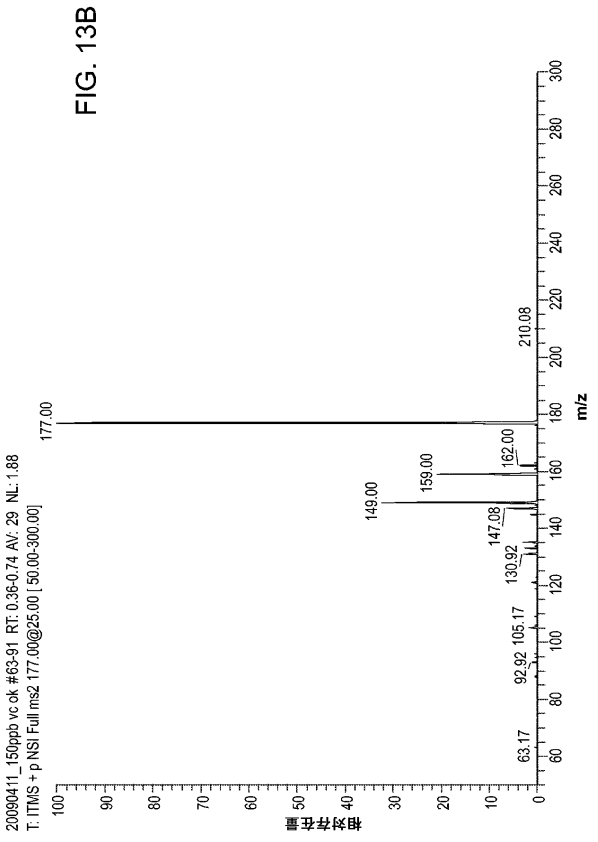
FIG. 12D

【図１３Ａ】

FIG. 13A

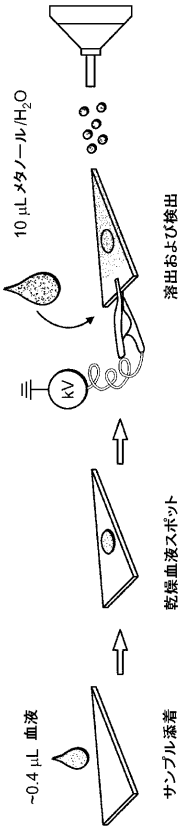
【図１３Ｂ】

FIG. 13B



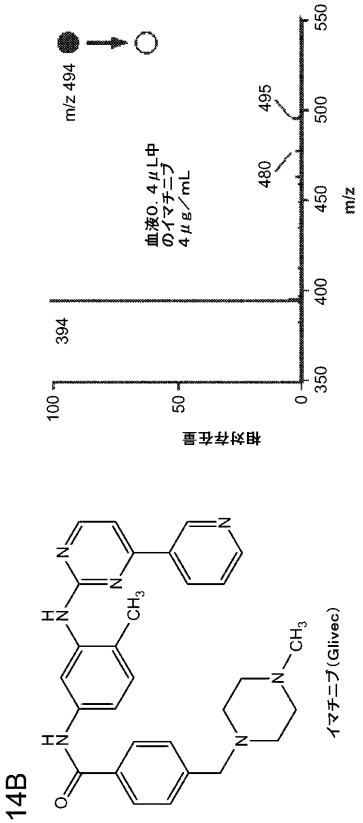
【図１４Ａ】

FIG. 14A



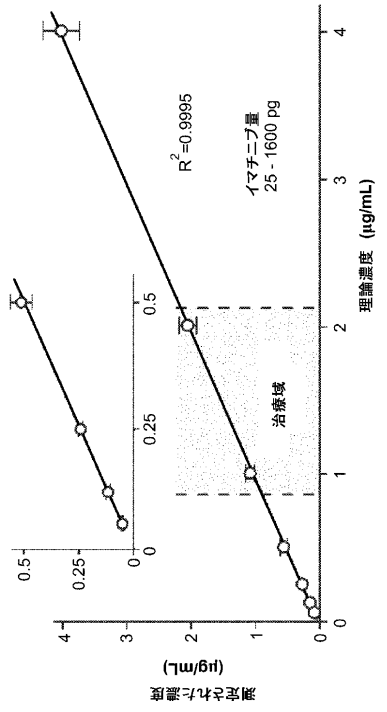
【図１４Ｂ】

FIG. 14B



【図１４Ｃ】

FIG. 14C



【図１５】

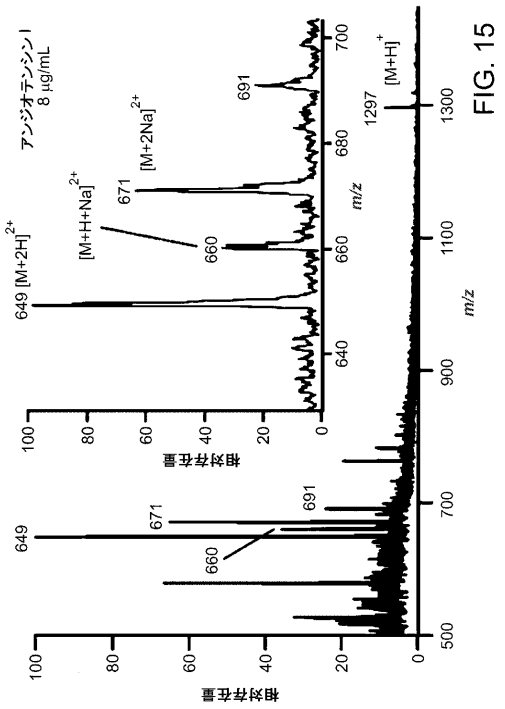


FIG. 15

【図１６】

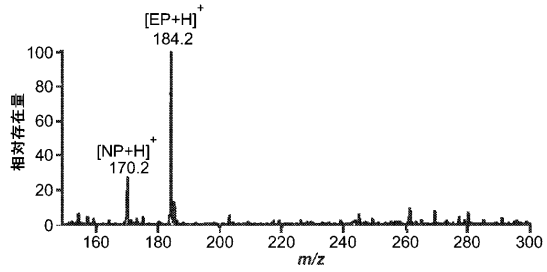
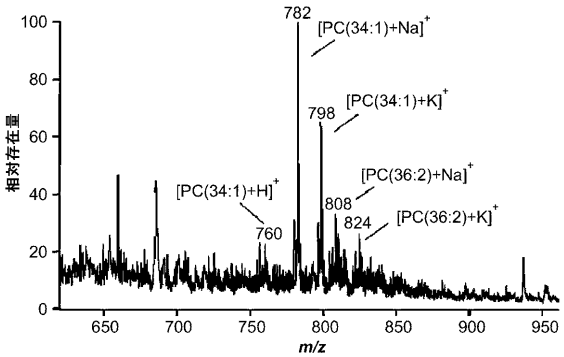


FIG. 16

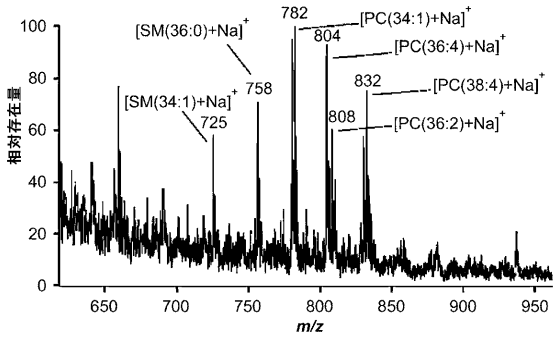
【図１７Ａ】

FIG. 17A



【図１７Ｂ】

FIG. 17B



【図１８】

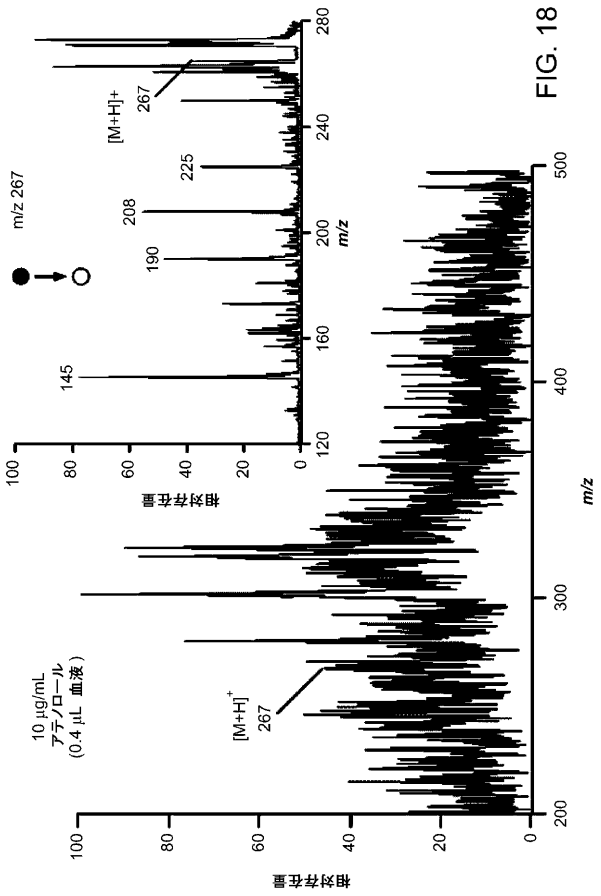


FIG. 18

【図１９Ａ】

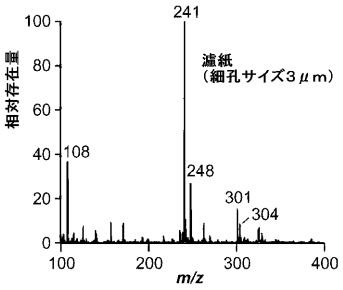


FIG. 19A

【図１９Ｂ】

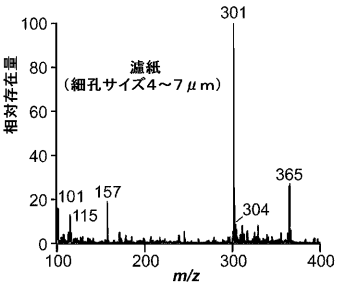


FIG. 19B

【図１９Ｃ】

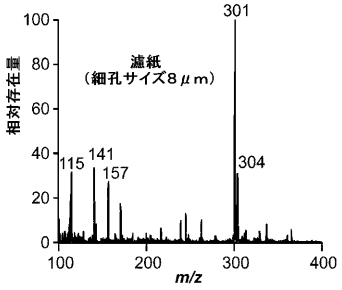


FIG. 19C

【図１９Ｄ】

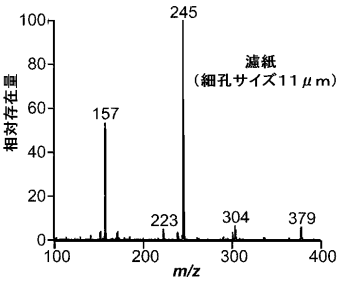


FIG. 19D

【図１９Ｅ】

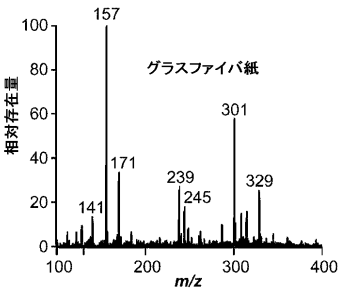


FIG. 19E

【図１９Ｆ】

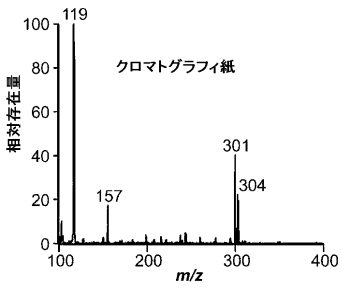
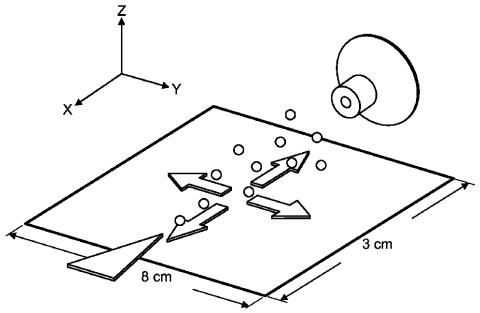


FIG. 19F

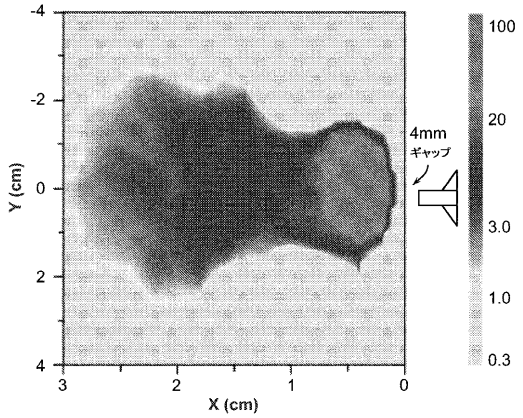
【図２０Ａ】

FIG. 20A



【図２０Ｂ】

FIG. 20B



【図２０Ｃ】

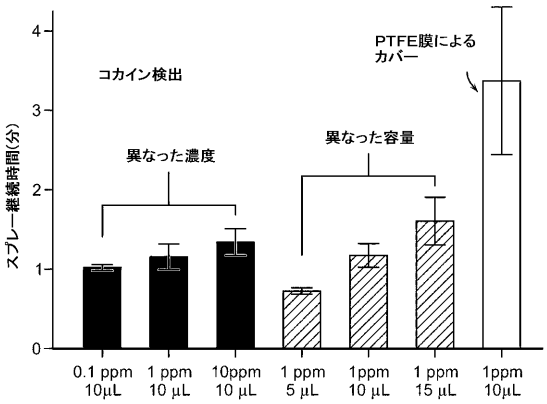


FIG. 20C

【図２１Ａ】

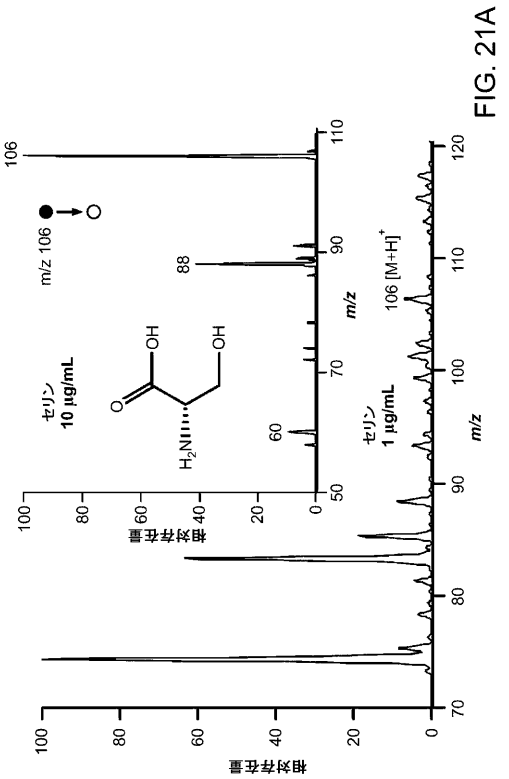


FIG. 21A

【図２１Ｂ】

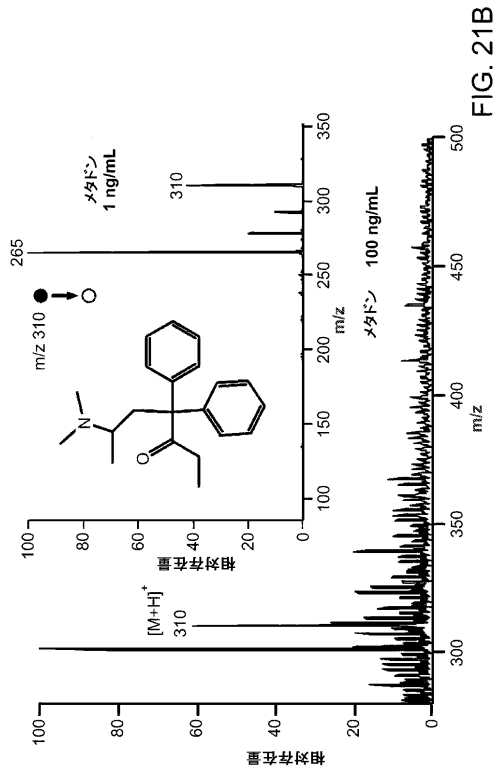


FIG. 21B

【図２１Ｃ】

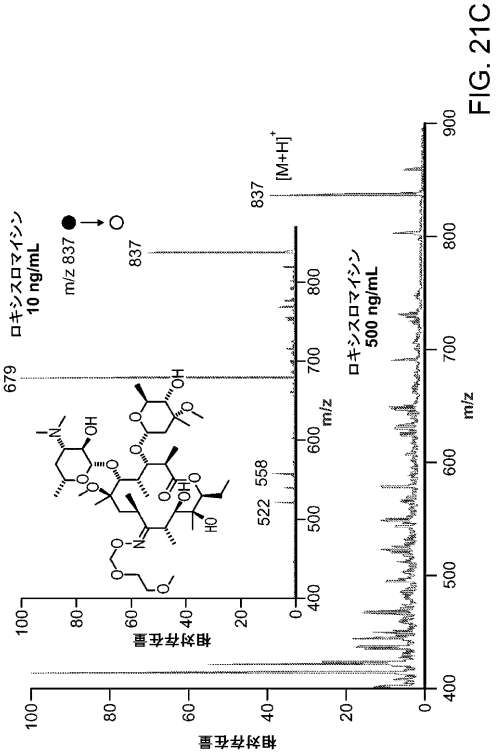
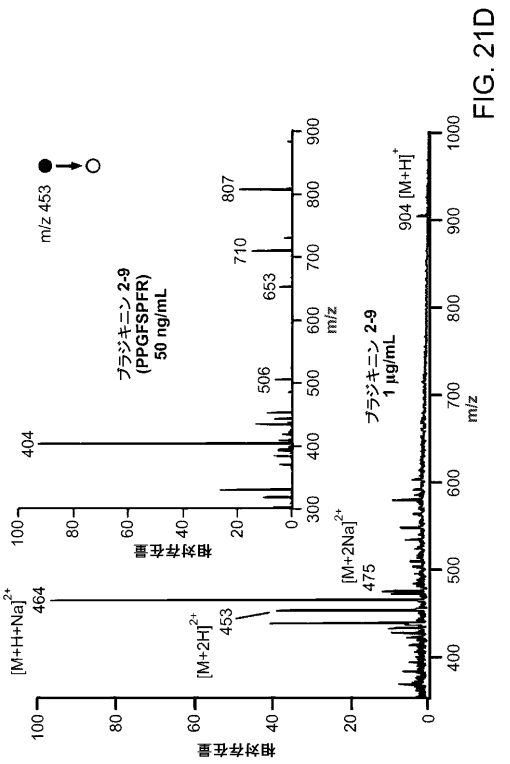


FIG. 21C

【図２１Ｄ】



【図２２－１】

FIG. 22A

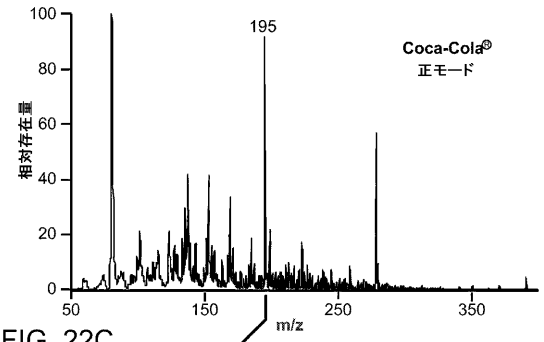
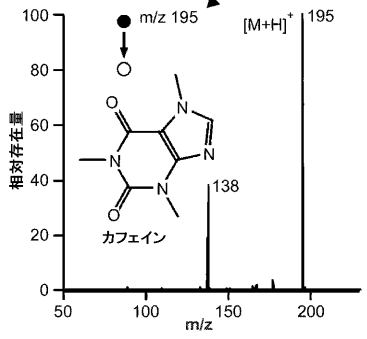
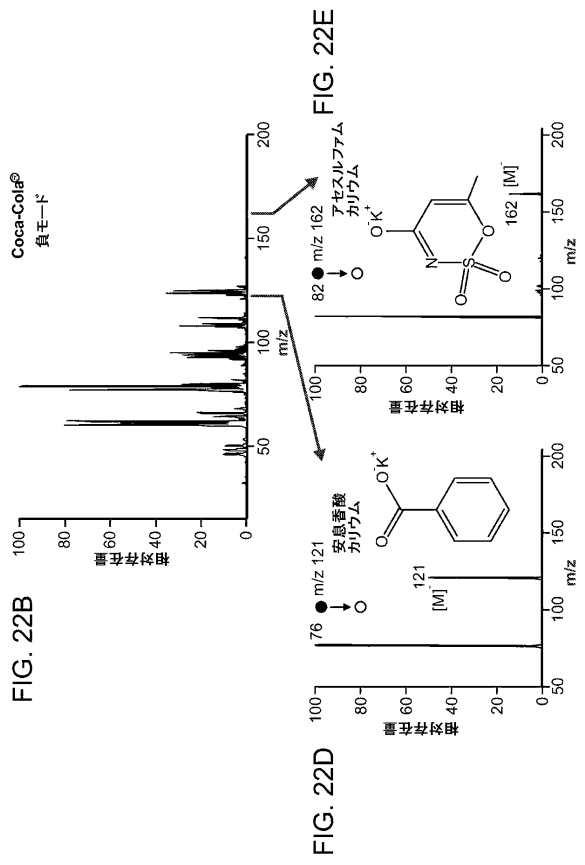


FIG. 22C



【図２２－２】



【図２２－３】

FIG. 22F

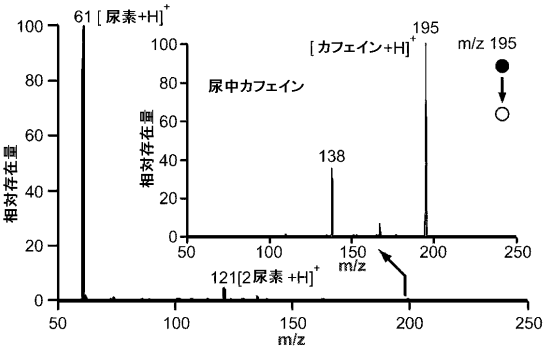
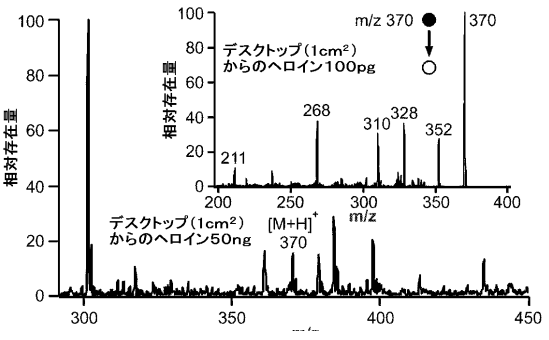


FIG. 22G



【図２３Ａ】

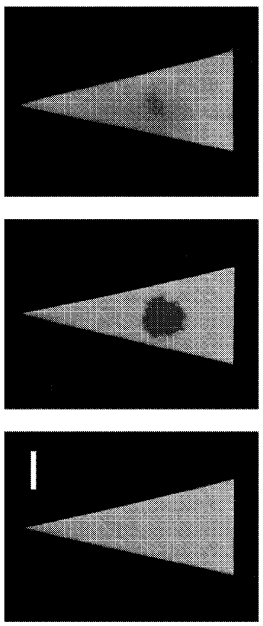
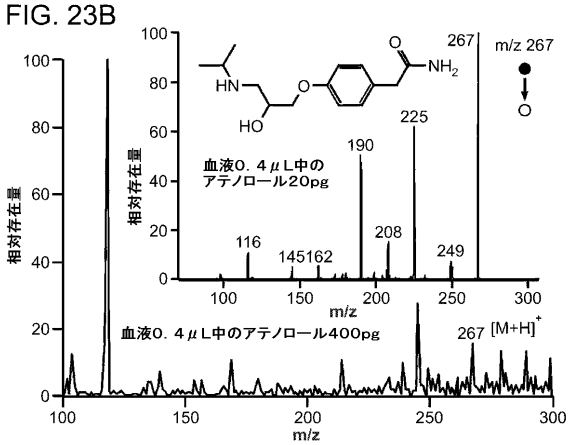


FIG. 23A

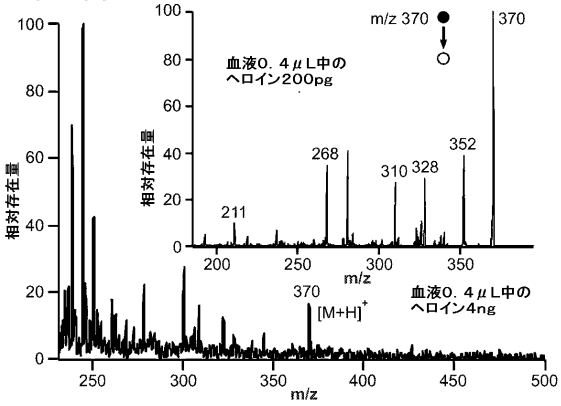
【図２３Ｂ】

FIG. 23B



【図２３Ｃ】

FIG. 23C



【図２４－１】

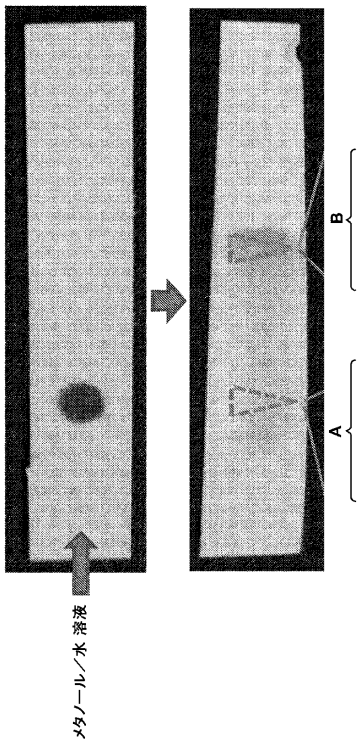


FIG. 24

【図２４－２】

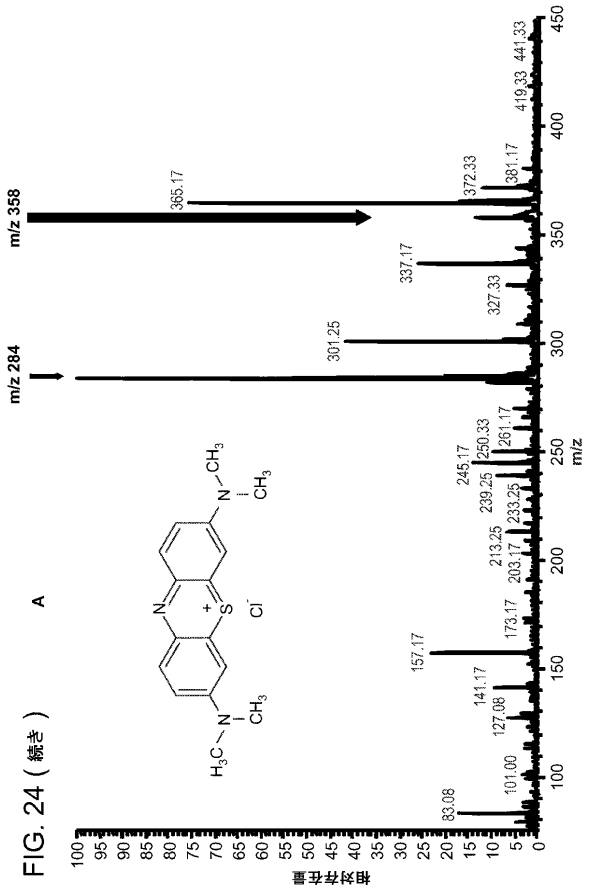


FIG. 24 (続き)

【図２４－３】

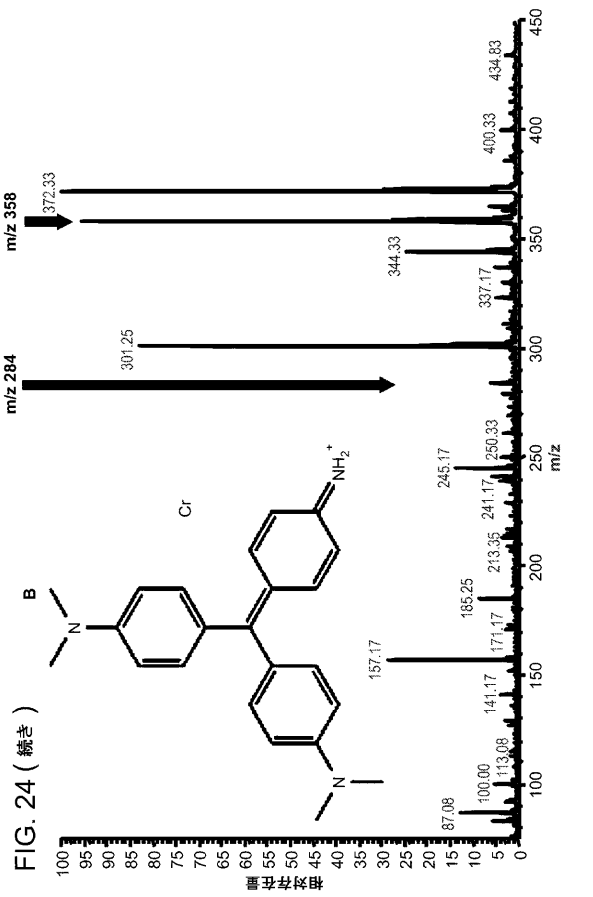
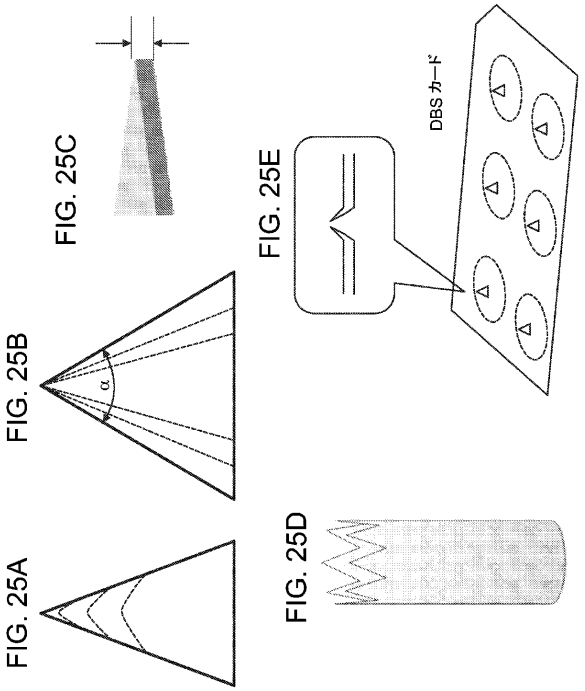


FIG. 24 (続き)

【図２５】



【図２６】

FIG. 26A

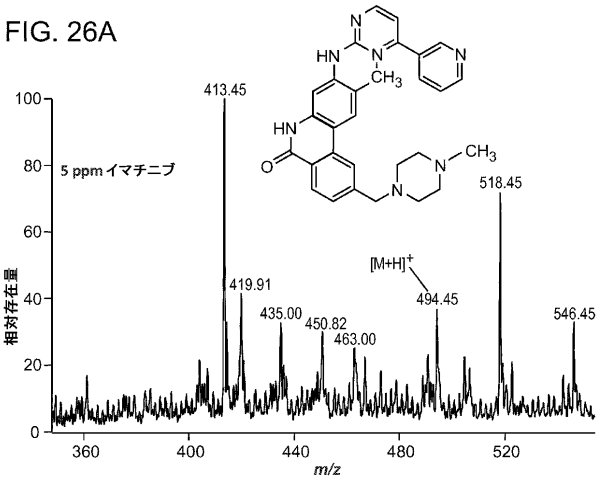
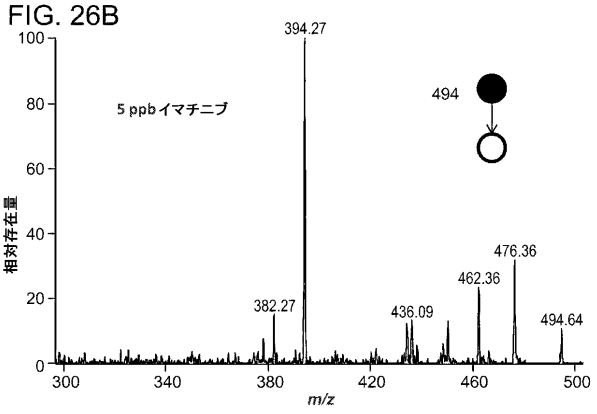


FIG. 26B



【図２７Ａ】

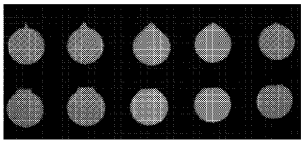


FIG. 27A

【図２７Ｂ】

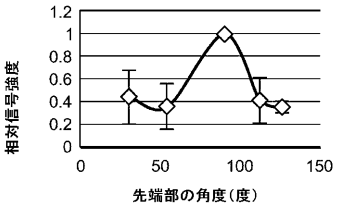
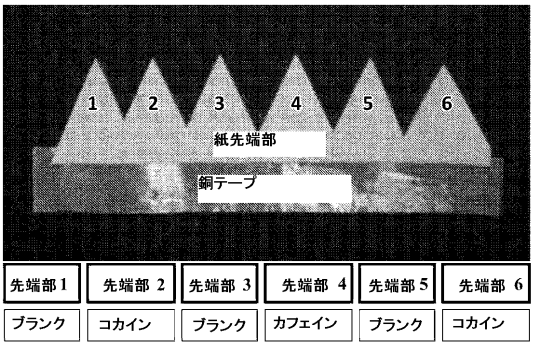


FIG. 27B

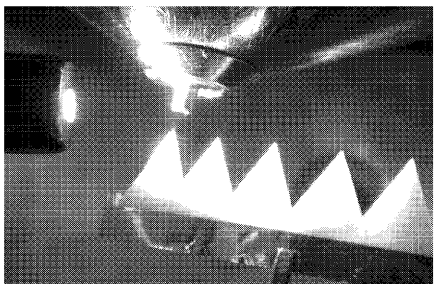
【図２８Ａ】

FIG. 28A



【図２８Ｂ】

FIG. 28B



【図２８Ｃ】

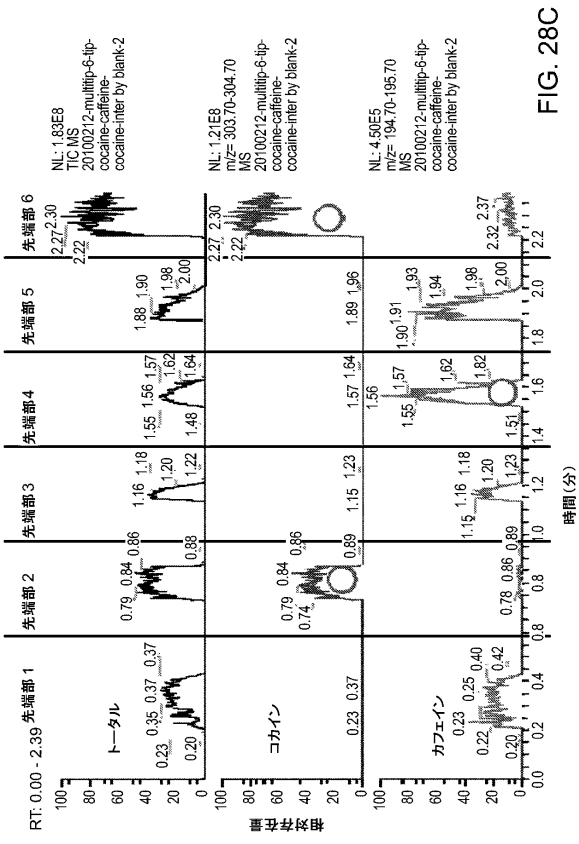
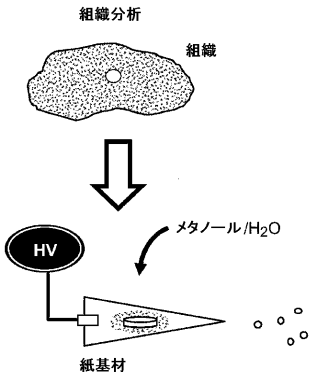


FIG. 28C

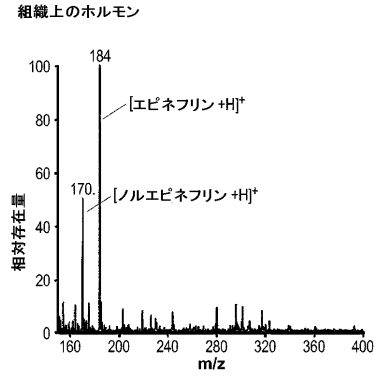
【図２９Ａ】

FIG. 29A



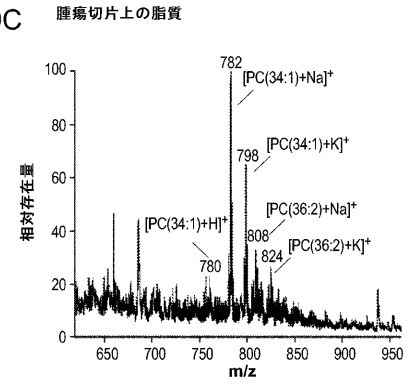
【図２９Ｂ】

FIG. 29B



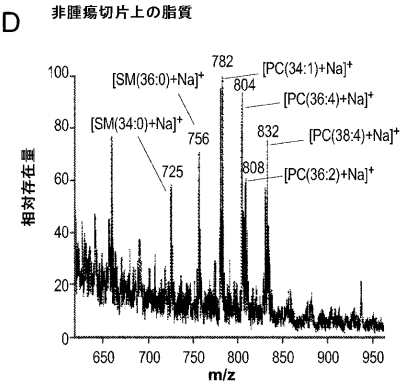
【図２９Ｃ】

FIG. 29C



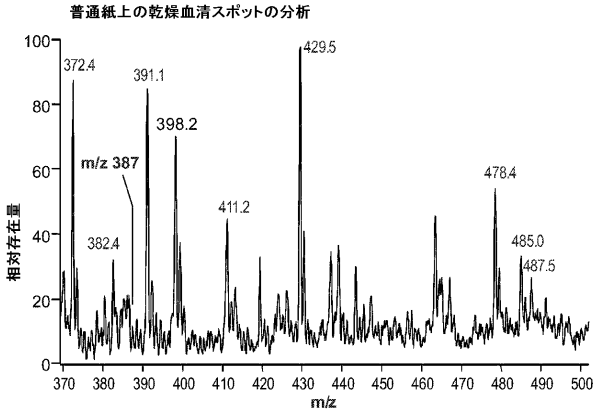
【図２９Ｄ】

FIG. 29D



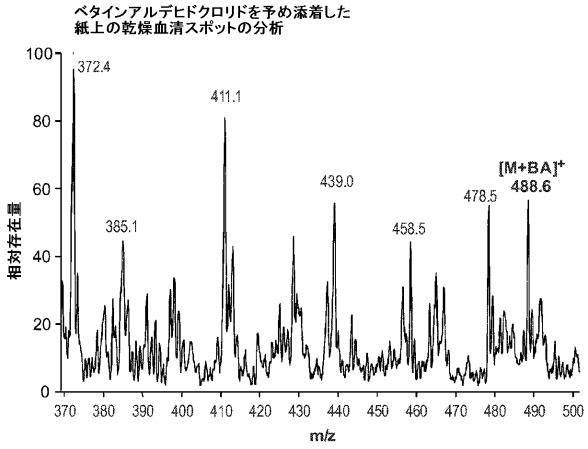
【図３０Ａ】

FIG. 30A



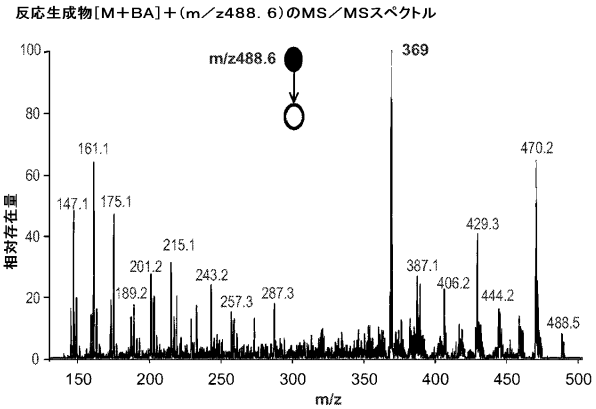
【図３０Ｂ】

FIG. 30B



【図３０Ｃ】

FIG. 30C



【図３１Ａ】

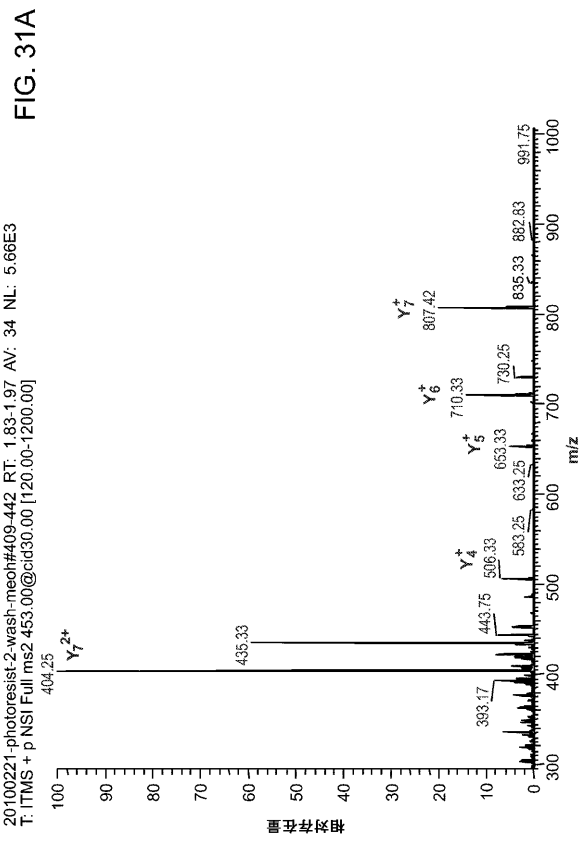


FIG. 31A

【図３１Ｂ】

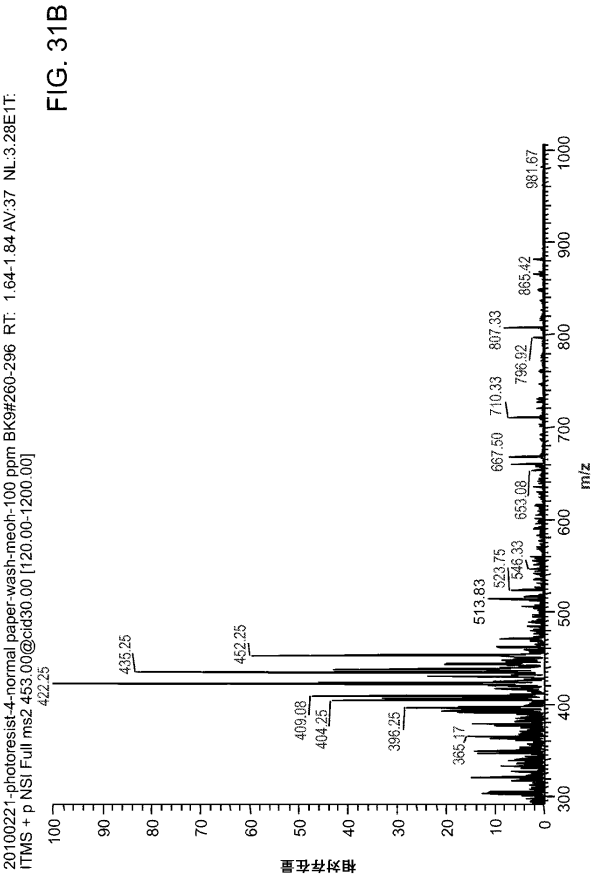


FIG. 31B

【図３２】

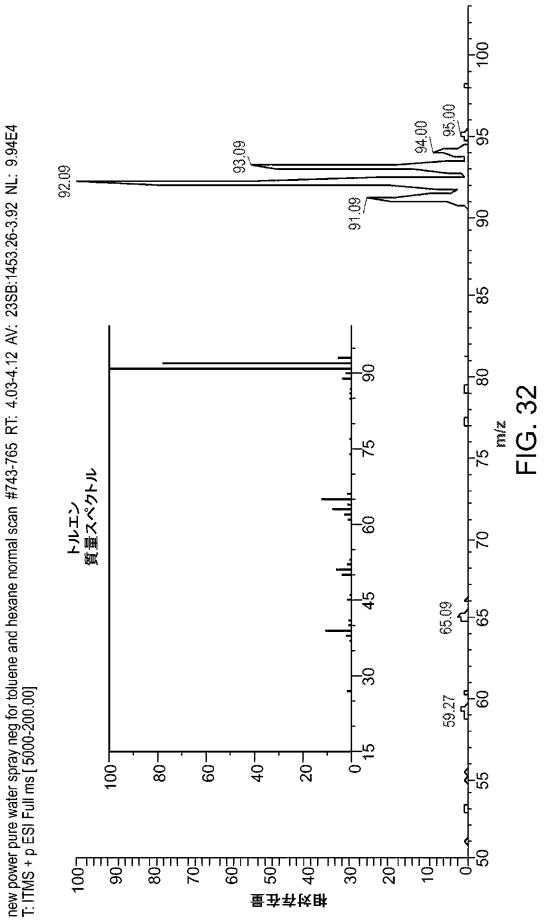


FIG. 32

【図３３】

FIG. 33A

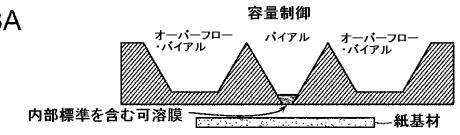
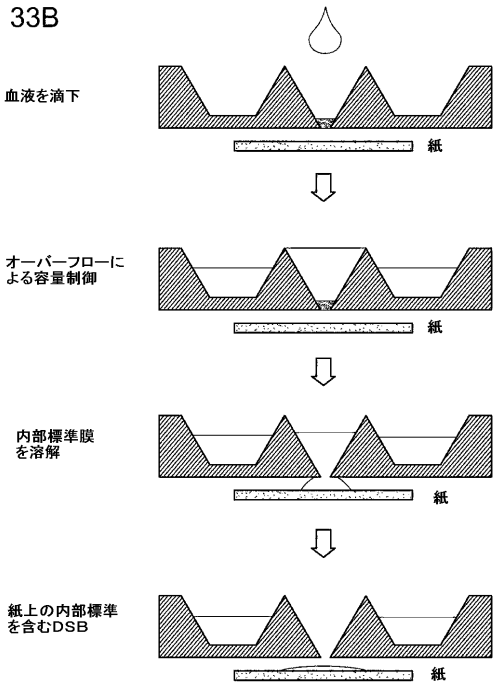


FIG. 33B



【図３４】

FIG. 34A

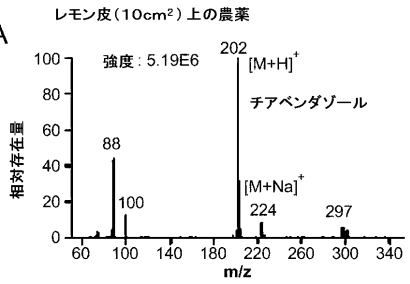
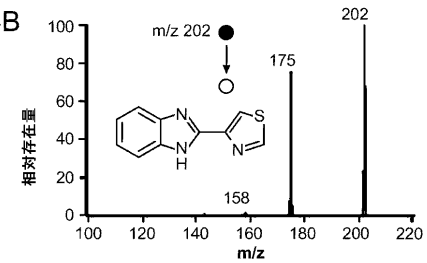


FIG. 34B



【図３５】

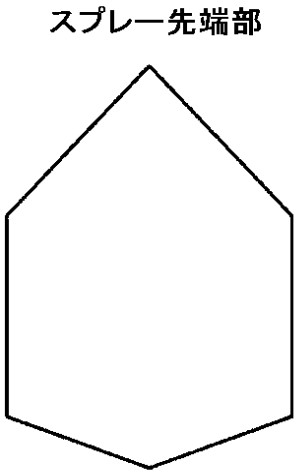


FIG 35

【図３６】

FIG. 36A

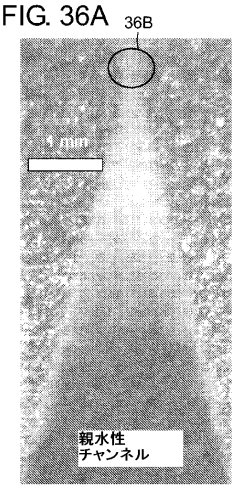
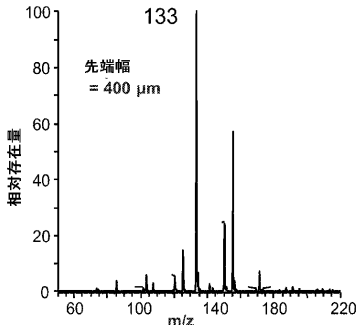


FIG. 36B



FIG. 36C



フロントページの続き

(31)優先権主張番号 61/246,707
(32)優先日 平成21年9月29日(2009.9.29)
(33)優先権主張国 米国(US)

(72)発明者 オウヤン, チェン
アメリカ合衆国 インディアナ ４７９０６, ウエスト ラファイエット, オニキス ストリート ９４９
(72)発明者 ワン, ヒー
アメリカ合衆国 インディアナ ４７９０６, ウエスト ラファイエット, アーノルド ドライブ ２２５－５
(72)発明者 マニーク, ニコラス イー.
アメリカ合衆国 インディアナ ４７９０６, ウエスト ラファイエット バーロウ ストリート ９１２
(72)発明者 クックス, ロバート グラハム
アメリカ合衆国 インディアナ ４７９０６, ウエスト ラファイエット, プロフェット ドライブ １７７
(72)発明者 ヤン, チアン
アメリカ合衆国 インディアナ ４７９０６, ウエスト ラファイエット, アーノルド ドライブ ２２５－５
(72)発明者 リュウ, チアンチアン
アメリカ合衆国 インディアナ ４７９０６, ウエスト ラファイエット, アーノルド ドライブ ２２５－５

審査官 桐畑 幸▲廣▼

(56)参考文献 特開平１１－１４２３７２（ＪＰ，Ａ）
国際公開第２００８／０８７８６６（WO，Ａ1）

(58)調査した分野(Int.Cl., ＤＢ名)
Ｈ０１Ｊ ４９／１０
Ｈ０１Ｊ ４９／２６
Ｇ０１Ｎ ２７／６２