



(12) **EUROPÄISCHE PATENTANMELDUNG**

(43) Veröffentlichungstag:
21.06.2006 Patentblatt 2006/25

(51) Int Cl.:
H01J 49/04^(2006.01)

(21) Anmeldenummer: 04030063.4

(22) Anmeldetag: 17.12.2004

(84) Benannte Vertragsstaaten:
AT BE BG CH CY CZ DE DK EE ES FI FR GB GR
HU IE IS IT LI LT LU MC NL PL PT RO SE SI SK TR
Benannte Erstreckungsstaaten:
AL BA HR LV MK YU

(72) Erfinder:
• Troe, Jürgen
37085 Göttingen (DE)
• Charvat, Ales
37077 Göttingen (DE)
• Abel, Bernd
37127 Dransfeld (DE)

(71) Anmelder:
• Max-Planck-Gesellschaft zur Förderung
der Wissenschaften e.V.
80539 München (DE)
• Georg-August-Universität Göttingen
37073 Göttingen (DE)

(74) Vertreter: Beier, Ralph
v. Bezold & Sozien
Akademiestrasse 7
80799 München (DE)

(54) **Untersuchungsverfahren und -system zur Hochdurchsatzmassenanalyse**

(57) Die Erfindung betrifft ein Untersuchungsverfahren, insbesondere für die Massenspektroskopie von Biomolekülen, mit den folgenden Schritten: Einbringung einer oder mehrerer zu untersuchender Proben (2-4) in schneller Folge in eine Trägerflüssigkeit eines Mikroflüssigkeitsstrahls (1); Desorption zumindest eines Teils der

Proben (2-4) aus dem Mikroflüssigkeitsstrahl (1) und Untersuchung der aus dem Mikroflüssigkeitsstrahl (1) desorbierten Probe (2-4). Es wird vorgeschlagen, dass die Probe (2-4) in dem Mikroflüssigkeitsstrahl (1) in Strahlrichtung räumlich begrenzt ist und sich in Strahlrichtung nur über einen Teilbereich des Mikroflüssigkeitsstrahls (1) erstreckt.

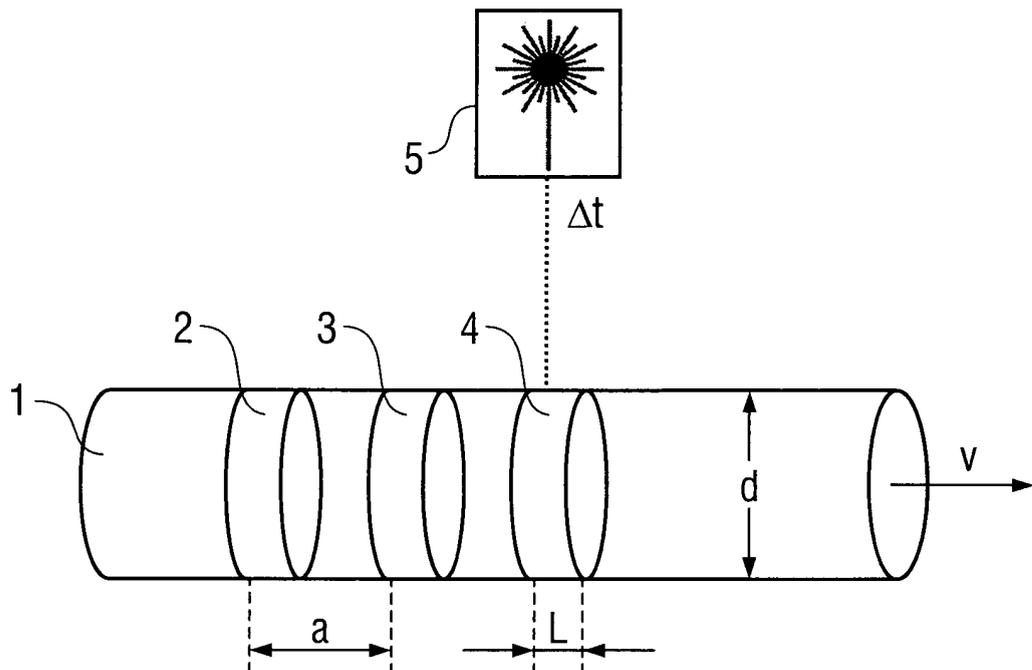


FIG 1

Beschreibung

[0001] Die Erfindung betrifft ein Untersuchungsverfahren und ein entsprechendes Untersuchungssystem, insbesondere für die Massenspektroskopie von Biomolekülen, gemäß dem Oberbegriff der nebengeordneten Ansprüche.

[0002] Es ist aus SPANGENBERG, Tim; ABEL, Bernd: "Laser-angeregte Mikrofilamente für extreme Lichtquellen und Biomolekülanalytik", Photonik 6/2004 bekannt, sogenannte Mikroflüssigkeitsstrahlen zur massenspektroskopischen Untersuchung von großen Biopolymeren, organischen Molekülen und Ionen einzusetzen. Dabei werden die zu untersuchenden Proben (z.B. Biopolymere) in Wasser als Trägerflüssigkeit gelöst, wobei die Trägerflüssigkeit mit der darin gelösten Probe durch eine Mikrodüse in ein Vakuum eingespritzt wird, so dass sich in dem Vakuum ein stabiler Mikroflüssigkeitsstrahl ausbildet, der einen Strahldurchmesser im Bereich von 5-100 µm und eine Strahlgeschwindigkeit von 30-100 m/s aufweist. Aus diesem Mikroflüssigkeitsstrahl werden dann Moleküle durch Bestrahlung mit gepulstem, abstimmbarem Infrarot-Laserlicht desorbiert und anschließend massenspektroskopisch untersucht. Diese laserinduzierte Desorption von Probenmolekülen aus dem Mikroflüssigkeitsstrahl ermöglicht vorteilhaft eine sehr schonende Freisetzung der Probenmoleküle.

[0003] Nachteilig an diesem bekannten Untersuchungsverfahren ist zum einen der relativ hohe Verbrauch von Probensubstanz, da die in dem Mikroflüssigkeitsstrahl enthaltene Probensubstanz zwischen den aufeinander folgenden Laserimpulsen nicht desorbiert wird und deshalb ungenutzt bleibt. Die Ausbeute der Probensubstanz lässt sich hierbei allenfalls durch eine Erhöhung der Impulsrate des Lasers steigern, was jedoch nur in begrenztem Umfang möglich ist.

[0004] Zum anderen ermöglicht das eingangs beschriebene bekannte Untersuchungsverfahren nur die Untersuchung einer einzigen Probensubstanz, die in der Trägerflüssigkeit des Mikroflüssigkeitsstrahls gelöst ist. Zur Untersuchung einer anderen Probensubstanz muss die Trägerflüssigkeit mit der alten Probensubstanz zunächst ausgewechselt werden, was äußerst aufwändig ist. Das eingangs beschriebene bekannte Untersuchungsverfahren ermöglicht also keine Hochdurchsatzmassenanalyse einer Vielzahl von Proben.

[0005] Der Erfindung liegt deshalb die Aufgabe zugrunde, das eingangs beschriebene bekannte Untersuchungsverfahren bzw. das zugehörige Untersuchungssystem entsprechend zu verbessern.

[0006] Diese Aufgabe wird durch ein Untersuchungsverfahren bzw. ein Untersuchungssystem gemäß den nebengeordneten Ansprüchen gelöst.

[0007] Die Erfindung umfasst die allgemeine technische Lehre, in die Trägerflüssigkeit des Mikroflüssigkeitsstrahls jeweils räumlich begrenzte Proben einzubringen, die sich jeweils in Strahlrichtung nur über einen Teilbereich des Mikroflüssigkeitsstrahls erstrecken. Eine

derartige örtlich begrenzte Injektion der zu untersuchenden Proben in die Trägerflüssigkeit des Mikroflüssigkeitsstrahls ermöglicht vorteilhaft einen schnellen Wechsel der zu untersuchenden Proben, indem nacheinander die verschiedenen Proben in den Mikroflüssigkeitsstrahl injiziert und hintereinander untersucht werden. Darüber hinaus wird durch die räumlich begrenzte Injektion der Proben der Verbrauch an Probensubstanz wesentlich verringert.

[0008] Bei einer Hochdurchsatzmassenanalyse werden hierbei vorzugsweise mehrere Proben in den Mikroflüssigkeitsstrahl eingebracht, so dass die einzelnen Proben in dem Mikroflüssigkeitsstrahl in Strahlrichtung hintereinander angeordnet und räumlich voneinander getrennt sind. Die einzelnen Proben bilden hierbei also Pfropfen oder Segmente in dem ansonsten aus der Trägerflüssigkeit (z.B. Wasser) bestehenden Mikroflüssigkeitsstrahl.

[0009] Die Injektion der einzelnen Proben in die Trägerflüssigkeit kann beispielsweise durch ein steuerbares Ventil erfolgen, das vorzugsweise stromaufwärts vor der Mikrodüse angeordnet ist, die zur Erzeugung eines Mikroflüssigkeitsstrahls verwendet wird. Bei dem verwendeten Ventil kann es sich beispielsweise um ein Hochdruckventil (HPLC-Ventil) handeln, wie beispielsweise das Gynkotek-Modell 300C.

[0010] Falls die Schaltzeiten derartiger Ventile zu groß sind, um die Proben mit einer ausreichend hohen Taktfrequenz in die Trägerflüssigkeit zu injizieren, besteht die Möglichkeit, mehrere derartige Ventile in Strömungsrichtung untereinander anzuordnen.

[0011] Die Ventile münden hierbei vorzugsweise in einen Trägerstromkanal, der die Mikrodüse zur Erzeugung des Mikroflüssigkeitsstrahls speist.

[0012] Weiterhin besteht im Rahmen der Erfindung die Möglichkeit, dass die einzelnen Proben unterschiedliche Probensubstanzen enthalten, so dass eine Massendurchsatzanalyse einer Vielzahl unterschiedlicher Proben ermöglicht wird.

[0013] Die Desorption der einzelnen Proben aus dem Mikroflüssigkeitsstrahl kann im Rahmen der Erfindung in herkömmlicher Weise durch Laserbestrahlung erfolgen, beispielsweise durch Bestrahlung mit gepulstem, abstimmbarem, IR-Laserlicht, was aus der eingangs zitierten Druckschrift SPANGENBERG, Tim; ABEL, Bernd: "Laser-angeregte Mikrofilamente für extreme Lichtquellen und Biomolekülanalytik" sowie aus CHARVAT, A. et al.: "New design for a time-of-flight mass spectrometer with a liquid beam laser desorption source for the analysis of biomolecules", Review of scientific instruments, Volume 75, Number 5, May 2004, Seiten 1209 ff. bekannt ist. Der Inhalt dieser beiden Druckschriften ist deshalb der vorliegenden Beschreibung hinsichtlich der Desorption der Proben aus dem Mikroflüssigkeitsstrahl in vollem Umfang zuzurechnen, so dass an dieser Stelle auf eine detaillierte Beschreibung der Techniken zur Desorption der Proben aus dem Mikroflüssigkeitsstrahl verzichtet werden kann. Das erfindungsgemäße Untersuchungs-

system weist also vorzugsweise eine Desorptionseinrichtung mit einem Laser auf.

[0014] Darüber hinaus kann die Untersuchung der aus dem Mikroflüssigkeitsstrahl desorbierten Proben im Rahmen der Erfindung ebenfalls in herkömmlicher Weise erfolgen, beispielsweise durch eine massenspektroskopische Untersuchung. Hinsichtlich der Untersuchung der aus dem Mikroflüssigkeitsstrahl desorbierten Proben wird ebenfalls auf die beiden vorstehend erwähnten Druckschriften "Laser-angeregte Mikrofilamente für extreme Lichtquellen und Biomolekülanalytik" und "New design for a time-of-flight mass spectrometer with a liquid beam laser desorption ion source for the analysis of biomolecules" verwiesen, deren Inhalt der vorliegenden Beschreibung in diesem Zusammenhang in vollem Umfang zuzurechnen ist.

[0015] Die Mikrodüse selbst kann im Rahmen der Erfindung in herkömmlicher Weise ausgebildet sein, wobei derartige Mikrodüsen beispielsweise in der Patentveröffentlichung WO 2004/076071 A1 beschrieben sind. Der Inhalt dieser Patentveröffentlichung ist deshalb der vorliegenden Beschreibung in vollem Umfang zuzurechnen.

[0016] Die einzelnen Proben in dem Mikroflüssigkeitsstrahl können in Strahlrichtung eine räumliche Ausdehnung aufweisen, die so groß ist, dass jede Probe mehrfach von einem Laserimpuls zur Desorption getroffen werden kann. Eine derartige mehrfache Desorption von Probenmolekülen aus den einzelnen Proben ermöglicht beispielsweise eine statistische Auswertung der daraus resultierenden Untersuchungsergebnisse, beispielsweise durch eine Mittelwertbildung. Voraussetzung dafür ist jedoch, dass das Produkt aus der Strahlgeschwindigkeit und der Desorptions-Periodendauer (d.h. in der Regel der Periodendauer des gepulsten Lasers) kleiner sein muss als die Probenlänge der einzelnen Proben, damit eine mit dem Mikroflüssigkeitsstrahl fortbewegte Probe nacheinander von mehreren Laserimpulsen erfasst werden kann.

[0017] Es besteht jedoch alternativ auch die Möglichkeit, dass die einzelnen Proben in dem Mikroflüssigkeitsstrahl eine so geringe Probenlänge in Strahlrichtung aufweisen, dass jede Probe jeweils nur von einem einzigen Laserimpuls erfasst werden kann. In diesem Fall ist das Produkt aus der Strahlgeschwindigkeit und der Desorptions-Periodendauer (d.h. der Periodendauer des gepulsten Laserlichts) größer als die Probenlänge. Derartig kurze Proben ermöglichen vorteilhaft einen Massendurchsatz einer Vielzahl von Proben bei gleichzeitig geringem Probenstoffeintrag (Probenmengen).

[0018] Bei dem erfindungsgemäßen Untersuchungsverfahren müssen die einzelnen Laserimpulse die einzelnen Proben exakt treffen, um eine Desorption von Probensubstanz aus dem Mikroflüssigkeitsstrahl zu bewirken. Es besteht deshalb im Rahmen der Erfindung die Möglichkeit, dass die Desorption (z.B. die Laserimpulse) unter Berücksichtigung der Probenlänge und der Strahlgeschwindigkeit synchronisiert wird, so dass die einzelnen Laserimpulse jeweils exakt eine der Proben treffen.

[0019] Eine derartige Synchronisation kann beispielsweise passiv erfolgen, indem die Strahlgeschwindigkeit erfasst wird und die Laserimpulse in Abhängigkeit von der Strahlgeschwindigkeit getriggert werden.

5 **[0020]** Es ist jedoch auch möglich, dass die Synchronisation aktiv erfolgt. Beispielsweise kann hierzu eine optische Schranke verwendet werden, durch die der Mikroflüssigkeitsstrahl hindurchtritt, so dass die einzelnen Proben beim Durchgang durch die optische Schranke detektiert werden können. In Abhängigkeit von dieser Detektion der einzelnen Proben kann dann die Abgabe der einzelnen Laserimpulse so getriggert werden, dass diese exakt die einzelnen Proben treffen.

10 **[0021]** Weiterhin besteht die Möglichkeit, der Probensubstanz einen Farbstoff zuzusetzen, was die optische Erkennung der einzelnen Proben in dem Mikroflüssigkeitsstrahl und damit die aktive Synchronisation erleichtert.

15 **[0022]** Die Injektion der einzelnen Proben in die Trägerflüssigkeit des Mikroflüssigkeitsstrahls erfolgt vorzugsweise stromaufwärts vor der Mikrodüse, da dort die Strömungsgeschwindigkeit der Trägerflüssigkeit wesentlich geringer ist als in dem Mikroflüssigkeitsstrahl stromabwärts hinter der Mikrodüse.

20 **[0023]** Für die Injektion der einzelnen Proben in die Trägerflüssigkeit kann beispielsweise ein Probenmagazin mit mehreren Probenkammern eingesetzt werden, wobei die einzelnen Probenkammern des Probenmagazins mit den einzelnen Proben beschickbar sind. Das Probenmagazin kann dann so in die Trägerstromleitung eingeführt werden, dass die Trägerstromleitung durch eine der Probenkammern fließt und dabei die darin befindliche Probensubstanz mitführt.

25 **[0024]** Das Probenmagazin kann hierbei beispielsweise revolverförmig ausgebildet sein und im Betrieb entsprechend gedreht werden, um nacheinander verschiedene Proben in die Trägerflüssigkeit einzubringen.

30 **[0025]** Bei der Trägerflüssigkeit zur Aufnahme der zu untersuchenden Proben kann es sich beispielsweise um herkömmliches Wasser handeln. Die Erfindung ist jedoch hinsichtlich der zu verwendenden Trägerflüssigkeit nicht auf Wasser beschränkt, sondern auch mit beliebigen anderen Flüssigkeiten realisierbar.

35 **[0026]** Weiterhin ist zu erwähnen, dass die einzelnen Proben beispielsweise ein Probenvolumen im Bereich von 10 nl bis 100 ml aufweisen, wobei beliebige Zwischenwerte innerhalb dieses Bereichs möglich sind. Vorzugsweise liegt das Probenvolumen jedoch im Bereich von 10 nl bis 100 μ l.

40 **[0027]** Ferner ist zu erwähnen, dass der Mikroflüssigkeitsstrahl vorzugsweise einen Strahldurchmesser im Bereich von 5 μ m bis 100 μ m aufweist, wobei sich ein Bereich von 5 μ m bis 30 μ m als besonders vorteilhaft erwiesen hat.

45 **[0028]** Der Mikroflüssigkeitsstrahl weist ferner eine Strahlgeschwindigkeit auf, die vorzugsweise im Bereich von 20 m/s bis 200 m/s liegt, wobei hinsichtlich der Strahlgeschwindigkeit ebenfalls beliebige Zwischenwerte in-

nerhalb des vorstehend erwähnten Wertebereichs möglich sind.

[0029] Ferner kann der Mikroflüssigkeitsstrahl zwischen der Mikrodüse und seinem Zerfallspunkt, in dem der Mikroflüssigkeitsstrahl in Tropfen zerfällt, eine Vielzahl von Proben enthalten, wie beispielsweise mehr als 10, mehr als 50, oder mehr als 100 Proben.

[0030] Es ist jedoch alternativ auch möglich, dass der schnell fließende Mikroflüssigkeitsstrahl zwischen der Mikrodüse und dem Zerfallspunkt, d.h. in dem sogenannten kontinuierlichen Bereich, nur eine einzige Probe enthält. Auch in diesem Fall kann eine Vielzahl von Proben in schneller Folge untersucht werden, beispielsweise mehr als 5 Proben pro Sekunde.

[0031] Darüber hinaus ist - obwohl selbstverständlich - zu erwähnen, dass der Mikroflüssigkeitsstrahl in der Regel in ein Vakuum bzw. in eine Vakuumkammer eingespritzt wird, wobei in der Vakuumkammer die Desorption der Proben und/oder die Untersuchung der Proben erfolgt.

[0032] Schließlich umfasst die Erfindung auch einen Mikroflüssigkeitsstrahl als solchen, der räumlich begrenzte Proben enthält, die sich in Strahlrichtung nur über einen Teilbereich des Mikroflüssigkeitsstrahls erstrecken.

[0033] Andere vorteilhafte Weiterbildungen der Erfindung sind in den Unteransprüchen gekennzeichnet oder werden nachstehend zusammen mit der Beschreibung der bevorzugten Ausführungsbeispiele der Erfindung anhand der Figuren näher erläutert. Es zeigen:

Figur 1 eine schematische Darstellung eines Mikroflüssigkeitsstrahls mit mehreren, jeweils räumlich begrenzten Proben, die laserinduziert aus dem Mikroflüssigkeitsstrahl desorbiert werden, um eine massenspektroskopische Untersuchung zu ermöglichen,

Figur 2 eine Abwandlung eines derartigen Mikroflüssigkeitsstrahls, bei dem die einzelnen Proben in Strahlrichtung so lang sind, dass diese jeweils von mehreren Laserimpulsen erfasst werden,

Figur 3 eine schematische Darstellung eines erfindungsgemäßen Untersuchungssystems mit einer Lichtschranke zur Detektion der Proben in dem Mikroflüssigkeitsstrahl und zur Synchronisation der Abgabe der Laserimpulse zur Desorption der einzelnen Proben

Figuren 4A, 4B eine Injektionseinrichtung zur Einbringung der Proben in die Trägerflüssigkeit des Mikroflüssigkeits-

strahls, sowie

Figuren 5A, 5B eine alternative Ausführungsform einer derartigen Injektionseinrichtung.

[0034] Die schematische Darstellung in Figur 1 zeigt einen Mikroflüssigkeitsstrahl 1, der einen Strahldurchmesser d im Bereich von $5 \mu\text{m}$ bis $100 \mu\text{m}$ und eine Strahlgeschwindigkeit v im Bereich von 20 m/s bis 200 m/s aufweist, wobei der Mikroflüssigkeitsstrahl 1 durch eine an sich bekannte Mikrodüse in ein Vakuum eingespritzt wird und in dem Vakuum bis zu einem nicht dargestellten Zerfallspunkt stabil bleibt, an dem der Mikroflüssigkeitsstrahl 1 dann in Tröpfchen zerfällt.

[0035] Die Mikrodüse selbst ist hierbei in herkömmlicher Weise gemäß der Patentveröffentlichung WO 2004/076071 A1 ausgebildet, so dass an dieser Stelle auf eine detaillierte Beschreibung der Mikrodüse verzichtet werden kann.

[0036] In den Mikroflüssigkeitsstrahl 1 sind mehrere Proben 2-4 pfropfenförmig eingebracht, wobei die Proben 2-4 unterschiedliche Probensubstanzen enthalten können, um eine Massendurchsatzanalyse einer Vielzahl von Proben zu ermöglichen.

[0037] Die einzelnen Proben 2-4 werden zur Desorption aus dem Mikroflüssigkeitsstrahl 1 von einem Infrarot-Laser 5 mit Laserimpulsen bestrahlt, was an sich aus den bereits vorstehend zitierten Druckschriften "Laserangeregte Mikrofilamente für extreme Lichtquellen und Biomolekülanalytik" und "New design for a time-of-flight mass spectrometer with a liquid beam laser desorption ion source for the analysis of biomolecules" bekannt ist, so dass zur Vermeidung von Wiederholungen auf die Druckschriften verwiesen wird.

[0038] Der Infrarot-Laser 5 gibt die einzelnen Laserimpulse hierbei mit einer Periodendauer Δt ab, die an die Probenlänge L der einzelnen Proben 2-4 derart angepasst ist, dass das Produkt aus der Strahlgeschwindigkeit v und der Impuls-Periodendauer größer ist als die Probenlänge L . Dies bedeutet, dass jede der Proben 2-4 nur von einem einzigen Laserimpuls getroffen wird.

[0039] Das in Figur 2 dargestellte Ausführungsbeispiel stimmt weitgehend mit dem vorstehend beschriebenen und in Figur 1 dargestellten Ausführungsbeispiel überein, so dass zur Vermeidung von Wiederholungen weitgehend auf die vorstehende Beschreibung verwiesen wird, wobei für entsprechende Teile bzw. Elemente dieselben Bezugszeichen verwendet werden.

[0040] Eine Besonderheit dieses Ausführungsbeispiels besteht darin, dass die Probenlänge L der einzelnen Proben 2, 3 wesentlich größer ist als bei dem Ausführungsbeispiel gemäß Figur 1. Das Produkt aus der Strahlgeschwindigkeit v und der Impuls-Periodendauer Δt ist hierbei kleiner als die Probenlänge L der beiden Proben 2, 3, so dass jede der beiden Proben 2, 3 von mehreren Laserimpulsen getroffen wird. Dies hat zur Folge, dass aus jeder der Proben 2, 3 mehrere Probenfragmente desorbiert und getrennt untersucht werden. Dies

ermöglicht eine Mittelwertbildung der Untersuchungsergebnisse der einzelnen Probenfragmente.

[0041] Das in Figur 3 dargestellte Ausführungsbeispiel stimmt wiederum weitgehend mit dem vorstehend beschriebenen und in Figur 2 dargestellten Ausführungsbeispiel überein, so dass zur Vermeidung von Wiederholungen wieder auf die vorstehende Beschreibung zu Figur 2 verwiesen wird. Eine Besonderheit dieses Ausführungsbeispiels besteht darin, dass die Abgabe der Laserimpulse durch den Infrarot-Laser 5 durch eine Synchronisationseinrichtung getriggert wird, damit die einzelnen Laserimpulse jeweils exakt die Proben 2, 3 treffen.

[0042] Hierzu weist das Ausführungsbeispiel eine Lichtschranke auf, die aus einem Laser 6 und einem optischen Detektor 7 besteht, wobei der von dem Laser 6 emittierte Laserstrahl durch den Mikroflüssigkeitsstrahl 1 hindurch geht und deshalb eine Detektion der einzelnen Proben 2, 3 beim Durchgang durch den Laserstrahl ermöglicht.

[0043] Der Detektor 7 steuert beim Durchgang der einzelnen Proben 2, 3 jeweils eine Steuereinheit 8 an, die dann den Infrarot-Laser 5 so triggert, dass die von diesem abgegebenen Impulse exakt die Proben 2, 3 treffen.

[0044] Die Figuren 4A und 4B zeigen eine Injektionseinrichtung, die verwendet werden kann, um die Proben 2, 3 in die Trägerflüssigkeit des Mikroflüssigkeitsstrahls 1 zu injizieren.

[0045] Die Injektionseinrichtung ist hierbei stromaufwärts vor der Mikrodüse angeordnet, die den Mikroflüssigkeitsstrahl 1 in das Vakuum injiziert. Diese Anordnung ist vorteilhaft, da die Strömungsgeschwindigkeit der Trägerflüssigkeit stromaufwärts vor der Mikrodüse wesentlich geringer ist als die in Mikroflüssigkeitsstrahl 1 stromabwärts hinter der Mikrodüse, wodurch die Injektion der Proben 2, 3 erleichtert wird.

[0046] Die Injektionseinrichtung ist hierbei in der Trägerstromleitung angeordnet, welche die Mikrodüse speist, wobei in der Zeichnung zwei Trägerstromleitungsabschnitte 9, 10 dargestellt sind.

[0047] Die Trägerflüssigkeit wird in der Injektionseinrichtung über den Trägerstromleitungsabschnitt 9 zugeführt und verlässt die Injektionseinrichtung wieder über den Trägerstromleitungsabschnitt 10 zu der Mikrodüse, die den Mikroflüssigkeitsstrahl 1 in das Vakuum injiziert.

[0048] In der Injektionseinrichtung fließt die Trägerflüssigkeit durch eine von zwei Probenkammern 11, 12 eines Probenmagazins 13, wobei das Probenmagazin 13 in Pfeilrichtung drehbar ist.

[0049] In der in Figur 4A gezeigten Stellung des Probenmagazins 13 fließt die Trägerflüssigkeit über den Trägerstromleitungsabschnitt 9 durch die Probenkammer 11 in den Trägerstromleitungsabschnitt 10 und dann weiter zu der Mikrodüse.

[0050] Die andere Probenkammer 12 des Probenmagazins 13 wird dann von Probensubstanz gefüllt, wobei die Probensubstanz über eine Probenzuleitung 14 in die Probenkammer 12 eingeführt wird und diese in Richtung

der Probenausleitung 15 durchströmt.

[0051] Wenn die Probenkammer 12 mit der gewünschten Probensubstanz gefüllt ist, kann das Probenmagazin 13 in Pfeilrichtung gedreht werden, so dass die mit Probensubstanz gefüllte Probenkammer 12 zwischen den beiden Trägerstromleitungsabschnitten 9, 10 liegt und deshalb mit Trägerflüssigkeit durchspült wird, wobei die in der Probenkammer 12 befindliche Probensubstanz mitgeführt wird.

[0052] Währenddessen kann die andere Probenkammer 11 mit einer neuen Probensubstanz gefüllt werden, was in Figur 4B dargestellt ist.

[0053] Die Figuren 5A und 5B zeigen ein alternatives Ausführungsbeispiel einer Injektionseinrichtung zur Injektion der einzelnen Proben in die Trägerflüssigkeit des Mikroflüssigkeitsstrahls 1.

[0054] Dieses Ausführungsbeispiel stimmt teilweise mit dem vorstehend beschriebenen und in den Figuren 4A und 4B dargestellten Ausführungsbeispiel überein, so dass zur Vermeidung von Wiederholungen auf die vorstehende Beschreibung zu den Figuren 4A und 4B verwiesen wird, wobei für entsprechende Bauteile dieselben Bezugszeichen verwendet werden.

[0055] Eine Besonderheit dieses Ausführungsbeispiels besteht darin, dass das Probenmagazin 13 revolverförmig ist und um eine Drehachse gedreht werden kann, die im Wesentlichen parallel zu den Trägerstromleitungsabschnitten 9, 10 verläuft. Die einzelnen Probenkammern 16 bilden hierbei also in jeweils einer Drehstellung einen koaxialen Bestandteil der Trägerstromleitungsabschnitte 9, 10.

[0056] Die Befüllung der einzelnen Probenkammern 16 ist hier zur Vereinfachung nicht dargestellt, jedoch ist die Befüllung der Probenkammern 16 in einfacher Weise möglich, indem entsprechende Befüllungsleitungen stirnseitig an das revolverförmige Probenmagazin 13 anstoßen.

[0057] Die Erfindung ist nicht auf die vorstehend beschriebenen bevorzugten Ausführungsbeispiele beschränkt. Vielmehr ist eine Vielzahl von Varianten und Abwandlungen möglich, die ebenfalls von dem Erfindungsgedanken Gebrauch machen und deshalb in den Schutzbereich fallen.

Patentansprüche

1. Untersuchungsverfahren, insbesondere für die Massenspektroskopie von Biomolekülen, mit den folgenden Schritten:

- a) Einbringung einer zu untersuchenden Probe (2-4) in eine Trägerflüssigkeit,
- b) Erzeugung eines Mikroflüssigkeitsstrahls (1) aus der Trägerflüssigkeit mit der darin enthaltenen Probe (2-4),
- c) Desorption zumindest eines Teils der Probe (2-4) aus dem Mikroflüssigkeitsstrahl (1),

- d) Untersuchung der aus dem Mikroflüssigkeitsstrahl (1) desorbierten Probe (2-4),
dadurch gekennzeichnet, dass
 e) die Probe (2-4) in dem Mikroflüssigkeitsstrahl (1) in Strahlrichtung räumlich begrenzt ist und sich in Strahlrichtung nur über einen Teilbereich des Mikroflüssigkeitsstrahls (1) erstreckt.
2. Untersuchungsverfahren nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet, dass** mehrere Proben (2-4) in den Mikroflüssigkeitsstrahl (1) eingebracht werden, so dass die einzelnen Proben (2-4) in dem Mikroflüssigkeitsstrahl (1) in Strahlrichtung hintereinander angeordnet und räumlich voneinander getrennt sind.
3. Untersuchungsverfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet, dass** die einzelnen Proben (2-4) mittels mindestens eines steuerbaren Ventils in die Trägerflüssigkeit injiziert werden.
4. Untersuchungsverfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet, dass** die einzelnen Proben (2-4) unterschiedliche Probensubstanzen enthalten.
5. Untersuchungsverfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet, dass**
- a) die einzelnen Proben (2-4) mit einer bestimmten Desorptions-Periodendauer jeweils einzeln periodisch aus dem Mikroflüssigkeitsstrahl (1) desorbiert werden,
 b) sich die einzelnen Proben (2-4) in dem Mikroflüssigkeitsstrahl (1) in Strahlrichtung jeweils über eine bestimmte Probenlänge (L) erstrecken,
 c) der Mikroflüssigkeitsstrahl (1) eine bestimmte Strahlgeschwindigkeit (v) aufweist,
 d) das Produkt aus der Strahlgeschwindigkeit (v) und der Desorptions-Periodendauer (Δt) entweder kleiner oder größer ist als die Probenlänge (L).
6. Untersuchungsverfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet, dass** die periodische Desorption der einzelnen Proben (2-4) unter Berücksichtigung der Probenlänge (L) mit der Strahlgeschwindigkeit (v) synchronisiert wird.
7. Untersuchungsverfahren nach Anspruch 6, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Synchronisation aktiv oder passiv erfolgt.
8. Untersuchungsverfahren nach Anspruch 7, **gekennzeichnet durch** folgende Schritte:
- Erfassung der einzelnen Proben (2-4) **durch** eine Lichtschranke,
 - Synchronisation der Desorption in Abhängigkeit von der Erfassung **durch** die Lichtschranke (6, 7).
9. Untersuchungssystem, insbesondere zur massenspektroskopischen Untersuchung von Biomolekülen, mit
- a) einer Mikrodüse zur Erzeugung eines Mikroflüssigkeitsstrahls (1), wobei der Mikroflüssigkeitsstrahl (1) eine Trägerflüssigkeit und mindestens eine zu untersuchende Probe (2-4) enthält,
 b) einer Desorptionseinrichtung (5) zur Desorption zumindest eines Teils der Probe (2-4) aus dem Mikroflüssigkeitsstrahl (1) und
 c) einer Untersuchungseinrichtung zur Untersuchung der desorbierten Probe (2-4),
gekennzeichnet durch
 d) eine Injektionseinrichtung (9-16), welche die Probe (2-4) in die Trägerflüssigkeit des Mikroflüssigkeitsstrahls (1) örtlich begrenzt injiziert, so dass sich die Probe (2-4) in dem Mikroflüssigkeitsstrahl (1) in Strahlrichtung nur über einen Teilbereich des Mikroflüssigkeitsstrahls (1) erstreckt.
10. Untersuchungssystem nach Anspruch 9, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Injektionseinrichtung (9-16) mehrere Proben (2-4) räumlich voneinander getrennt und in Strahlrichtung hintereinander liegend in die Trägerflüssigkeit injiziert.
11. Untersuchungssystem nach einem der Ansprüche 9 bis 10, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Injektionseinrichtung (9-16) mindestens ein steuerbares Ventil aufweist.
12. Untersuchungssystem nach einem der Ansprüche 9 bis 11, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Injektionseinrichtung (9-16) stromaufwärts vor der Mikrodüse angeordnet ist.
13. Untersuchungssystem nach einem der Ansprüche 9 bis 12,
dadurch gekennzeichnet, dass
- a) in die Mikrodüse eine Trägerstromleitung (9, 10) mündet,
 b) die Injektionseinrichtung (9-16) ein Probenmagazin (13) mit mehreren Probenkammern (11, 12, 16) aufweist,
 c) die Probenkammern (11, 12, 16) des Probenmagazins mit den einzelnen Proben (2-4) be-

- schickbar sind, und
 d) das Probenmagazin (13) so in die Trägerstromleitung (9, 10) einführbar ist, dass die Trägerstromleitung (9, 10) durch eine der Probenkammern (11, 12, 16) führt. 5
14. Untersuchungssystem nach Anspruch 13, **dadurch gekennzeichnet, dass** das Probenmagazin (13) drehbar ist. 10
15. Untersuchungssystem nach Anspruch 14, **dadurch gekennzeichnet, dass** das Probenmagazin (13) revolverförmig ist und eine Drehachse aufweist, die parallel zu der Trägerstromleitung (9, 10) verläuft. 15
16. Untersuchungssystem nach einem der Ansprüche 9 bis 15, **dadurch gekennzeichnet, dass**
- a) die Desorptionseinrichtung (5) die Proben (2-4) periodisch mit einer bestimmten Desorptions-Periodendauer aus dem Mikroflüssigkeitsstrahl (1) desorbiert, 20
 - b) sich die einzelnen Proben (2-4) in dem Mikroflüssigkeitsstrahl (1) in Strahlrichtung über eine bestimmte Probenlänge (L) erstrecken, 25
 - c) der Mikroflüssigkeitsstrahl (1) eine bestimmte Strahlgeschwindigkeit (v) aufweist,
 - d) das Produkt aus der Strahlgeschwindigkeit (v) und der Desorptions-Periodendauer entweder kleiner oder größer ist als die Probenlänge (L). 30
17. Untersuchungssystem nach einem der Ansprüche 9 bis 16, **gekennzeichnet durch** eine Synchronisationseinrichtung zur Synchronisation der Desorptionseinrichtung (5) entsprechend der Strahlgeschwindigkeit (v) und dem Abstand zwischen den aufeinander folgenden Proben (2-4). 35
- 40
18. Untersuchungssystem nach Anspruch 17, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Synchronisationseinrichtung eine Lichtschranke aufweist, welche die Proben (2-4) in dem Mikroflüssigkeitsstrahl (1) erfasst. 45
19. Mikroflüssigkeitsstrahl (1), insbesondere zur massenspektroskopischen Untersuchung von Biomolekülen, mit einer Trägerflüssigkeit und mindestens einer in die Trägerflüssigkeit eingebrachten Probe (2-4), **dadurch gekennzeichnet, dass** die Probe (2-4) in dem Mikroflüssigkeitsstrahl (1) in Strahlrichtung räumlich begrenzt ist und sich in Strahlrichtung nur über einen Teilbereich des Mikroflüssigkeitsstrahls (1) erstreckt. 50
- 55
20. Mikroflüssigkeitsstrahl (1) nach Anspruch 19, **dadurch gekennzeichnet, dass** sich in dem Mikro-

flüssigkeitsstrahl (1) in Strahlrichtung hintereinander mehrere Proben (2-4) befinden, die räumlich voneinander getrennt sind.

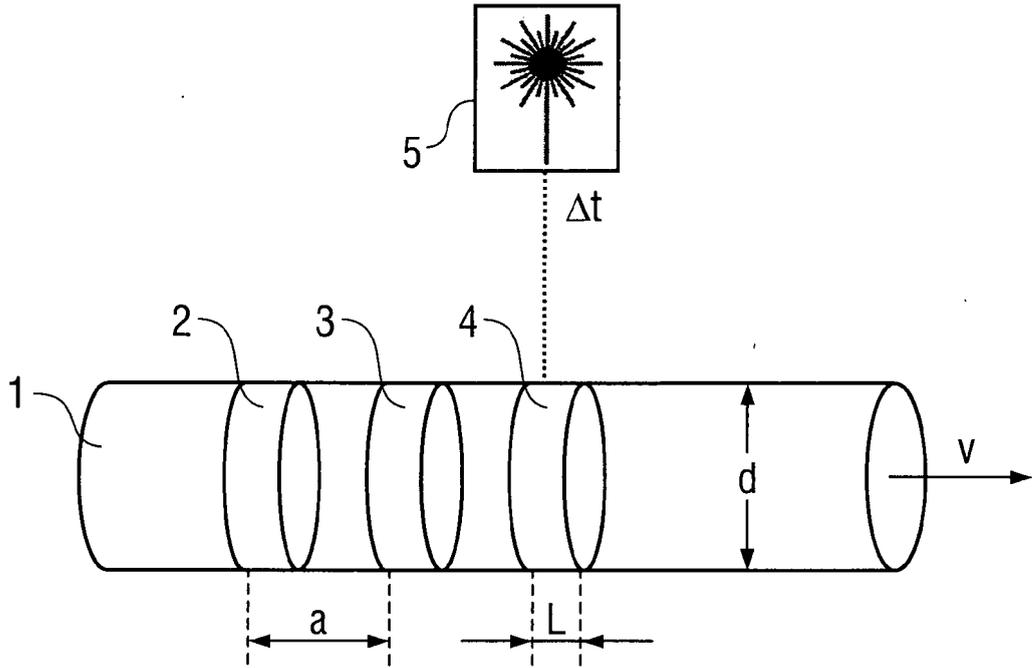


FIG 1

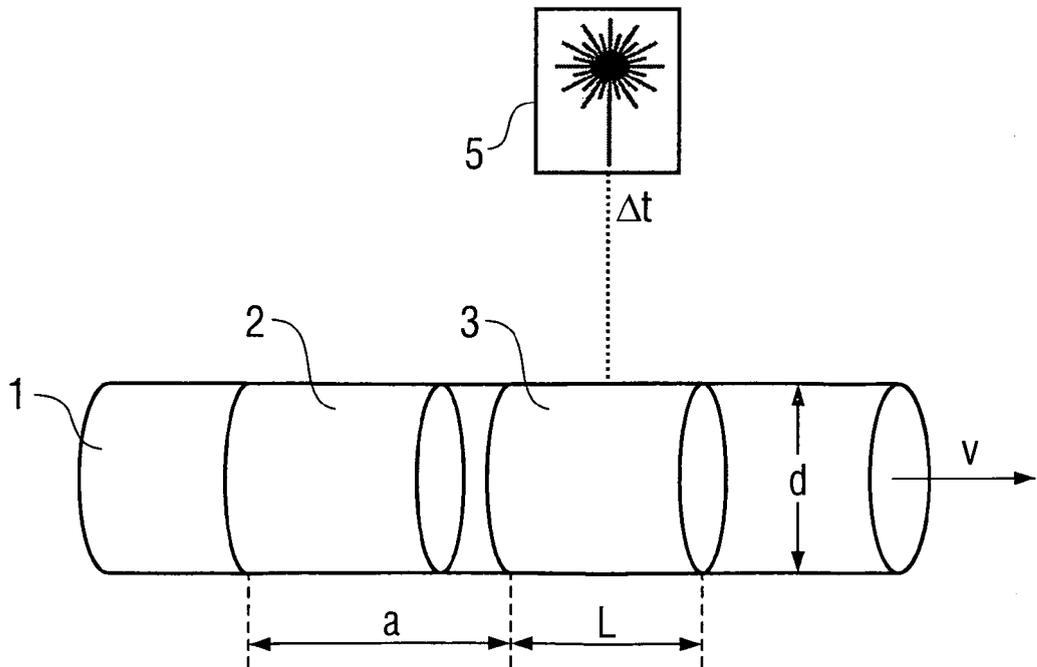


FIG 2

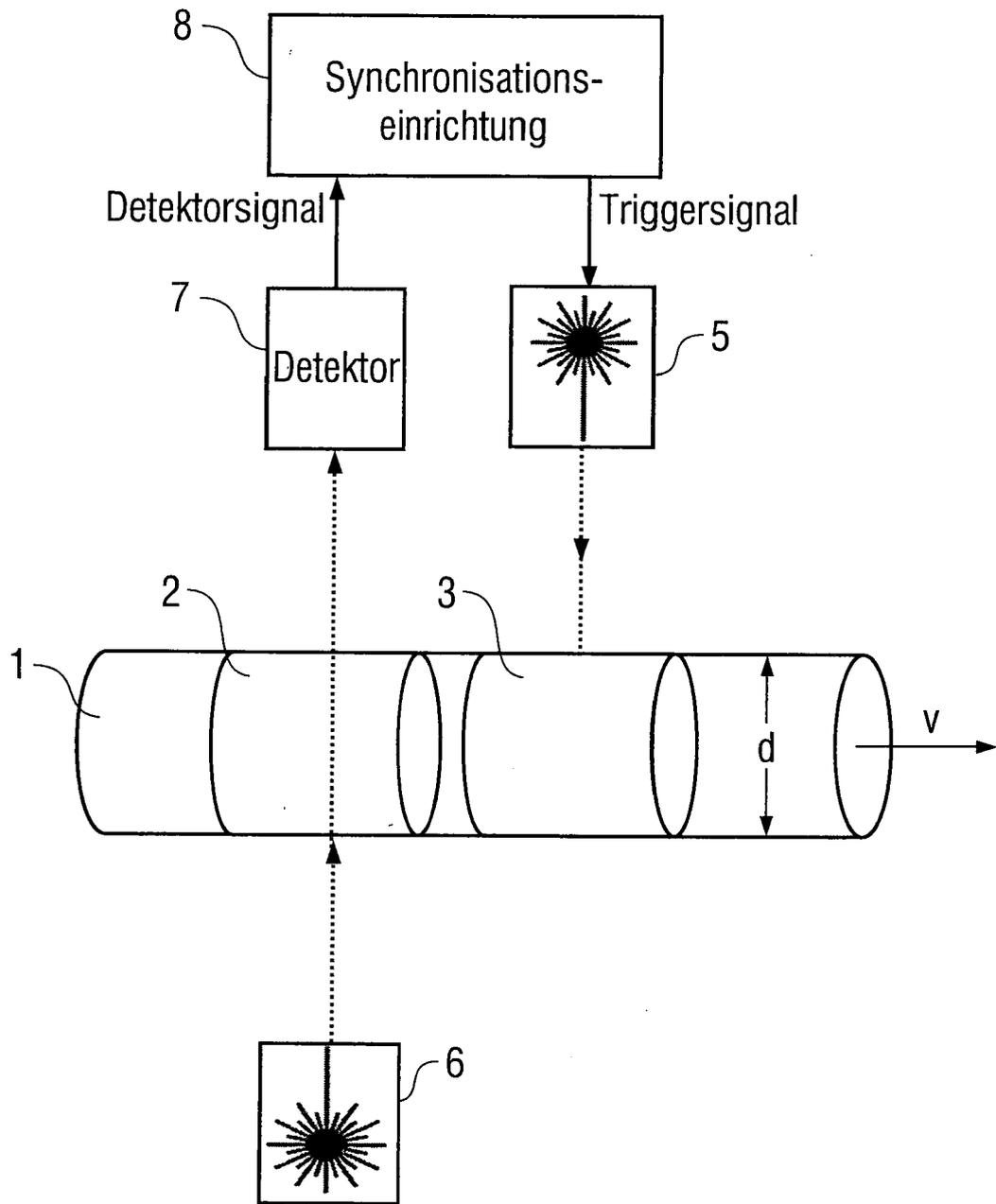


FIG 3

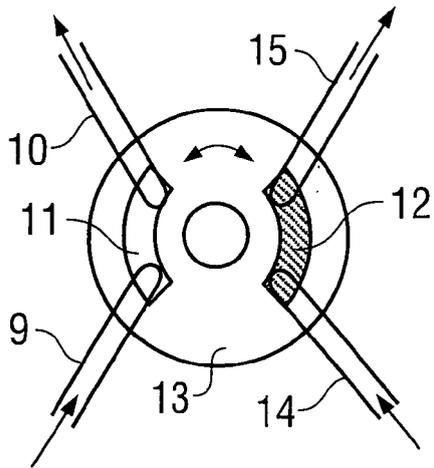


FIG 4A

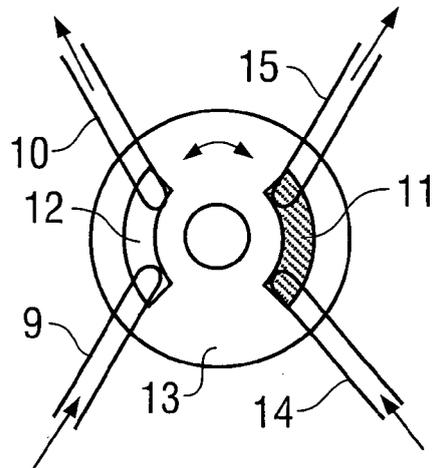


FIG 4B

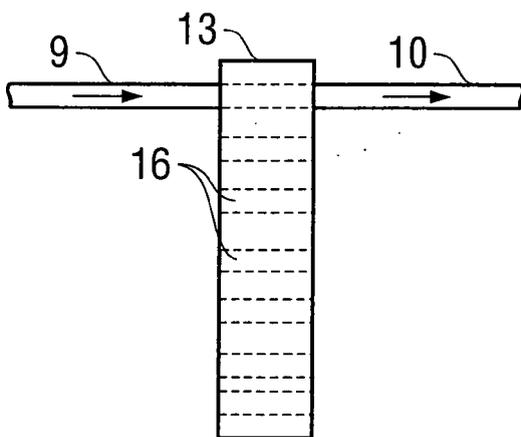


FIG 5A

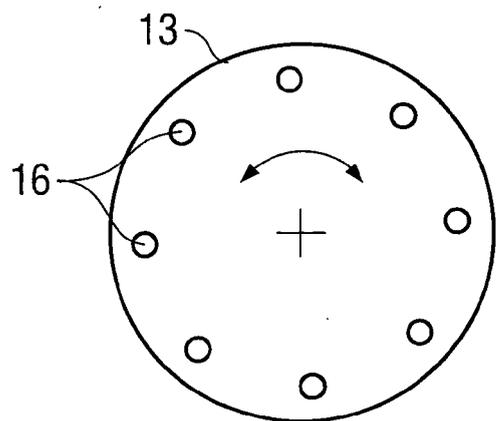


FIG 5B



EINSCHLÄGIGE DOKUMENTE			
Kategorie	Kennzeichnung des Dokuments mit Angabe, soweit erforderlich, der maßgeblichen Teile	Betrifft Anspruch	KLASSIFIKATION DER ANMELDUNG (Int.Cl.7)
D,Y	CHARVAT, A., LUGOVOJ, E., FAUBEL, M., ABEL, B.: "New design for a time-of-flight mass spectrometer with a liquid beam laser desorption ion source for the analysis of biomolecules" REVIEW OF SCIENTIFIC INSTRUMENTS, Bd. 75, Nr. 5, Mai 2004 (2004-05), Seiten 1209-1218, XP002321678 * Seite 1210, Absatz 2 - Seite 1213, Absatz 2 * * Abbildung 1 *	1-12, 16-20	H01J49/04
Y	----- US 6 147 344 A (ANNIS ET AL) 14. November 2000 (2000-11-14) * Spalte 2, Zeile 50 - Spalte 3, Zeile 48 * * Spalte 6, Zeilen 27-53 *	1-12, 16-20	
A	----- US 2004/222373 A1 (OSER HARALD ET AL) 11. November 2004 (2004-11-11) * das ganze Dokument *	1-5,9-12	
A	----- US 4 403 147 A (MELERA ET AL) 6. September 1983 (1983-09-06) * das ganze Dokument *	1-5,9-12	H01J G01N
A	----- US 2002/072126 A1 (CHERVET JEAN-PIERRE ET AL) 13. Juni 2002 (2002-06-13) * das ganze Dokument *	1-20	
Der vorliegende Recherchenbericht wurde für alle Patentansprüche erstellt			
6	Recherchenort Den Haag	Abschlußdatum der Recherche 22. März 2005	Prüfer Peters, V
KATEGORIE DER GENANNTEN DOKUMENTE X : von besonderer Bedeutung allein betrachtet Y : von besonderer Bedeutung in Verbindung mit einer anderen Veröffentlichung derselben Kategorie A : technologischer Hintergrund O : mündliche Offenbarung P : Zwischenliteratur		T : der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundsätze E : älteres Patentdokument, das jedoch erst am oder nach dem Anmeldedatum veröffentlicht worden ist D : in der Anmeldung angeführtes Dokument L : aus anderen Gründen angeführtes Dokument & : Mitglied der gleichen Patentfamilie, übereinstimmendes Dokument	

**ANHANG ZUM EUROPÄISCHEN RECHERCHENBERICHT
 ÜBER DIE EUROPÄISCHE PATENTANMELDUNG NR.**

EP 04 03 0063

In diesem Anhang sind die Mitglieder der Patentfamilien der im obengenannten europäischen Recherchenbericht angeführten Patentdokumente angegeben.

Die Angaben über die Familienmitglieder entsprechen dem Stand der Datei des Europäischen Patentamts am
 Diese Angaben dienen nur zur Unterrichtung und erfolgen ohne Gewähr.

22-03-2005

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
US 6147344 A	14-11-2000	AU 6429199 A	01-05-2000
		CA 2346959 A1	20-04-2000
		EP 1138056 A1	04-10-2001
		JP 2002527756 T	27-08-2002
		WO 0022649 A1	20-04-2000
		US 6581013 B1	17-06-2003
-----	-----	-----	-----
US 2004222373 A1	11-11-2004	WO 2004097891 A2	11-11-2004
-----	-----	-----	-----
US 4403147 A	06-09-1983	DE 3013620 A1	04-12-1980
		FR 2457562 A1	19-12-1980
		GB 2050686 A	07-01-1981
		JP 55156859 A	06-12-1980
-----	-----	-----	-----
US 2002072126 A1	13-06-2002	AU 9498601 A	15-04-2002
		CA 2424571 A1	11-04-2002
		EP 1325322 A2	09-07-2003
		JP 2004510979 T	08-04-2004
		WO 0229399 A2	11-04-2002
-----	-----	-----	-----

EPO FORM P0461

Für nähere Einzelheiten zu diesem Anhang : siehe Amtsblatt des Europäischen Patentamts, Nr.12/82