

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第4162207号  
(P4162207)

(45) 発行日 平成20年10月8日(2008.10.8)

(24) 登録日 平成20年8月1日(2008.8.1)

(51) Int. Cl.		F I		
GO 1 N 27/62	(2006.01)	GO 1 N 27/62		F
GO 1 N 1/00	(2006.01)	GO 1 N 27/62		X
GO 1 N 30/80	(2006.01)	GO 1 N 1/00	1 O 1 H	
		GO 1 N 30/80		C

請求項の数 41 (全 15 頁)

(21) 出願番号	特願2002-562474 (P2002-562474)	(73) 特許権者	502408078
(86) (22) 出願日	平成14年1月17日(2002.1.17)		アイアールエム、エルエルシー
(65) 公表番号	特表2004-529325 (P2004-529325A)		イギリス領バークマール諸島 エイチエム
(43) 公表日	平成16年9月24日(2004.9.24)		エルエックス ハミルトン チャーチ
(86) 国際出願番号	PCT/US2002/001536		ストリート 48、ソフィア ハウス
(87) 国際公開番号	W02002/062475		気付
(87) 国際公開日	平成14年8月15日(2002.8.15)	(74) 代理人	100064355
審査請求日	平成16年11月19日(2004.11.19)		弁理士 川原田 一穂
(31) 優先権主張番号	09/765, 207	(72) 発明者	アンスガー・ブロック
(32) 優先日	平成13年1月17日(2001.1.17)		アメリカ合衆国 カリフォルニア州 92
(33) 優先権主張国	米国 (US)		131 サン ディエゴ カミニート ア
			ルト 10847

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 試料載置方法及びシステム

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

液滴から一定距離を置いて試料プレートを設ける工程であって、高圧液体クロマトグラフィ（HPLC）ソースにより前記液滴を生成する前記工程；及び

a) 前記試料プレートが試料プレートホルダー上に設置されたとき該試料プレートを帯電させ、b) 前記液滴がキャピラリーの端部に形成された後に液滴をグラウンドに接続することによって、前記液滴と前記試料プレートとの間に電場を発生して液滴に極性を与えて前記電場に沿って前記液滴を前記試料プレートに引き付ける工程、を含む液滴を載置する方法。

【請求項 2】

試料プレートを設ける工程が、試料プレートを目標位置に移動させることを含む、請求項 1 記載の方法。

【請求項 3】

液滴を試料プレート上の目標場所に引き付ける、請求項 1 記載の方法。

【請求項 4】

液滴をキャピラリーの先端部にて与える、請求項 1 記載の方法。

【請求項 5】

前記キャピラリーがカラムに接続される、請求項 4 記載の方法。

【請求項 6】

電場を発生する工程が、液滴に電荷を与えることを含む、請求項 1 記載の方法。

10

20

## 【請求項 7】

電場を発生する工程が、試料プレートをグラウンドに接続することを含む、請求項 6 記載の方法。

## 【請求項 8】

試料プレートが、該試料プレートの下にある電極プレートを介してグラウンドに間接的に接続される、請求項 7 記載の方法。

## 【請求項 9】

電場を発生する工程が、試料プレートに電荷を与えることを含む、請求項 1 記載の方法。

## 【請求項 10】

前記電荷が、試料プレートの下にある電極プレートを介して間接的に試料プレートに与えられる、請求項 9 記載の方法。

10

## 【請求項 11】

電場を発生する工程が、液滴をグラウンドに接続することを含む、請求項 9 記載の方法。

## 【請求項 12】

電場を発生する工程が、1 以上の補助電極に電荷を与えることを含む、請求項 1 記載の方法。

## 【請求項 13】

液滴と試料プレートとの距離が 10 ミリメートルより短い、請求項 1 記載の方法。

## 【請求項 14】

液滴と試料プレートとの距離がほぼ 5 ミリメートルである、請求項 13 記載の方法。

20

## 【請求項 15】

前記電場が 100 ~ 300 ミリ秒の持続時間を有する、請求項 1 記載の方法。

## 【請求項 16】

前記電場がほぼ 200 ミリ秒の持続時間を有する、請求項 15 記載の方法。

## 【請求項 17】

前記電場が 500 ~ 3000 ボルトの電位差を有する、請求項 1 記載の方法。

## 【請求項 18】

前記電位差がほぼ 1000 ボルトである、請求項 17 記載の方法。

## 【請求項 19】

2 以上の滴を試料プレート上の各目標場所に載置する、請求項 1 記載の方法。

30

## 【請求項 20】

前記液滴が試料分子を含む、請求項 1 記載の方法。

## 【請求項 21】

前記液滴が MALDI に適したマトリックス分子を含む、請求項 1 記載の方法。

## 【請求項 22】

前記試料液滴が試料分子とマトリックス分子との混合物を含む、請求項 1 記載の方法。

## 【請求項 23】

保持機構；

前記保持機構により保持された複数のキャピラリー；

前記複数のキャピラリーに対して位置決め可能な試料プレートホルダー；

前記キャピラリーに連通した高圧液体クロマトグラフィー (HPLC) であって、液体をキャピラリーに流して各キャピラリーの端部にて液滴を形成させる前記高圧液体クロマトグラフィー (HPLC)；及び

40

a) 試料プレートが前記試料プレートホルダーの上に設置されたとき該試料プレートを帯電させ、b) 前記液滴がキャピラリーの端部に形成された後に液滴をグラウンドに接続することによって、各キャピラリーと前記試料プレートとの間に電場を発生するよう構成された電源であって、キャピラリーの端部の前記液滴が、前記電場に沿って前記試料プレートに引き付けられる前記電源、を備えた液滴載置システム。

## 【請求項 24】

50

各キャピラリーが、

液滴を形成する液体を含むためのカラム；及び

第 1 端部にて前記カラムに接続され、液滴を与えるべく第 2 端部にて開放先端を備えるキャピラリー、

を含む、請求項 2 3 記載の液滴載置システム。

【請求項 2 5】

前記カラムが液体クロマトグラフィーカラムからなる、請求項 2 3 記載の液滴載置システム。

【請求項 2 6】

前記試料プレートホルダーが可動式である、請求項 2 3 記載の液滴載置システム。

10

【請求項 2 7】

前記試料プレートがキャピラリーアレイの下にて試料プレートホルダー上に配置される、請求項 2 3 記載の液滴載置システム。

【請求項 2 8】

前記試料プレートを目標位置に移動させるための手段をさらに含む、請求項 2 7 記載の液滴載置システム。

【請求項 2 9】

前記電源が、試料プレートに電荷を与えるための電圧源を含む、請求項 2 7 記載の液滴載置システム。

【請求項 3 0】

20

請求項 2 9 記載の液滴載置システムであって、電極プレートを備え、該電極プレートを通して試料プレートに前記電荷を間接的に与える前記液滴載置システム。

【請求項 3 1】

前記キャピラリー端部にて液滴を接地する電気接続を有する、請求項 2 9 記載の液滴載置システム。

【請求項 3 2】

前記電源が、複数の液滴の各々に対して電荷を独立に付与できる、請求項 2 3 記載の液滴載置システム。

【請求項 3 3】

前記電源が、試料プレートの異なる部分に対して電荷を独立に付与できる、請求項 2 3 記載の液滴載置システム。

30

【請求項 3 4】

前記電源が、液滴を接地するためのグランド接続をさらに含む、請求項 3 3 記載の液滴載置システム。

【請求項 3 5】

前記電源が、液滴に電荷を付与するための電圧源を含む、請求項 2 3 記載の液滴載置システム。

【請求項 3 6】

試料プレートの移動、電場の強度、電場の持続時間及び電場の印加周波数からなる群から選択された 1 以上のパラメータを制御するコントローラをさらに含む、請求項 2 3 記載の液滴載置システム。

40

【請求項 3 7】

前記コントローラが、ユーザーインターフェースを与えるソフトウェアによりプログラミングされたコンピュータを含み、該ユーザーインターフェースにより、試料載置用パラメータをオペレータが設定できる、請求項 3 6 記載の液滴載置システム。

【請求項 3 8】

前記キャピラリーが液体クロマトグラフィーカラムに接続される、請求項 2 3 記載の液滴載置システム。

【請求項 3 9】

高圧液体クロマトグラフィー（HPLC）ソースにより複数の液滴を生成し、位置決め自

50

在な試料プレートの上に前記複数の液滴を与える工程；及び

a) 前記試料プレートが試料プレートホルダー上に設置されたとき該試料プレートを帯電させ、b) 前記液滴がキャピラリーの端部に形成された後に液滴をグラウンドに接続することによって、前記複数の液滴と前記試料プレートとの間に形成された電場により、試料プレート上の目標場所に各液滴を引き付ける工程、  
を含む液滴載置方法。

【請求項 40】

前記複数の液滴が 8 以上の液滴を含む、請求項 39 記載の方法。

【請求項 41】

目標場所に各液滴を引き付ける前記工程を、単一目標場所に対して連続して実施する、請求項 39 記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【発明の詳細な説明】

【0001】

関連出願との相互参照

本出願は、2001年1月17日付提出の米国出願第09/765,207号の優先権を主張し、この出願をここで援用する。

著作権通知

【0002】

37C.F.R.1.71(e)により、この特許書類の一部には、著作権保護を受けるものが含まれている。著作権の所有者は、特許書類又は特許開示につき特許商標庁の特許ファイル又は記録に載る際には、だれがそれを複写複製をしようと異議はないが、そうでないなら総ての著作権を保持する。

発明の背景

発明の分野

【0003】

本発明は、質量分析に関する。特に、本発明は、質量分析法プロセスのための試料の調製及び取り扱いに関する。

背景

【0004】

質量分析法(MS)は、質量-電荷比に基づいて物質から導出されたガス状イオンを分離することにより物質の化学的組成を同定する質量分析方法である。質量分析法で用いられるイオン化の一つは、マトリックス支援レーザー脱離イオン化法(MALDI)として知られている。MALDIでは、試料とマトリックスが溶液から共結晶化される。得られた共結晶をレーザーで照射することにより、マトリックス分子が入射エネルギーのいくらかを吸収する。吸収されたエネルギーにより、マトリックスと試料分子のいくらかがイオン化し脱離してガス相になる。一旦試料分子がイオン化し脱離してガス相になると、質量分析法による分析に適用できる。

【0005】

化合物の混合物を含んだ試料は、しばしば、質量分析法による分析の前に精製される。精製法の一つは液体クロマトグラフィー(LC)によるものであり、分離すべき化合物の混合物が液相に溶解し、この液相が、クロマトグラフィーカラム中に含まれる固定相を通過して送られる。固定相とより強く相互作用する化合物が、より長い期間の間カラム上に保持され、それにより化合物の混合物が保持時間の差に基づいて分離できる。

【0006】

異なる保持時間により化合物をさらに分離する手段の一つは、液体相がクロマトグラフィーカラムを出ていく際に液体相を分別することである。LCにより作られた少量の液相の多数生成は、フラクション収集(fraction collection)として知られている。フラクシ

10

20

30

40

50

オン収集を行う際の精度と速度は、高品質の分離及び分析を達成するには重要である。また、LCによる精製後、試料分子を含んだ液相をマトリックス溶液と直接結合させてMS分析を可能にできる。以後、液体とは、試料分子若しくはマトリックス分子のどちらか又はその両方の混合物を含んだ溶液をいう。試料とは、例えば試料プレート上への載置(deposition)により調製し分析に供される液体の一部をいう。

【0007】

現在、質量分析法による分析は、ますます複雑な分子及び混合物に適用されつつある。また、医学、科学及び技術の進歩により、洗練された分析機器の需要が増してきた。そして、この需要により、質量分析法による試料の迅速かつ効率的な調製、精製及び分析の方法の開発が求められている。多数の試料のLCによる精製を可能にする方法と、多数の試料のMSによる分析を可能にする方法は、独立に開発されてきた。しかしながら、MSによる分析のために多数のLCフラクションを調製し取扱う迅速かつ効率的な手段の需要は、未だ満たされていない。

10

【0008】

一般に、自動フラクション収集システムは、液体試料を載置するためのタッチダウン・サイクル又は圧電ディスペンサーを用いる単一チャンネル装置を含む。タッチダウン装置は、液滴をフラクション収集プレート上に物理的に点在させるための機構を用いる。通常、これらの装置は、液体を保持するカラムに連結された狭いキャピラリーを用いる。キャピラリーの先端は、フラクション収集プレートに物理的に接触して液滴を載置する。

【0009】

周知のように、タッチダウン装置は、位置合わせの誤り、摩耗及び破損を起こしがちである。また、タッチダウン収集においては、クロマトグラフィーの分解能の維持につき、小さなフラクションが収集される場合には問題となる。一つの地点に載置した液体の相当部分が、キャピラリー先端部への固着により次の地点へと持ち越され得る。持ち越しを改善するため、別の溶剤をティー管入力(teeing-in)すること、又はシース流を用いること、又はその両方により、メイクアップ流を加えることができる。これらの方策により、収集される体積が増し、それに比例してより小さい試料フラクションが持ち越される。しかしながら、より大きな体積は、フラクション収集プレートに与えられる試料の濃度を希釈し、このことにより、より小さい試料密度となり、質量分析計により発生される信号中の信号・雑音比がより小さくなる。

20

30

【0010】

圧電ディスペンサーは、非接触式の液滴載置装置の一種であり、圧電素子を用いてパルス駆動圧力をディスペンサーに加える。この圧力により、液滴が力を受け、すなわちディスペンサー中のノズルから外に放出される。一般に、圧電装置を用いて載置した試料は、クロマトグラフィーの分解能を低下させる。液滴を排出するには、より大きなデッド体積が必要であり、マトリックス分子に対する試料分子の濃度が対応して小さくなるからである。また、マトリックス溶剤がより多量の不揮発性物質を含んでいる場合には、ディスペンサーノズルを清浄に維持するという問題が存在する。この場合には、シース流を用いることはできない。

【0011】

LC試料のマイクロ載置の他の方法には、エレクトロスプレー(electrospray)やストリーキング(streaking)が挙げられる。エレクトロスプレーは、非接触式の試料載置法であり、これは溶剤の組成と流速に敏感であり、より大きな領域に亘って試料を広げる。ストリーキングは、接触式の載置であり、クロマトグラフィーの分解能を維持すべくフラッシュ蒸発又は凍結が必要とされる。エレクトロスプレーとストリーキングプロセスの両方とも、溶剤の組成に敏感である。

40

【0012】

従って、後続の質量分析法による分析のためにプレート上に液滴を載置する改善システムが必要とされる。

50

## 発明の概要

## 【0013】

本発明は、新規な非接触式の液滴載置システム及び方法を提供する。有利には、本発明は、多数の試料ターゲットの調製及び取り扱いをサポートし、それにより、液体の流速、サンプリング速度及び溶剤組成のより優れた制御を可能にすることにより柔軟性を与える一方で、より高いスループットをもたらす。また、本発明によるシステム及び方法は、スループット又は柔軟性を犠牲にすることなく、液体クロマトグラフィーを用いて作られる試料のクロマトグラフィー分解能を高める。

## 【0014】

本発明の実施態様によるシステム及び方法は、質量分析計における分析用の試料プレート上に、1以上の液体クロマトグラフィーカラムの出力を載置するための迅速、正確かつ効率的なインターフェースを提供する。このシステムは柔軟であり、ほぼ任意の間隔、滴サイズ及び溶剤組成にて試料を載置することができる。また、試料は、導電性及び絶縁性の物質の両方を含めて様々な試料プレート物質上に載置され得る。非接触式の載置は、試料プレートに高電圧パルスを印加して試料プレートとキャピラリー先端部との間に電場を発生させることにより、微細なキャピラリー先端部から試料プレート上に液滴を脱離させる新規な方法により達成される。

10

## 【0015】

本発明を具体化する方法は、試料プレートを液滴の下に配置し、液滴と試料プレートとの間に電場を加えることを含む。この電場が液滴に極性を与える。極性の与えられた液滴は、印加された電場に沿って力を受け、試料プレートに向かって引き付けられる。

20

## 【0016】

本発明を具体化する別の方法は、位置決め自在な試料プレートの上方に一定距離を置いて液滴アレイを与え、液滴と試料プレートとの間に電場を印加することを含む。電場の影響下、液滴は試料プレート上の目標場所に移動する。

## 【0017】

本発明の別の実施態様では、液滴載置システムは、保持機構と、該保持機構により保持され位置決めされるキャピラリーアレイとを含み、各キャピラリーは、液体の少なくとも一部を含み、キャピラリーアレイは、1以上の液滴を同時に与える。このシステムは、複数のキャピラリーの下で位置決め自在な試料プレートと、電源とをさらに含む。この電源は、キャピラリー及び/又は試料プレートに接続され、液体と試料プレートとの間に電圧差を与える。

30

## 【0018】

さらに別の実施態様では、試料はいくつかの連続した液滴載置から形成され、その際に各載置は、液滴形成キャピラリーが試料プレート上の目標場所の上方にくるように試料プレートと液滴形成キャピラリーを配置することを含む。複数の電圧パルスの連続的な印加により、個々の液滴が試料プレート上の同じ場所に引き付けられる。

## 図面の簡単な説明

## 【0019】

図1は、本発明による液体クロマトグラフィー試料載置システムの簡略図である。

40

## 【0020】

図2は、本発明による試料載置の別の実施態様を示す。

## 【0021】

図3A～3Cは、載置システムの簡略図であり、本発明による液滴載置方法を示す。

## 【0022】

図4A～4Fは、本発明の方法により電場パルスを印加する種々の方法を示す。

## 【0023】

図5は、本発明の試料載置装置を制御するのに用いることができるグラフィカルユーザーインターフェースの例を示す。

50

## 【 0 0 2 4 】

図 6 は、較正プレートを調製するのに使用するグラフィカルユーザーインターフェースの例を示す。

## 詳細な説明

## 【 0 0 2 5 】

本発明は、液体試料を試料プレート上に載置する装置及び方法を提供する。この装置は、例えばMALDI質量分析法による後続の分析のための試料プレートを調製するのに有効である。しばしば、試料は、試料を分別するのに用いる液体クロマトグラフィーカラムから得られる。試料載置システムを用いて分離した液滴の形態を有したフラクションを収集して分析に供する。

10

## 【 0 0 2 6 】

図 1 は、本発明の実施態様によるLC MALDI試料載置システム100を示す簡略図である。システム100は、移動テーブル105とコントローラを含み得る。移動テーブル105は、コントローラの指示の下、少なくとも図示した長手方向に移動自在である。移動テーブル105は、横方向、垂直方向又は回転方向に移動することもできる。

## 【 0 0 2 7 】

試料プレートホルダー110は、移動テーブル105上に載っており、好ましくは移動テーブル105に固定される。実施態様の一つでは、試料プレートホルダー110は、移動テーブル105の小組立部品である。他の構成も可能であり、例えば、試料プレートホルダー110と移動テーブル105を単一のユニットとして設けることもできる。試料プレートホルダー110が台を与え、この台に試料プレート115が留められ得る。1以上の試料プレートホルダーを移動テーブル105上に置くことで、1以上の試料プレートをシステム100上に正確かつ確実に位置決めする正確な機構を提供できる。例えば、移動テーブルは、2、3、4、5又はそれより多いプレートに対する複数の試料プレートホルダーを有し得る。移動テーブルは、例えばコンベヤ式システムにて構成でき、順次式又は非順次式に試料プレートホルダーをディスペンサー下の装填位置に移動させる。ある実施態様では、試料プレートホルダー110は、組込みばねを用いて試料プレートを保持し、1以上のピンを用いて試料プレートを正確に整列させる。

20

## 【 0 0 2 8 】

試料プレート115は、試料を載置して分析するのに十分な長さの時間の間その形状を維持する物質から形成できる。例えば、試料プレートは、硬質又は半硬質物質とし得、好ましくは平坦な上面117を有する。上面117は、上面117中にウエル又は小窪みのアレイを含み得、その各々は試料の載置部分を固定させる。例えば、各々のウエルは、上面117内に埋め込まれて独立にアドレス指定可能な目標場所とし得、マイクロアレイ化の用途に適している。しかしながら、このようなウエルや窪みは必ずしも必要でない。試料プレート115は、ガラス(例えばガラススライド)、金属(例えばステンレス鋼、アルミニウム、チタニウム又は他の金属)、ポリマー、セラミック、多孔性又は非多孔性膜、ゲル、凍結液体などから形成できる。試料プレート自体は電気導体とし得、その場合には、試料プレートを直接帯電又は接地できる。別法として、後に説明するように、試料プレートの下にある電極プレートに電荷を付与するか又は接地できる。

30

40

## 【 0 0 2 9 】

一般に、システム100は、1以上の非常に小径のカラム125又はキャピラリーを保持する保持機構118をさらに含む。本発明の実施態様の一つでは、キャピラリー125が、HPLC液体を与える高圧液体クロマトグラフィー(HPLC)ソースに連結される。キャピラリー125は、キャピラリー先端部127にて終端している。キャピラリー先端部127は、一方の端部にてキャピラリー125に連結されている。キャピラリー先端部127の第2端部は、開放先端にて終端している。キャピラリー先端部127は、限定するものではないが金属又はシリカガラスを含めて硬性又は半硬性物質から形成され得る。キャピラリー先端部127に用いられる物質は、後にさらに詳細に説明するように、こ

50

こに与えられた液体に電気エネルギーを伝えるため、その物質の所望の電気特性にも依存し得る。

【0030】

この液体は、試料分子、マトリックス分子又は試料分子とマトリックス分子の混合物を含み得る。本発明の実施態様の一つでは、この液体は、試料分子を含有した試料溶液であり、マトリックス分子は独立に試料プレート115に与えられる。マトリックス分子を試料プレート115に与える方法は、限定的ではないが上面117に形成された個々のウェル中にマトリックス溶液を載置すること、上面117全体をマトリックス組成物で覆うことなどを含めて公知である。試料溶液は、試料プレート115への載置の際にマトリックス溶液又は組成物と混合される。別の実施態様では、マトリックス溶液は、キャピラリー125中の試料溶液と混合される。例えば、マトリックスは、液体が適当な接合継手を通じてクロマトグラフィーソースから出ていく際にこの液体と混合し得る。

10

【0031】

キャピラリー125とキャピラリー先端部127は、流れる液体部分130を受け入れる。好ましくは、液体のこの部分130は液滴である。液滴は、キャピラリー125を通る流速及び試料の所望のサイズと密度に依存して制御され調節自在なサイズ又は体積を有し得る。一般に、液滴の形成は、電場によるよりもむしろクロマトグラフィーポンプにより強いられる。液滴が印加電場の影響で引き付けられて離れるまで、液滴は、液滴の表面張力によりキャピラリー先端部127にてぶら下がる。この部分130は、噴霧のような液滴の集まり、又は液体の連続的な流れとし得る。

20

【0032】

本発明により、システム100は電源135を含み得る。ある実施態様では、電源135は、出力電圧の調節ができる。電源135は、グランド、すなわち零電位に接続された電極をも含み得る。電源135は、試料プレート又は液体のどちらかを付勢して液体と試料プレート117との間に電位差を作り出すように構成され、また、液体と試料プレート117のどちらかを特定の極性に事前に帯電させる得る。例えば、ある実施態様では、キャピラリー中の液体又はキャピラリー先端部の端の液滴中の液体が接地され、一方、試料プレートが帯電される。別法として、液体が帯電され、試料プレートは接地される。

【0033】

好ましい実施態様では、電圧パルスが液体を介して液滴、及び試料プレートに加えられ、よって、この電圧パルスの印加により、試料液滴130と試料プレート115との間に電位差が作られる。後に説明するように、電圧パルスは、試料プレートと液体とへの電気接続の任意の組合せよって与えることができる。このパルスの電圧レベルは、手動又は自動により設定でき、電圧パルスのタイミングと持続時間は、手動又は載置システム100を動かすソフトウエアにより制御され得る。また、図1に示す電源135は、試料プレート115及びキャピラリー先端部127の第2の開放端に接続されている。しかしながら、電源135からの実際の物理的な接続は、試料プレート又は液体のどちらかを付勢する任意の場所にて実現し得る。従って、本発明は図1に示される特定の実施態様には限定されない。

30

【0034】

システム100は、説明を簡単にするために図1には図示していない廃棄・洗浄プレートをさらにも含むことができる。廃棄・洗浄プレートにより、キャピラリー先端部(それを通して試料を載置する)の洗浄が可能となり、試料を試料プレートに点在させた前及び/又は後に余分な試料を滴下する場所を与える。

40

【0035】

図2は、本発明の別例の実施態様による液滴載置システム200を示す。システム200は、キャピラリー125のアレイを保持するよう構成された保持機構118を含む。各キャピラリーは、キャピラリー先端部127に接続され、キャピラリー先端部が液滴130を生じる。試料プレート115は、キャピラリー125のアレイの下の所望の場所に配置できる。試料プレート115は、例えばウェルやエッチングされた輪郭箇所のような目

50



標場所 116 のアレイを適宜含み得る。目標場所 116 のアレイは、ただ 1 つ列を有しているように示されているが、当業者ならば、液滴の所望のスポットサイズに幾分か基づいて目標場所 116 の複数の列及び行が可能なが分かるであろう。

【0036】

図示した実施態様では、保持機構 118 により 8 つのキャピラリー 125 が適所に保持されているが、本発明のシステム 200 により異なる数のキャピラリーを与えることもできる。従って、キャピラリーアレイにおけるキャピラリー 125 の数は、特定の数には限定されない。キャピラリーの数は、システム 200 で用いられる試料プレート 115 の目標場所 116 の数により制限され得る。

【0037】

この実施態様で示されている電源 135 は、保持機構 118 と試料プレート 115 との間に接続されている。上述のように、この接続は、液滴と試料プレートとの間のどこにでも構成し得る。ある実施態様では、より大きな柔軟性を得るために、別の電源又は電源からの別の電気接続が、各々のキャピラリー 125 及びその先端 127 に対して設けられ得る。このような実施態様では、特定のキャピラリーにより発生される各液滴のサイズと直径は独立に調節でき、各液滴は、他のキャピラリーからの載置とは独立に、試料プレート上に載置し得る。別の実施態様では、試料プレート 115 又は試料プレート 115 に接続された基板が、電氣的にアドレス指定可能な載置サイト又は独立な反対電極のアレイを備えて構成される。差電圧を試料プレート 115 に加えるべく、これらのサイト又は電極が目標場所 116 に対応し得る。例えば、試料プレート又は試料プレートの下にある電極プレートは、各試料場所を分離コネクタに接続する回路を含み得、この分離コネクタが、試料載置システム上の対応するコネクタにプラグインされる。各々の特定の目標場所は、このように独立にアドレス指定可能である。

【0038】

図 3A ~ 3C は、本発明による液滴載置方法を示すシステムの簡略図である。図 3A では、液体の少なくとも一部がキャピラリー 125 に与えられる。キャピラリー及びキャピラリー先端部 127 を所定の位置に配置するために、保持機構 118 を調節し得る。試料プレート 115 は、キャピラリー先端部 127 の下の位置に移動させる。

【0039】

次に、図 3B を参照すると、キャピラリー 125 を通る液体の流れは、キャピラリー先端部 127 の開放端にて液滴 130 を形成する。液滴のサイズと含有物は、特定の所望の試料スポットサイズ及び/又は試料密度となるように制御される。一定の実施態様では、各液滴は、10 マイクロリットルより小さい体積を有する。好ましくは、各液滴の体積は、100 ~ 200 ナノリットルの範囲である。図 3C に示されるように、電圧差 135 が液滴 130 と試料プレート 115 との間に加えられ、キャピラリー先端部 127 から試料プレート 115 上の目標場所 116 へと液滴を引き離し、試料スポット 132 を形成する。

【0040】

本発明による方法は、高電圧パルスを用いて液体試料と試料プレートとの間に電場を作る。実施態様の一つでは、キャピラリー先端部の端にて形成された液滴を帯電させる。別の実施態様では、試料プレートを帯電させる。電圧パルスの持続時間、及び各パルス間の間隔は調節自在であり、所望のスポットサイズのサイズに幾分か基づいて、試料載置の所望のスループットを得るべく制御される。

【0041】

図 4A ~ 4E は、液体の一部と試料プレートとの間に電場を作る様々な方法を示す。まず、図 4A を見ると、液滴を載置する方法が示されており、試料プレート 110 は、正又は負の高電圧電源に接続されている。電圧は 1 又はそれより多いパルスにて加えられ、これらのパルスが、載置が実施される期間に対応する。

【0042】

キャピラリー先端部 127 の端に形成された液滴は、中性に帯電され、これにより、正

10

20

30

40

50

又は負の電圧パルスを試料プレートに加えている間、液滴と試料プレートとの間に電位差を生じ得る。液滴と試料プレートとの間の電位差によって電場が発生し、この電場に沿って液滴が移動する。図4Aでは、保持機構118の一部である金属ティー(tee)140を介して液体が接地され、キャピラリー先端部127は、熔融シリカガラスのような非導電性物質から形成される。図4Bでは、キャピラリー先端部127は、金属のような導電性物質から作られ、直接グランドに接続されている。

【0043】

図4Cは、電場を作って試料を載置する別の方法を示す。この場合、キャピラリー先端部127は、シース128中に設けられる。シース128は、キャピラリー先端部127をその長さに沿って包囲する。シース液体129が、シース128中に送られる。シース液体129は、試料プレート110に印加される電圧パルスの極性とは反対の極性が与えられる。別法として、シース液体129は、中性の極性又はグランド電位を有し得る。シース液体は、キャピラリー先端部127の端にて液滴と接触する。

10

【0044】

図4D及び4Eに示すように、液体又は試料プレートのどちらかを帯電させるために、電極を用いることもできる。図4Dでは、試料プレート110は接地され、短い持続時間の間、電極が液滴130と接触して配置される。この電極は、キャピラリー先端部127に永続的に接続させることもでき、又はキャピラリー先端部が非導電性物質から形成されている場合には液体に直接接触すべく物理的に移動可能とすることもできる。さらに、電極は、所望の時間間隔にて液体又は液滴に切換自在に連結され得る。図4Eでは、液体は、上述した方法を含めて任意の方法によって接地される。そして、電極が試料プレート110に連結されて高電圧パルスを印加する。上述のように、この電極は、電圧パルスが必要とされるとき試料プレートに物理的に接続するためのスイッチを含み得る。

20

【0045】

図4Fは、本発明によるシステム及び方法の別の実施態様を示す。試料プレート110が、電極プレート150の上に取り付けられ、電極プレート150が電源に接続される。好ましくは、電源は、所定の時間間隔にて且つ所定の調節自在な持続時間の間電極プレート150に電圧パルスを印加するように構成される。この実施態様及び上述の他の実施態様では、電圧パルスの持続時間は、100~300ミリ秒の範囲にあり、約200ミリ秒であるのが好ましい。しかしながら、本発明の範囲を離れることなく他のパルス持続時間を用いることもできる。例えば、所望ならば、300ミリ秒よりも長い持続時間のパルスを印加すると、試料プレートへの試料のエレクトロスプレーが達成される。この実施態様及び上述の他の実施態様では、試料の液滴と試料プレートとの間の距離は、1~10ミリメートルの範囲にあり、好ましくは約5ミリメートルである。しかしながら、本発明の範囲を逸脱することなく他の距離を用いることもできる。

30

【0046】

一般に、電圧差は500~3000ボルトの範囲にある。しかしながら、本発明の範囲を逸脱することなく他の電圧差を用いることもできる。帯電した電極プレート150は、図4Fの簡略図に一般的に示されている電場を発生する。キャピラリー先端部127の端に形成されている液滴130は、電場155により極性が与えられ、電場155の経路に沿って電極プレート150に向かって試料プレート110に引っ張られる。

40

【0047】

別例の実施態様では、液体部分が、試料プレート上の単一場所に引き付けられる一連の液滴として、試料プレートに載置される。この実施態様では、試料プレート上の目標場所は、載置されるべき液体に対して位置決めされる。一連の電場が、好ましくはいくつかの電圧パルスにより発生され、それと同数の液滴が目標場所に引き付けられる。キャピラリーに対して試料プレートを移動させることなくパルス数を増加させることにより、目標場所での液体の体積が増加される。この実施態様により、載置された試料溶液の分解能が改善され、液滴中の分子の液体への逆混合が抑えられる。

【0048】

50

各目標場所での複数パルスの使用は、クロマトグラフィーからフラクションを収集するのに特に有効である。説明例として、特定のフラクション体積を収集するために、10秒間、1秒毎に1回200ミリ秒のパルスを与え得る。各目標場所でのパルス数、及びパルスの周波数と持続時間は、各場所にて所望の体積の試料を得るべく調節し得る。各場所でのパルス数は、特定の用途の必要性により変わり得る。一般に、2以上のパルスが各試料場所にて用いられる場合には、100以下のパルスが用いられ、ある実施態様ではパルス数は50以下であり、20以下とすることもできる。特定の用途に依存して、パルスの周波数もまた大きく変わり得る。例えば、パルスサイクルは、電圧オン、電圧オフの時間を等しくでき、又は各サイクルにおいて電圧オン時間を電圧オフ時間より長く若しくは短くできる。ある実施態様では、電荷が交流として与えられるので、電流が零である期間により分離される反対方向の電流パルスを生じる。本発明の目的のためには、電流の方向性は、液体の移動には重要ではない。

10

## 【0049】

一般に、本発明のシステムは、様々なシステムコンポーネントに作動自在に接続されているか又はその中に含まれている少なくとも1つのコンピュータ（又は他の情報機器）を含む。一般に、コンピュータは、試料プレート輸送及びパルス化システムに指示するシステムソフトウェアを含み、例えば、プレートをキャピラリーの下の位置に移動させ、所望の目標場所に対応するキャピラリーの下に位置するようにプレートを移動させ、パルスの持続時間、周波数及び強度を制御し、クロマトグラフィーシステムを通して液体をポンプ送りする速度を制御等する。また、試料載置システムは、適当にプログラミングされたプロセッサ又はコンピュータに適直接続され、事前にプログラミングされた又はユーザー入力された命令によりこれらの機器の動作を指令し、これらの機器からデータと情報を受け取り、この情報を解釈し、操作し、ユーザーに報告する機能を有する。このようなものとして、一般にコンピュータは（例えば必要とされるアナログ-デジタル又はデジタル-アナログ変換器を含んだ）機器に適当に接続される。

20

## 【0050】

一般に、コンピュータは、例えばGUIにおける1組のパラメータフィールド中へのユーザー入力の形態にて、又は例えば様々な異なる特定操作のために事前にプログラミングされた事前プログラミング命令の形態にて、ユーザー命令を受け取るための適当なソフトウェアを含む。次に、このソフトウェアは、これらの命令を適当な言語に変換し、1以上の取扱いシステム、流体方向付けシステムなどの動作を命令して所望の動作を実行し、例えば様々なシステムコンポーネントの動きの速度又はモードを変え又は選択等する。次に、コンピュータは、システム内に含まれる1以上のセンサー/検出器からデータを受け取り、そのデータを解釈し、例えば流体の流速、流体の体積、パルスの持続時間や周波数などにつき、プログラミングに従って、それをユーザーが理解できるフォーマットにするか又はそのデータを用いて別のコントローラ命令を開始させる。

30

## 【0051】

一定の実施態様では、機器制御言語（ICL）スクリプトを用いて書かれたMicrosoft WINDOWS（登録商標）が、本発明の試料載置システムで用いるのに適応される。適宜、ワードプロセッシングソフトウェア（例えば、Microsoft Word（登録商標）又はCorel WordPerfect（登録商標））やデータベースソフトウェア（例えば、Microsoft Excel（登録商標）、Corel Quattro Pro（登録商標）のようなスプレッドシートソフトウェアや、Microsoft Access（登録商標）若しくはParadox（登録商標）のようなデータベースプログラム）のような標準のデスクトップアプリケーションが、試薬又はその質量に対応する文字ストリングを入力することにより、本発明に適応され得る。例えば、本システムは、適宜、例えばユーザーインターフェース（例えば、Windows、Macintosh又はLinuxシステムのような標準的なオペレーティングシステムにおけるGUI）と共に用いられる適当な情報を有する上述のソフトウェアを含み、関連情報を操作する。適当なグラフィカルユーザーインターフェースの一例を図5に示す。この

40

50

GUIは、例えば1試料プレート当たりの試料目標場所の数、各パルスの持続時間、使用すべき特定の校正プレート及び図6に示された他のパラメータを含めて様々なパラメータをユーザーが入力するのに資する。図6は、機器の校正に用いられるGUIの例を示す。

【0052】

本コンピュータは、例えばPC(Intel x86又はPentiumとチップコンパチブルなDOS(登録商標)、OS2(登録商標)、WINDOWS NT(登録商標)、WINDOWS 95(登録商標)、WINDOWS 98(登録商標)、WINDOWS 2000(登録商標)、WINDOWS XP(登録商標)、LINUXベースの機械、MACINTOSH(登録商標)、Power PC又はUNIXベース(例えばSUN(登録商標)ワークステーション)機械)、又は当業者には公知の他の一般の市販コンピュータとし得る。試料載置方法を実施するためのソフトウェアは、ビジュアルベシック、フォートラン、ペシック、ジャバなどのような標準プログラミング言語を用いて当業者により適宜容易に構成される。コントローラ又はコンピュータは、モニターを適宜含み、このモニターは、しばしば、ブラウン管(CRT)ディスプレイ、フラットパネルディスプレイ(例えばアクティブマトリックス液晶ディスプレイ、液晶ディスプレイ)などである。コンピュータ回路は、しばしば箱(例えば本発明の試料載置システムに隣接している)中に配置され、これはマイクロプロセッサ、メモリ、インターフェース回路などのような多数の集積回路チップを含む。この箱は、ハードディスクドライブ、フロッピーディスクドライブ、書き込み可能なCD-ROMのような高容量リムーバブルドライブ、及び他の共通の周辺要素をも適宜含む。キーボード(例えばタッチスクリーンなど)やマウスのような入力デバイスが、ユーザーからの入力に適宜用いられる。

【0053】

ここに記載の例と実施態様は単に説明目的であること、及びそれを考慮して様々な変更が当業者に示唆されるが、それらは本出願の精神や範囲、添付の特許請求の範囲の範囲内に含まれることが分かる。ここに引用した総ての刊行物、特許及び特許出願は、あらゆる目的のためここに援用される。

【図面の簡単な説明】

【0054】

【図1】本発明による液体クロマトグラフィー試料載置システムの簡略図である。

【図2】本発明による試料載置の別の実施態様を示す。

【図3】図3A~3Cは、載置システムの簡略図であり、本発明による液滴載置方法を示す。

【図4A-C】本発明の方法により電場パルスを印加する種々の方法を示す。

【図4D-F】本発明の方法により電場パルスを印加する種々の方法を示す。

【図5】本発明の試料載置装置を制御するのに用いることができるグラフィカルユーザーインターフェースの例を示す。

【図6】校正プレートを調製するのに使用するグラフィカルユーザーインターフェースの例を示す。

【符号の説明】

【0055】

- 100 試料分配システム
- 105 移動テーブル
- 110 試料ホルダー
- 115 試料プレート
- 116 目標場所
- 117 試料プレートの表面
- 118 保持機構
- 125 キャピラリー
- 127 キャピラリー先端部
- 128 シース

10

20

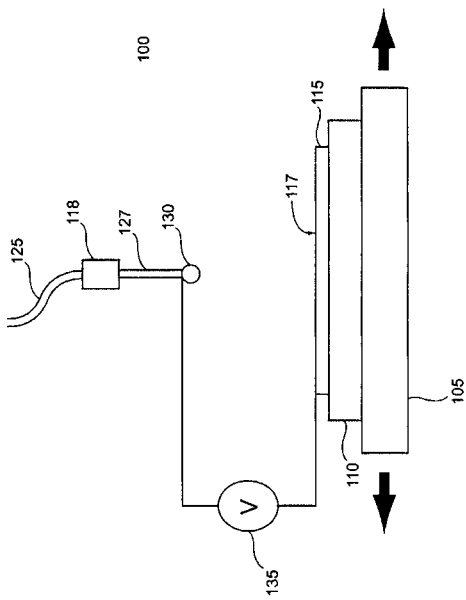
30

40

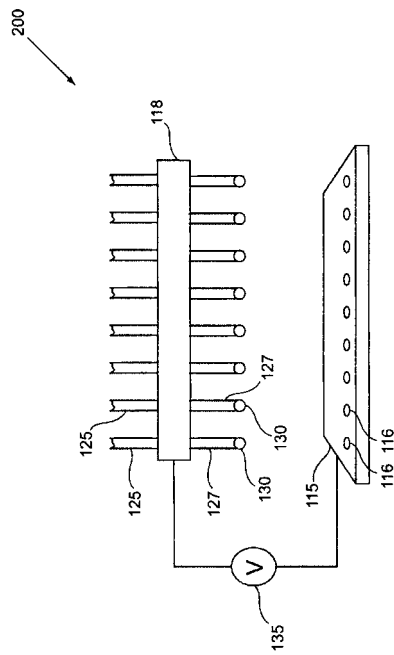
50

- 1 2 9 シース液体
- 1 3 0 液滴
- 1 3 2 試料スポット
- 1 3 5 電源
- 1 4 0 金属ティール
- 1 5 0 電極プレート
- 1 5 5 電場
- 2 0 0 液滴載置システム

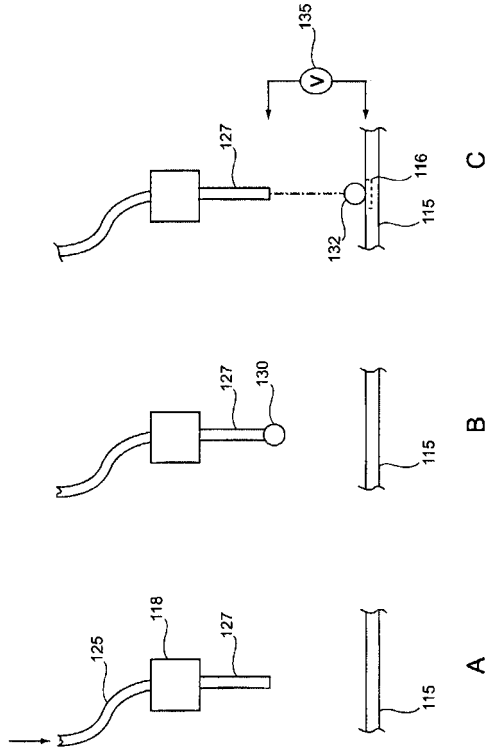
【図 1】



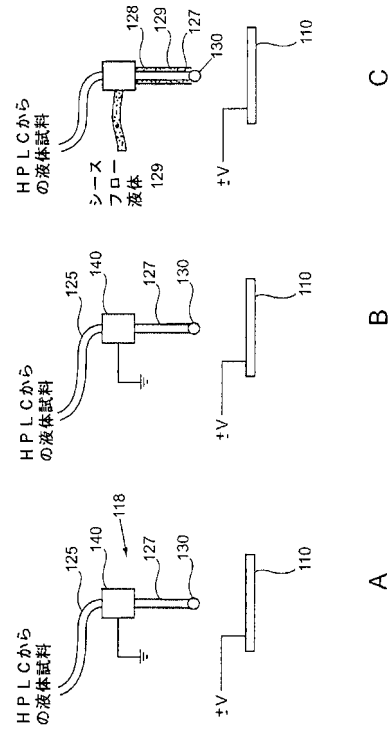
【図 2】



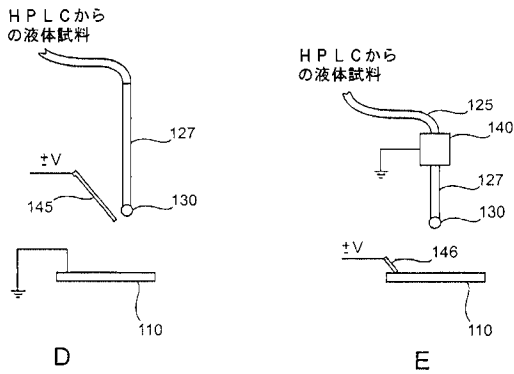
【図3】



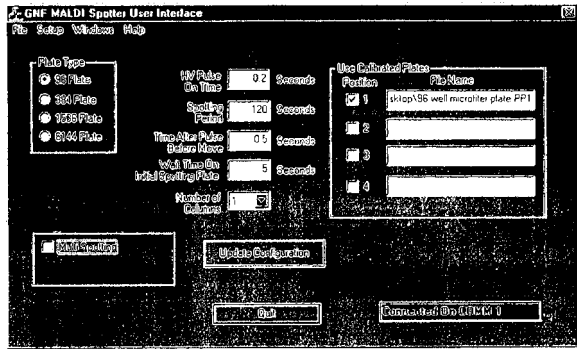
【図4A-C】



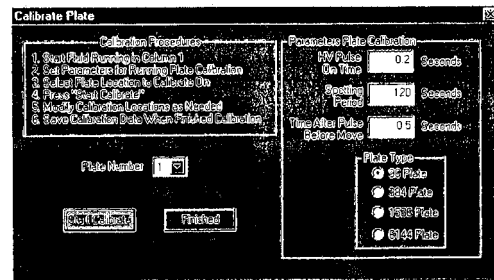
【図4D-F】



【図5】



【図6】



## フロントページの続き

- (72)発明者 クリストファー・エム．・シャウ  
アメリカ合衆国 カリフォルニア州 9 2 1 3 0 サン ディエゴ ナンバー 9 4 ヴィア カン  
ディディズ 4 1 0 4
- (72)発明者 ロバート・シー．・ダウンス  
アメリカ合衆国 カリフォルニア州 9 2 0 3 7 ラ ジョラ ラ ジョラ コロナ ドライヴ  
5 7 9 5

審査官 島田 英昭

- (56)参考文献 米国特許第 0 6 1 4 9 8 1 5 ( U S , A )  
米国特許第 0 5 9 1 6 5 2 4 ( U S , A )  
国際公開第 0 0 / 0 1 5 3 2 1 ( W O , A 1 )  
米国特許第 0 6 1 3 2 5 8 2 ( U S , A )

## (58)調査した分野(Int.Cl. , D B 名)

G01N27/62-27/70 H01J49/00-49/48  
G01N1/00  
G01N30/80