

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

試料上の 2 次元領域内に設定された複数の微小領域に対しそれぞれイオン化プローブを照射して質量分析を実行するイメージング質量分析装置であって、

a) 試料上に、関心領域、及び、該関心領域内に離散的に位置する複数の微小領域を定める関心領域設定部と、

b) 前記関心領域と一部が重なる一つ以上の測定領域、並びに、該測定領域内に離散的に位置し、前記関心領域内の複数の微小領域及び他の測定領域内の複数の微小領域と完全には重ならないように位置する複数の微小領域、を定める測定領域設定部と、

c) 前記関心領域と一つ以上の前記測定領域それぞれに対し、又は、複数の前記測定領域それぞれに対し、質量分析を実行する際の分析条件を含む測定メソッドを設定する測定メソッド設定部と、

d) 前記関心領域と一つ以上の前記測定領域にそれぞれ含まれる複数の微小領域、又は、複数の前記測定領域にそれぞれ含まれる複数の微小領域、に対する質量分析を、前記測定メソッド設定部において前記関心領域及び前記測定領域に設定された測定メソッドに従って実行する分析実行部と、

を備えることを特徴とするイメージング質量分析装置。

【請求項 2】

請求項 1 に記載のイメージング質量分析装置であって、

前記測定メソッド設定部は、測定メソッドに含まれる少なくとも一つの分析条件であるパラメータ値を変更する条件に従って、該パラメータ値が相違する複数の測定メソッドを作成し、その複数の測定メソッドを、前記関心領域と一つ以上の前記測定領域それぞれに対し、又は、複数の前記測定領域それぞれに対し設定することを特徴とするイメージング質量分析装置。

【請求項 3】

請求項 2 に記載のイメージング質量分析装置であって、

異なる複数の測定メソッドの下でそれぞれ異なる測定領域に含まれる微小領域に対する質量分析により得られた質量分析結果に基づいて、その複数の測定メソッドの中で最適である測定メソッドを決定する最適測定メソッド決定部をさらに備えることを特徴とするイメージング質量分析装置。

【請求項 4】

請求項 2 又は 3 に記載のイメージング質量分析装置であって、

測定メソッドに含まれる少なくとも一つの分析条件であるパラメータ値を変更する条件をユーザが指定するための測定メソッド条件設定部をさらに備えることを特徴とするイメージング質量分析装置。

【請求項 5】

請求項 1 に記載のイメージング質量分析装置であって、

前記関心領域に含まれる微小領域に対する MS^{n-1} 分析（ただし n は 2 以上の整数）により得られた MS^{n-1} 分析結果に基づいて、 MS^n 分析のためのプリカーサイオンを選択するプリカーサイオン選択部をさらに備え、

前記測定メソッド設定部は、一つ以上の測定領域に対し、前記プリカーサイオン選択部で選択された一又は複数のプリカーサイオンをターゲットとする MS^n 分析を実行するための分析条件を含む測定メソッドをそれぞれ設定し、

前記分析実行部は、一つ以上の前記測定領域にそれぞれ含まれる複数の微小領域に対する質量分析として MS^n 分析を該測定領域にそれぞれ設定された測定メソッドに従って実行することを特徴とするイメージング質量分析装置。

【請求項 6】

請求項 1 ~ 5 のいずれか 1 項に記載のイメージング質量分析装置であって、

試料の光学画像を取得する撮像部と、

前記関心領域又は前記測定領域に含まれる微小領域に対する質量分析により得られた質

10

20

30

40

50

量分析結果に基づいて作成される質量分析イメージング画像と、前記撮像部より得られる関心領域又は測定領域に対する光学画像と、を重ね合わせて表示する画像重合せ処理部と

をさらに備えることを特徴とするイメージング質量分析装置。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、試料上の2次元領域内の多数の測定点（微小領域）に対しそれぞれ質量分析を行い、それにより得られた情報に基づいて上記2次元領域における物質の分布等を反映した画像を作成するイメージング質量分析装置に関する。

10

【背景技術】

【0002】

質量分析イメージング法は、生体組織切片などの試料の2次元領域内の複数の測定点に対しそれぞれ質量分析を行うことにより、特定の質量を有する物質の分布を調べる手法であり、創薬やバイオマーカー探索、各種疾病・疾患の原因究明などへの応用が進められている。質量分析イメージング法を実施するための質量分析装置は一般にイメージング質量分析装置と呼ばれている（非特許文献1、特許文献1など参照）。また、通常、試料上の任意の2次元領域について光学顕微鏡による観察を行い、その光学画像に基づいて測定対象領域を定めて該領域に対するイメージング質量分析を実行することから顕微質量分析装置や質量顕微鏡などと呼ばれることもあるが、本明細書では「イメージング質量分析装置」と呼ぶこととする。

20

【0003】

イメージング質量分析装置では一般に、試料台にセットされた試料に対し細径に絞ったレーザ光、電子線やイオン線、中性原子線等の粒子線、帯電液滴を含むガス流、或いはプラズマガス流などを照射することで、該試料に含まれる物質をイオン化するイオン化法が利用される。試料に照射される細径のレーザ光や粒子線等はしばしばプローブ又はイオン化プローブと総称されるので、ここではイオン化プローブということとする。一般に、このようなイオン化法では試料に対する1回のパルス的なイオン化プローブの照射によって生成されるイオンの量は少ない。そのため、検出対象であるイオンの信号強度を増加させるために、試料上の或る一つの測定点に対してイオン化プローブを照射してマススペクトルデータを取得するという測定を複数回繰り返し、得られた複数のマススペクトルデータを積算することによってその測定点に対するマススペクトルを得るのが一般的である。

30

【0004】

上記のようなイオン化法は、イオン化プローブの種類によってイオン化のメカニズムは異なるものの、試料中の目的成分を脱離させてイオン化を行うため基本的に破壊分析である。そのため、同じ測定点に対してイオン化プローブの照射つまりは測定を繰り返すと、その測定点における試料中の目的成分が徐々に減少していき、マススペクトルの品質が低下する。特にマトリクス支援レーザ脱離イオン化（MALDI）法の場合には、レーザ光を試料に照射することによって試料中の目的成分が消耗するのみならず、イオン化を補助するために試料に添加されているマトリクスも消耗するため、同一測定点に対する測定の繰り返しの際のマススペクトルの品質低下が顕著である。こうしたことから、通常、同じ測定点に対する測定の繰り返し回数（イオン化プローブの照射総回数）やイオン化プローブの総照射時間の上限が、得られるマススペクトルの品質低下が許容範囲に収まるように予め定められており、この上限を超えないように測定点当たりのイオン化プローブの照射回数や照射時間といった分析条件が設定されるようになっている。

40

【0005】

ところで、一般に質量分析装置では、特に成分の種類や量が未知である試料を測定する場合、できるだけ高い信号強度が得られるように、予備的な測定によって、イオン化条件（例えばMALDI法ではレーザ光パワー、レーザ光パルス照射回数等）やイオン輸送光学系への印加電圧等などのMS分析条件、例えば衝突誘起解離の際のコリジョンエネルギー

50

一、コリジョンガス圧などを含むMSⁿ分析条件などの各種パラメータ値を最適値にチューニングする必要がある。こうした、いわゆる測定メソッドのチューニングはイメージング質量分析装置でも重要である。

【0006】

イメージング質量分析装置では、通常、試料上の測定位置によって含まれる成分が異なり、観測したい試料上の関心領域 (ROI = Region of Interest) はユーザ毎に相違する。そのため、ユーザが観測したい試料上の関心領域においてイオン化条件等のパラメータ値を変更しながら予備測定を実施することで、測定メソッドのチューニングを行うことが本来望ましい。しかしながら、測定メソッドを適切にチューニングするには多数回測定を繰り返す必要があるものの、上述したように、測定を繰り返すに従い試料成分やマトリクスが消耗してしまう。そのため、試料上の関心領域とは異なる別の領域に対し予備測定を行い、その結果に基づいて測定メソッドのチューニングを行うのが一般的であるが、そうすると検出している成分が関心領域と同じであるとは限らないため正確なチューニングが難しいという問題がある。

10

【0007】

これに対し、関心領域において測定点毎の測定回数の総数の上限値を超えないように、それぞれパラメータ値の相違する測定メソッドに測定回数を割り当て、関心領域内の各測定点に対し複数の測定メソッドでの測定を行う手法も考えられる。即ち、これは、一つの測定点当たりの測定回数の総数の上限値がNであって、測定メソッドの数がpである場合に、一つの測定点に対し一つの測定メソッド当たりN/p以下の回数の測定を実行するという手法である。しかしながら、こうした手法では一つの測定メソッド当たりの測定回数が少ないため、得られる信号強度が低くなりがちで、異なる測定メソッドの下でのマススペクトルの正確な比較が難しい。特にMALDI法等では測定毎の信号強度のばらつきが比較的大きいため、一つの測定メソッド当たりの測定回数が少ないと測定毎の信号強度のばらつきの影響が現れ易く、測定メソッドのチューニングの的確性が低下することになる。また、一つの測定点に対する測定回数の総数の上限値が決まっているため、設定できる測定メソッドの数自体にも制約が生じ、一つの分析条件のパラメータ値を細かく変更することは難しいという問題もある。

20

【0008】

また、測定メソッドのチューニングを行う場合以外にも、関心領域内の各測定点に対し複数の測定メソッドでの測定を行いたい場合がある。これは例えば、質量電荷比範囲の相違する複数の質量分析、通常の質量分析とMSⁿ分析、或いは、プリカーサイオンの質量電荷比値の異なる複数のMSⁿ分析などを関心領域内の各測定点に対し行うことで、一つの関心領域からより多くの質量分析情報を収集したりそれぞれの結果を比較したりしたいといった場合である。こうした場合にも、測定メソッドのチューニング時と同様に、関心領域において測定点毎の測定回数の総数の上限値を超えないように、それぞれ分析条件等の相違する複数の測定メソッドに測定回数を割り当てる手法を採り得るが、上述したように一つの測定メソッド当たりの測定回数が少ないため、得られる信号強度が低くなりがちで、正確な質量分析情報が得にくいという問題がある。

30

【先行技術文献】

40

【特許文献】

【0009】

【特許文献1】国際公開第2014/175211号

【非特許文献】

【0010】

【非特許文献1】「iMScope TRIO イメージング質量顕微鏡」、[online]、株式会社島津製作所、[平成28年8月8日検索]、インターネット<URL:http://www.an.shimadzu.co.jp/bio/imscope/msn.htm>

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

50

【 0 0 1 1 】

本発明は上記課題に鑑みて成されたものであり、その主たる目的は、ユーザが観測したい試料上の関心領域の近傍において十分な信号強度が得られるような測定回数で以てそれぞれ異なる測定メソッドでの測定を実行し、その異なる測定メソッドの下での高品質の質量分析イメージング画像を得ることができるイメージング質量分析装置を提供することにある。

【課題を解決するための手段】

【 0 0 1 2 】

上記課題を解決するためになされた本発明は、試料上の2次元領域内に設定された複数の微小領域に対しそれぞれイオン化プローブを照射して質量分析を実行するイメージング質量分析装置であって、

a) 試料上に、関心領域、及び、該関心領域内に離散的に位置する複数の微小領域を定める関心領域設定部と、

b) 前記関心領域と一部が重なる一つ以上の測定領域、並びに、該測定領域内に離散的に位置し、前記関心領域内の複数の微小領域及び他の測定領域内の複数の微小領域と完全には重ならないように位置する複数の微小領域、を定める測定領域設定部と、

c) 前記関心領域と一つ以上の前記測定領域それぞれに対し、又は、複数の前記測定領域それぞれに対し、質量分析を実行する際の分析条件を含む測定メソッドを設定する測定メソッド設定部と、

d) 前記関心領域と一つ以上の前記測定領域にそれぞれ含まれる複数の微小領域、又は、複数の前記測定領域にそれぞれ含まれる複数の微小領域、に対する質量分析を、前記測定メソッド設定部において前記関心領域及び前記測定領域に設定された測定メソッドに従って実行する分析実行部と、

を備えることを特徴としている。

【 0 0 1 3 】

本発明に係るイメージング質量分析装置において、上記イオン化プローブは例えば、細径に絞られたレーザ光、電子線やイオン線、中性原子線等の粒子線、帯電液滴を含むガス流、又はプラズマガス流などである。イオン化プローブとしてレーザ光が利用される場合、イオン化法は、上述したMALDI法のほか、マトリクスを使用しないレーザ脱離イオン化(LDI)法、表面支援レーザ脱離イオン化(SALDI)法などである。

【 0 0 1 4 】

本発明に係るイメージング質量分析装置において、例えばユーザが試料上で成分の空間分布などを観測したい関心領域を指定するとともに、空間分解能や一つの微小領域(測定点)のサイズ、つまりはイオン化プローブの照射径などを指定すると、関心領域設定部はこれらの指定に従って、複数の微小領域が離散的に位置する関心領域を試料上に定める。試料の光学画像を取得可能なイメージング質量分析装置においては、ユーザは、表示された光学画像を参照して関心領域を指定することができる。また、予め決められた条件に従った画像認識等により、自動的に関心領域が指定されるようにしてもよい。

【 0 0 1 5 】

例えば、関心領域及び空間分解能や質量分析イメージング画像の画素数などが指定されると、関心領域内を格子状に区切った、それぞれが質量分析イメージング画像の画素に対応する矩形の小領域の大きさと位置が決まる。そこで、この各小領域の中心位置に、ユーザによって指定された大きさの微小領域と微小領域として定めればよい。なお、空間分解能や微小領域の大きさなどのパラメータはユーザによる指定でなく、装置に予め決められたデフォルト値でもよい。

【 0 0 1 6 】

関心領域及び該領域内の微小領域が定まると、測定領域設定部は、関心領域内の複数の微小領域と完全には重ならない位置、つまりは全く重ならないか又は一部が重なるものの完全には一致しない位置に、関心領域内の微小領域にそれぞれ対応する別の微小領域を定めるとともに、その複数の別の微小領域を含む、関心領域と一部が重なる測定領域を定め

10

20

30

40

50

る。関心領域内の微小領域とこれに対応する測定領域内の微小領域との位置のずれの大きさや方向は、ユーザが設定できるようにしてもよいし、例えば関心領域内の各微小領域の大きさや隣接間隔等に応じて自動的に決定されるようにしてもよい。いずれにしても、関心領域を適宜ずらした位置に測定領域が設定されることになる。なお、測定領域は必要に応じて二つ以上設定することができる。その場合、或る測定領域内の各微小領域と他の測定領域内の各微小領域も完全には重ならないようにする。

【0017】

測定メソッド設定部は、関心領域と一つ以上の測定領域それぞれに対し、又は複数の測定領域それぞれに対し、質量分析を実行する際の分析条件を含む測定メソッドを個別に設定する。ここで、分析条件は質量分析を実行する際に定めておくべき様々なパラメータ値を含むようにすることができ、例えばMALDI法によるイオン源を搭載している場合には、試料に照射するレーザー光のパワー、レーザー光パルス照射回数などを測定メソッドに含めることができる。また、イオン輸送光学系などの質量分析装置の各部に印加する電圧の値（交流電圧の場合には振幅値）、交流電圧を印加する場合にはその周波数、前段のイオン輸送光学系と次段のイオン輸送光学系とにそれぞれ印加する電圧を切り替えることで前段のイオン輸送光学系から次段のイオン輸送光学系にイオンが受け渡される場合には、その電圧切替えのタイミング（時間差など）も測定メソッドに含めることができる。さらに、質量分析としてMSⁿ分析を行う場合には、プリカーサイオンの質量電荷比值、衝突誘起解離の際のコリジョンエネルギー、コリジョンガス圧、などのMSⁿ分析条件も測定メソッドに含めることができる。なお、測定メソッドは関心領域や測定領域に対して個別に設定されるものの、その測定メソッドの内容は問わないから内容が全く同じでも構わない。

10

20

【0018】

分析実行部は、関心領域や一つ以上の測定領域にそれぞれ含まれる複数の微小領域に対する質量分析を、その領域に個別に設定されている測定メソッドに従って実行することにより、微小領域毎にマススペクトルデータを取得する。なお、上述したように、一つの微小領域に対して1回又は複数回イオン化プローブを照射する毎に得られたマススペクトルデータを積算することで、一つの微小領域に対するマススペクトルデータを得ることができる。

【0019】

通常、測定領域は試料上でイオン化プローブの照射径のたかだか数倍程度、関心領域からずれて設定されるだけである。そのため、試料にも依るが、多くの場合、測定領域内の成分の空間分布は関心領域内の成分の空間分布とほぼ同じであるとみなすことができる。一方、測定領域内の各微小領域と関心領域内の各微小領域とは完全には重なっていないので、関心領域内の各微小領域に対する質量分析が実行されたあとに、測定領域内の各微小領域に対する質量分析が実行される場合でも、イオン化プローブが照射される範囲内に試料中の目的成分（MALDI法の場合にはマトリクスも）が未だ残っている可能性が高く、十分な信号強度のマススペクトルデータを得ることができる。そのため、関心領域と一つ以上の測定領域にそれぞれ設定されている測定メソッド、或いは、複数の測定領域にそれぞれ設定されている測定メソッドのパラメータ値を異なるものとしておく、つまりは異なる内容の測定メソッドを設定しておくことで、一つの関心領域に対して測定メソッドを変えて質量分析を実行したのと実質的に同じマススペクトルデータを、それぞれ高い品質で取得することができる。

30

40

【0020】

これにより、関心領域に対する異なる測定メソッドの下での特定の質量電荷比の質量分析イメージング画像の比較を高い精度で行ったり、互いに異なる測定メソッドの下でないと十分な強度で検出できないような複数の成分についての分布情報を併せて取得したりすることができる。

【0021】

測定メソッドに含まれる分析条件であるパラメータ値はユーザが個別に入力しても構わ

50

ないが、測定メソッドのチューニングを行いたい場合には、最適化したいパラメータ値が相違する測定メソッドの作成に要するユーザの手間をできるだけ減らすことが望ましい。

【0022】

そこで、本発明に係るイメージング質量分析装置において、好ましくは、

前記測定メソッド設定部は、測定メソッドに含まれる少なくとも一つの分析条件であるパラメータ値を変更する条件に従って、該パラメータ値が相違する複数の測定メソッドを作成し、その複数の測定メソッドを、前記関心領域と一つ以上の前記測定領域それぞれに対し、又は、複数の前記測定領域それぞれに対し設定する構成とするとよい。

【0023】

ここで、一つの分析条件であるパラメータ値を変更する条件とは、例えばそのパラメータ値を変更させる範囲（上限値及び下限値）とその変更のステップ幅である。もちろん、パラメータ値を一定のステップ幅で変化させるのではなく、例えば値自体が大きくなるに従いステップ幅も大きくするといった変化のさせ方も考えられる。

この構成によれば、最適化したいパラメータ値の変更条件を指定しておきさえすれば、そのパラメータ値がそれぞれ相違する複数の測定メソッドが自動的に作成されるので、測定メソッドをユーザがいちいち手動で作成する手間が不要になり、ユーザの手間や時間を節約し分析の効率改善を図ることができる。

【0024】

また、上記構成のイメージング質量分析装置では、異なる複数の測定メソッドの下でそれぞれ異なる測定領域に含まれる微小領域に対する質量分析により得られた質量分析結果に基づいて、その複数の測定メソッドの中で最適である測定メソッドを決定する最適測定メソッド決定部をさらに備える構成とするとよい。

【0025】

最適測定メソッドを決定するために様々なアルゴリズムが考えられるが、例えば、関心領域や測定領域それぞれにおいて、全ての微小領域におけるTIC値を加算した総TIC値を求め、これが最も大きい関心領域又は測定領域に設定されている測定メソッドを最適な測定メソッドとする方法を用いることができる。また、関心領域内や測定領域内の全ての微小領域におけるデータを用いるのではなく、特定の一部の微小領域におけるデータのみを利用して最適な測定メソッドを決定してもよい。また、TIC値ではなく特定の質量電荷比值や質量電荷比範囲における信号強度値を利用して最適な測定メソッドを決定してもよい。

【0026】

上述したように、多くの場合、測定領域内の成分の空間分布は関心領域内の成分の空間分布とほぼ同じであるとみなすことができるうえに、いずれの測定領域の微小領域においても、それ以前の分析の実行による試料成分やマトリクスの消耗の影響をあまり受けることなく十分な信号強度のマススペクトルデータを得ることができる。それによって、異なる測定領域における質量分析結果の比較が良好に行え、最適な測定メソッドを的確に選択することができる。

【0027】

なお、上記構成のイメージング質量分析装置では、測定メソッドに含まれる少なくとも一つの分析条件であるパラメータ値を変更する条件をユーザが指定するための測定メソッド条件設定部をさらに備える構成とすることができる。

【0028】

この構成によれば、試料の種類、分析の目的、或いは、要求される分析の正確性・信頼性などによって、ユーザは適宜にパラメータ値の変更条件を指定することができる。それによって、測定メソッドのチューニングが粗くても構わないので分析時間を短くしたい場合や、逆に、分析時間が長くなっても測定メソッドのチューニングの精度を高めたい場合など、目的や状況に応じた適切な測定メソッドのチューニングが可能となる。

【0029】

また、本発明に係るイメージング質量分析装置では、

10

20

30

40

50

前記関心領域に含まれる微小領域に対する MS^{n-1} 分析(ただし n は2以上の整数)により得られた MS^{n-1} 分析結果に基づいて、 MS^n 分析のためのプリカーサイオンを選択するプリカーサイオン選択部をさらに備え、

前記測定メソッド設定部は、一つ以上の測定領域に対し、前記プリカーサイオン選択部で選択された一又は複数のプリカーサイオンをターゲットとする MS^n 分析を実行するための分析条件を含む測定メソッドをそれぞれ設定し、

前記分析実行部は、一つ以上の前記測定領域にそれぞれ含まれる複数の微小領域に対する質量分析として MS^n 分析を該測定領域にそれぞれ設定された測定メソッドに従って実行する構成としてもよい。

【0030】

この構成によれば、異なるプリカーサイオンをターゲットとする MS^n 分析を、成分の空間分布が実質的に関心領域と同じであるとみなせる、それぞれ異なる測定領域に対して実行することができる。したがって、異なるプリカーサイオンから得られる MS^n イメージング画像同士の比較等も精度良くしかも簡便に行うことができる。なお、 MS^n 分析のためのプリカーサイオン選択条件はユーザが指定できるようにしておくことが望ましい。

【0031】

さらにまた、本発明に係るイメージング質量分析装置では、関心領域又は測定領域に含まれる微小領域に対する質量分析により得られた質量分析結果に基づいて質量分析イメージング画像を作成し表示することが可能であるが、さらに、試料の光学画像を取得する撮像部と、前記関心領域又は前記測定領域に含まれる微小領域に対する質量分析により得られた質量分析結果に基づいて作成される質量分析イメージング画像と、前記撮像部より得られる関心領域又は測定領域に対する光学画像と、を重ね合わせて表示する画像重合せ処理部と、を備える構成とするもよい。

【0032】

この構成によれば、試料上で観測される生体組織の形状や模様と成分分布との関係を容易に把握できるようになる。なお、画像重合せ処理部では、測定領域に対する質量分析イメージング画像と同じ測定領域における光学画像を重ね合わせてもよいことはもちろんであるが、関心領域と測定領域との位置のずれは小さいので、測定領域に対する質量分析イメージング画像に関心領域における光学画像を重ね合わせても実質的に問題はない。

【発明の効果】

【0033】

本発明に係るイメージング質量分析装置によれば、ユーザが観測したい試料上の関心領域と、該関心領域とほぼ同じ位置であって且つイオン化プローブが照射される微小領域が関心領域内の微小領域とは完全には重ならないように定めた測定領域とについて、或いは、関心領域とほぼ同じ位置にある複数の測定領域について、それぞれ異なる測定メソッドの下での質量分析を実行することができる。それにより、異なる測定メソッドの下での、関心領域に対する高品質の質量分析イメージング画像をそれぞれ得ることができる。また、異なる測定メソッドの下で得られた良好な質量分析情報を利用して測定メソッドの最適化を的確に行ったり、或いは、自動 MS^n 分析によりプリカーサイオンの相違する高品質の MS^n イメージング画像を取得したりすることもできる。

【図面の簡単な説明】

【0034】

【図1】本発明の一実施例であるイメージング質量分析装置の概略構成図。

【図2】本実施例であるイメージング質量分析装置における関心領域と測定領域との関係の一例の説明図。

【図3】本実施例であるイメージング質量分析装置における関心領域と測定領域との関係の他の例の説明図。

【図4】本実施例のイメージング質量分析装置における複数の測定メソッドの下でのデータ収集時の操作及び処理手順を示すフローチャート。

【図5】本実施例のイメージング質量分析装置における測定メソッドチューニング時の操

10

20

30

40

50

作及び処理手順を示すフローチャート。

【図6】本実施例のイメージング質量分析装置における自動MSⁿ分析実行時の操作及び処理手順を示すフローチャート。

【発明を実施するための形態】

【0035】

以下、本発明に係るイメージング質量分析装置の一実施例について、添付図面を参照して説明する。

図1は本実施例のイメージング質量分析装置の概略構成図である。

【0036】

本実施例のイメージング質量分析装置は、試料S上の2次元領域内の多数の測定点（微小領域）に対してそれぞれ質量分析を実行して測定点毎にマススペクトルデータ（nが2以上のMSⁿスペクトルデータを含む）を取得することが可能である測定部1と、該測定部1により得られたデータを保存して処理するデータ処理部2と、測定部1に含まれる各部の動作を制御する分析制御部3と、システム全体の制御やユーザインターフェイスなどを司る主制御部4と、該主制御部4に付設された入力部5及び表示部6と、を備える。

10

【0037】

測定部1は、MSⁿ分析が可能なMALDIイオン化イオントラップ飛行時間型質量分析装置（MALDI-IT-TOFMS）である。即ち、測定部1は、大気圧雰囲気であるイオン化室10内に配置された互いに直交するX軸、Y軸の二軸方向に移動可能である試料台11と、試料台11が図1中の符号11'で示す位置（以下「光学観察位置」という）にあるときに該試料台11上に載置された試料Sの光学画像を撮影する撮像部12と、試料台11が図1中の実線で示す位置（以下「分析位置」という）にあるときに試料Sに微小径に絞ったレーザ光を照射して該試料S中の成分をイオン化するレーザ照射部13と、試料Sから発生したイオンを収集して真空雰囲気に維持される真空チャンバ14内へと搬送するイオン導入部15と、試料S由来のイオンを収束しつつ案内するイオンガイド16と、高周波四重極電場によってイオンを一時的に捕捉するとともに必要に応じてプリカーサイオンの選択及び該プリカーサイオンの解離（衝突誘起解離=CID）を行うイオントラップ17と、該イオントラップ17から射出されたイオンを質量電荷比に応じて分離する飛行空間を内部に形成するフライトチューブ18と、イオンを検出する検出器19と、を含む。但し、後述するように、測定部1の構成はこれに限るものではなく、様々な変形が可能である。

20

30

【0038】

データ処理部2は、本実施例のイメージング質量分析装置に特徴的な機能ブロックとして、データ格納部21、イメージング画像作成部22、最適測定メソッド選定部23、プリカーサイオン選択部24、画像重合せ処理部25、などを備える。データ格納部21は測定部1で得られた様々なデータを格納するものであって、光学画像データ記憶部、MSデータ記憶部、MSⁿデータ記憶部を有する。主制御部4は、本実施例のイメージング質量分析装置に特徴的な機能ブロックとして、関心領域設定部41、測定領域設定部42、測定メソッド条件設定部43、測定メソッド割当部44、プリカーサイオン選択条件設定部45などの機能ブロックを備える。なお、データ処理部2、主制御部4、及び分析制御部3の少なくとも一部は、CPU、RAM、ROMなどを含むパーソナルコンピュータ（又はより高性能なワークステーション）をハードウェア資源とし、該コンピュータにインストールされた専用の制御・処理ソフトウェアを該コンピュータ上で動作させることにより、それぞれの機能が達成される構成とすることができる。

40

【0039】

本実施例のイメージング質量分析装置では、測定実行時に、レーザ照射部13から出射した微小径のレーザ光を試料台11上に載置された試料Sに照射する。すると、試料Sにおいてレーザ光が当たった部位（測定点）に存在する成分がイオン化する。図示しない駆動部により試料台11をX軸方向、Y軸方向に適宜移動させると、試料S上でレーザ光が

50

照射される位置が変化するため、試料台 11 の移動とパルス状のレーザ光照射とを繰り返すことで、試料 S 上の 2 次元的な領域内の複数の測定点に対する質量分析を実行することができる。

【0040】

本実施例のイメージング質量分析装置では、上記のような一般的な測定も可能であるが、それ以外に、幾つかの特徴的な測定動作が可能である。以下、その測定動作について図 2 ~ 図 6 を参照して説明する。

【0041】

[関心領域に対する複数の測定メソッドの下での測定]

図 4 は、本実施例のイメージング質量分析装置における第 1 の特徴的な測定動作の操作及び処理手順を示すフローチャートである。

10

【0042】

測定対象である試料は MALDI 用サンプルプレート上に置かれ、その試料の表面に適宜のマトリクスが塗布（又は噴霧）されることで試料 S が調製される。測定対象である試料は例えば生体組織切片などである。ユーザ（分析者）は調製済みの試料 S を試料台 11 にセットし、入力部 5 で所定の操作を行う。すると、主制御部 4 からの指示を受けた分析制御部 3 の制御の下で、試料台 11 は光学観察位置に移動され、撮像部 12 は試料 S の光学画像を取得してその画像データをデータ処理部 2 へ送る。この画像データはデータ格納部 21 に格納される。また、その画像データに基づく試料 S の光学画像が主制御部 4 を通じて表示部 6 の画面上に表示される。

20

【0043】

ユーザは表示部 6 に表示された光学画像を参照し、試料 S 上で観測したい関心領域を入力部 5 により指定する（ステップ S1）。例えば光学画像上の任意の範囲を囲む矩形の枠の大きさや位置を変更することで、その枠で囲まれた範囲を関心領域として指定することができる。また、光学画像上でドラッグ操作を行うことで、任意の形状の関心領域を指定することもできる。

【0044】

またユーザは、指定した関心領域内で実際に質量分析が実行される測定点を定めるために、レーザ光照射径、空間分解能（例えば X 軸方向及び Y 軸方向の測定点間隔）又は測定点総数などのパラメータ値を入力部 5 から指定する（ステップ S1）。なお、これらのパラメータ値として予め装置に定められたデフォルト値を用いる場合には、ユーザによる指定を省略することができる。主制御部 4 において関心領域設定部 41 は入力部 5 からの指示に応じて関心領域の範囲を決定するとともに、関心領域内でレーザ光照射を行う複数の測定点の位置を決定する（ステップ S2）。

30

【0045】

図 2 (a) 及び図 3 は関心領域と測定領域との関係の一例の説明図である。いま、関心領域が矩形であり、レーザ光照射径 R 、X 軸方向の測定点間隔 d_x 、及び Y 軸方向の測定点間隔 d_y が指定されている場合、図 2 (a) に示すように、関心領域 100 内の X 軸方向の間隔が d_x 、Y 軸方向の間隔が d_y である位置に、直径が R である測定点 101 を定める。この測定点 101 は、その全体が矩形である関心領域 100 を、X 軸方向の長さが d_x 、Y 軸方向の長さが d_y である矩形に区切ることで得られる各小領域 102 の中心に位置するように設定される。図 2 (a) に示した例では、測定点 101 のサイズは小領域 102 のサイズに比べて小さいが、指定されたレーザ光照射径が大きい場合には、小領域 102 と測定点 101 との関係は例えば図 3 に示すようになる。なお、便宜上、関心領域 100 に対して定められる複数の測定点 101 を第 1 測定点群という。

40

【0046】

またユーザは、関心領域 100 に対して新たに設定する測定領域及びその領域内の測定点の設定条件を入力部 5 から指定する（ステップ S3）。具体的には例えば、関心領域 100 内の各測定点（第 1 測定点群に属する測定点）101 をずらす量やずらす方向などを設定条件として指定するようにしてもよいし、X 軸方向又は Y 軸方向に隣接する測定点 1

50

01の間新たに設定される測定点の数を設定条件として指定するようにしてもよい。ここで、関心領域100内の各測定点101をずらすことができる範囲は、その測定点101が存在する小領域102の範囲に収まるように制約を設けておくとよい。なお、測定領域を定める際に元の(つまりは関心領域100内の)測定点の位置から測定点をずらす量やずらす方向は、関心領域100内の測定点の大きさや間隔に基づいて自動的に決定されるようにしてもよい。その場合には、ユーザによる設定条件の指定を省くことができる。

【0047】

測定領域設定部42はステップS3で指定された設定条件に従って、関心領域内の各測定点と完全には重ならない別の測定点と、それを囲む測定領域200とを決定する(ステップS4)。図2(a)は、関心領域100内の各測定点101をX軸の正方向(右方向)に r だけずらして新たな測定領域200中の測定点201を定める場合の例である。関心領域100に対し測定領域200もX軸の正方向に r だけずれたものとなる。前述のように、関心領域100中の各測定点101をずらすことができる範囲をその測定点101が存在する小領域102の範囲に収めることにより、新たな測定領域200はその大半が関心領域100に重なるように設定される(図2(b)参照)。

10

【0048】

図2(a)の例の場合、関心領域100中の測定点101と測定領域200中の測定点とは全く重ならない。一方、レーザ光照射径つまりは測定点101が大きいと、関心領域100内の測定点101と全く重ならないように新たな測定領域200内の測定点201を定めることが難しい(又は不可能な)場合もある。図3はこうした場合の例であり、関心領域100内の測定点101と新たな測定領域200内の測定点201とが部分的に重なっている。好ましくは、図2(a)に示したように測定領域200内の測定点201は関心領域100内の測定点101に全く重ならないほうがよいものの、図3に示すように部分的な重なりを許容しても構わない。

20

【0049】

次いでユーザは入力部5から、関心領域及び測定領域に対しそれぞれ測定メソッドを指定する(ステップS5)。測定メソッドは、レーザ光パワーなどのイオン化条件、イオンガイド16等の各部への印加電圧といった分析条件などの各種のパラメータ値を含む。測定メソッドの指定は、予め各種のパラメータ値を格納しておいた測定メソッドファイルのファイル名等を選択することで行うようにすることができる。一般的には、関心領域と測定領域とに対して異なる測定メソッドを指定するが、同じ測定メソッドを指定することも可能である。測定メソッド割当部44は上記ユーザの指定に応じて、関心領域及び測定領域に対しそれぞれ測定メソッドの割り当てを記憶する。

30

【0050】

なお、上記ステップS1~S5の操作及び処理はその順序を適宜入れ替えることができる。例えば、まず関心領域と測定領域に対する測定メソッドを指定しておき、そのあとに、関心領域、測定領域を設定するようにしてもよい。また、関心領域を定めたあとに該関心領域に対する測定メソッドを指定し、そのあと、測定領域を定め、引き続いて該測定領域に対する測定メソッドを指定してもよい。

【0051】

ユーザが入力部5から分析開始を指示すると、分析制御部3は、関心領域100内の各測定点101に対し、その関心領域100に割り当てられている測定メソッドに従った質量分析を実行するように測定部1を制御し、引き続いて、測定領域200内の各測定点201に対し、該測定領域200に割り当てられている測定メソッドに従った質量分析を実行するように測定部1を制御する。これにより、各測定点101、201に対する質量分析が実行される(ステップS6)。

40

【0052】

即ち、測定部1においては、MALDI用レーザ照射部13から試料S上の測定点100(又は201)に対しパルス状のレーザ光が照射されると、その照射部位付近に存在する試料S中の成分がイオン化される。発生したイオンはイオン導入部15を通して真空チ

50

ャンバ14内に搬送され、イオンガイド16により収束されてイオントラップ17内に導入され、四重極電場の作用により一旦保持される。この各種イオンは所定のタイミングでイオントラップ17から射出されフライトチューブ18内の飛行空間に導入され、該飛行空間を飛行して検出器19に到達する。飛行空間を飛行する間に各種イオンは質量電荷比に応じて分離され、質量電荷比が小さい順に検出器19に到達する。検出器19によるアナログ検出信号は図示しないアナログデジタル変換器によりデジタルデータに変換されたあと、データ処理部2に入力され、飛行時間が質量電荷比に換算されてマススペクトルデータとしてデータ格納部21に格納される。

【0053】

こうして関心領域100又は測定領域200内の或る一つの測定点に対するマススペクトルデータがデータ格納部21に格納されると、次に測定すべき測定点がレーザ光照射位置に来るように試料台11が移動される。これが繰り返されることで関心領域100及び測定領域200内の全ての測定点101、201に対するマススペクトルデータが収集される(ステップS7)。なお、ステップS6、S7では、関心領域100内の一つの測定点101に質量分析と測定領域200内の一つの測定点201に対する質量分析を交互に実行してもよいし、関心領域100内(又は測定領域200内)の全ての測定点101(又は測定点201)に対する質量分析を実施したあとに測定領域200内(又は関心領域100内)の全ての測定点201(又は測定点101)に対する質量分析を実行してもよい。

【0054】

データ収集後、イメージング画像作成部22はデータ格納部21に保存されているデータに基づいて、関心領域100及び測定領域200に対する指定された質量電荷比における信号強度の2次元分布を示すMSイメージング画像を作成し、主制御部4を通して表示部6の画面上に表示する(ステップS8)。

【0055】

試料Sにレーザ光が照射されると該試料S中の成分とマトリクスとが飛散するため、同じ位置にレーザ光を繰り返し照射する毎に、得られる信号強度は徐々に低下してゆく。これに対し、関心領域100内の各測定点101と測定領域200内の各測定点201とは完全には重なっていないので、関心領域100内の各測定点101に対して質量分析を実行したあと測定領域200内の各測定点201の質量分析を実行する際に、関心領域100の質量分析時にレーザ光が照射されていない部分に少なくとも一部のレーザ光が照射される。これは、例えば図2(a)に示したように関心領域100内の測定点101と測定領域200内の測定点201とが全く重ならない場合だけでなく、図3に示したように関心領域100内の測定点101と測定領域200内の測定点201とが部分的に重なり合っている場合であっても同様である。そのため、関心領域100に対する質量分析時とは別の測定メソッドの下で測定領域200に対する質量分析を行う際にも、十分な強度の信号を得ることができる。

【0056】

また、測定領域200はユーザが指定した関心領域100と全く同じ位置ではないものの、試料S上で関心領域100とほぼ同じ位置であるとみなせる程度に重なっている。そのため、関心領域100内の測定点101とこれに対応する測定点201に存在する成分はほぼ同じであるとみなせる。したがって、例えば関心領域100と測定領域200とに対し異なる測定メソッドを設定した場合、同じ質量電荷比における関心領域100に対するMSイメージング画像と測定領域200に対するMSイメージング画像とには測定メソッドの相違のみが反映されていると捉えることができ、それらMSイメージング画像から試料S上の関心領域100についてのより多くの情報を収集することができる。また、それらMSイメージング画像の各画素の信号強度を加算したり、減算したり、或いは除算したり、さらには強度値の大きいほうの信号強度を選択したりすることで、関心領域100に存在する特定の成分の2次元分布をよりの確に示すMSイメージング画像を作成することができる。さらにまた、それらMSイメージング画像同士を比較して、測定メソッドの

10

20

30

40

50

的確性などを検討することもできる。

【0057】

またユーザが必要に応じて入力部5から所定の操作を行うと、画像重畳処理部25はデータ格納部21に格納されている光学画像データを取得し、関心領域100や測定領域200に対する任意の質量電荷比における（又は複数の質量電荷比の組合せにおける）MSイメージング画像に同領域の光学画像を重ねて表示部6の画面上に表示する（ステップS9）。こうした画像の重畳は例えば、MSイメージング画像と光学画像との両方を表示した画面上で、光学画像をMSイメージング画像上に移動させるドラッグアンドドロップ操作を行うことで実施できるようにするとよい。上述したように測定領域200は関心領域100とほぼ同じ位置であるとみなせることから、測定領域200に対するMSイメージング画像には関心領域に対応した光学画像をそのまま（つまり関心領域と測定領域の位置ずれの分だけずらすことなく）重ね合わせるようにしてもよい。このようにMSイメージング画像と光学画像とを重ねて表示することで、光学画像上に現れている生体組織の形状や模様と成分の2次元分布との対応付けが視覚上容易になるという利点がある。

10

【0058】

なお、上記説明では、関心領域100に対し測定領域200を一つのみ定めたが、複数の測定領域200を定めることもできる。その場合、異なる測定領域200にそれぞれ含まれる測定点201同士は、上述した関心領域100内の測定点101と測定領域200内の測定点201との関係と同じように、完全には重ならない位置に設定されるようにする。それによって、或る測定領域200に対する質量分析を実施する際に、少なくともレーザ光の一部を未だ分析が実施されていない試料S上の部位に照射することができる。また、特に複数の測定領域200を定める場合には、それに先立って測定メソッドの指定を行うようにすることで、その指定された測定メソッドの数に応じて測定領域の数を定めればよい。

20

【0059】

[測定メソッドの自動チューニング]

図5は、本実施例のイメージング質量分析装置における第2の特徴的な測定動作の操作及び処理手順を示すフローチャートである。この測定動作は、測定メソッドを自動的に最適化する自動チューニングのための動作である。

【0060】

図5においてステップS11～S13の操作及び処理は既に述べたステップS1～S3の操作及び処理と全く同じであるので説明を省略する。ステップS13の終了後、ユーザは測定メソッド中の各種分析条件のパラメータ値を変更する変更条件を入力部5から指定する（ステップS14）。

30

【0061】

例えば、イオンガイド16への印加電圧などのパラメータ値を最適化したい場合、そのパラメータ値の変化の範囲（つまりは上限値及び下限値）と変化のステップ幅とを変更条件として指定すればよい。また、ステップ幅が一定でない場合にはパラメータ値の算出式やパラメータ値テーブルで変更条件を指定できるようにしてもよい。また、上述したように測定メソッドに含まれる分析条件は一つのみでなく複数であるため、或る一つの分析条件のパラメータ値が他の分析条件のパラメータ値に影響を与えることもある。そのため、複数のパラメータ値を多次元的に変更できるようにしてもよい。また、最適化したい分析条件の種類（例えばレーザ光パワー、レーザ光照射回数、イオンガイド16の印加電圧、イオンガイド16に印加する高周波電圧の周波数、イオントラップ17にイオンを捕捉する電圧を印加するタイミングなど）のみをユーザが選択可能とし、それぞれのパラメータ値の変更条件はデフォルトで決めておくようにしてもよい。さらにまた、ユーザの指定に依らず、全てをデフォルトで決めておくようにしてもよい。

40

【0062】

次に、測定メソッド条件設定部43は、上記測定メソッドのパラメータ値の変更条件に基づいてそれぞれ異なる測定メソッドを作成する（ステップS15）。パラメータ値を変

50

更すべき分析条件が多いほど、またパラメータ値のステップ幅が細かいほど、作成される測定メソッドの数は多くなる。

【0063】

測定領域設定部42は上記ステップS4と同様の手順で、関心領域100内の測定点101と完全には重ならない、且つ他の測定領域200内の測定点201とも完全には重ならない測定点201を含む測定領域200を、ステップS15で作成された測定メソッドの数だけ定める(ステップS16)。ここでは、最終的に最適化された測定メソッドで関心領域100内の各測定点101に対する質量分析を行うために、関心領域100以外の測定領域200の数と測定メソッドの数とを合わせておく。測定メソッド割当部44は設定された複数の測定領域200に対してそれぞれ異なる測定メソッドを割り当て記憶する(ステップS17)。

10

【0064】

ユーザが入力部5から自動チューニングの実行開始を指示すると、分析制御部3は、一つの測定領域200内の各測定点201に対し、該測定領域200に割り当てられている測定メソッドに従った質量分析を実行するように測定部1を制御し、引き続いて、別の測定領域200中の各測定点201に対し、該測定領域200に割り当てられている測定メソッドに従った質量分析を実行するように測定部1を制御する。これを繰り返すことで、全ての測定領域200中の各測定点201に対する質量分析が実行される(ステップS18)。それによって収集されたマススペクトルデータがデータ格納部21に一旦保存される(ステップS19)。

20

【0065】

最適測定メソッド選定部23は、測定領域200毎に得られたデータに基づいて、複数の測定メソッドの中から最適な測定メソッドを選定する(ステップS20)。

例えば一つの測定領域200内の測定点201毎に全ての質量電荷比の信号強度を加算したTIC(トータルイオン電流)値を求め、さらにその測定領域200内の全ての測定点のTIC値を加算した総TIC値を計算する。この総TIC値をそれぞれ異なる測定メソッドの下で得られた異なる測定領域200について比較し、総TIC値が最大になる測定メソッドを最適な測定メソッドとして選定する。また、目的成分が決まっている場合には、その目的成分由来のイオンの質量電荷比における信号強度の加算値が最大になる測定メソッドを最適な測定メソッドとして選定すればよい。複数の測定メソッドの中から最適な測定メソッドを選定するアルゴリズムはこれらに限らない。

30

【0066】

上記のように最適な測定メソッドが選定されたならば、その最適な測定メソッドの下で関心領域100内の各測定点101に対する質量分析を実施し、その関心領域100に対するマススペクトルデータを収集すればよい。

【0067】

上記説明では、ステップS14で指定されたパラメータ値の変更条件に従って複数の測定メソッドを作成し、作成された測定メソッドに対応した数の測定領域を定めたあとに質量分析を実行していたが、測定メソッド及び測定領域を一つ設定する毎に質量分析を実行し、その質量分析結果に基づいて最適であると推定される測定メソッドが見つかった時点で処理を打ち切るようにしてもよい。このように逐次的に測定メソッド及び測定領域の設定、質量分析の実行、最適測定メソッドの判定を実行することで、無駄な質量分析の実行を避けることができる。

40

【0068】

[自動MSⁿ分析]

図6は、本実施例のイメージング質量分析装置における第3の特徴的な測定動作のフローチャートである。この測定動作は、通常の質量分析の結果に基づいて自動的にプリカーサイオンを選択してMSⁿ分析(本例ではnは2)を実行する自動MSⁿ分析のための動作である。

【0069】

50

図6においてステップS31～S33の操作及び処理は既に述べたステップS1～S3の操作及び処理と全く同じであるので説明を省略する。ステップS33の処理の終了後、プリカーサイオン選択条件設定部45は、ユーザの入力部5からの入力に応じてプリカーサイオンの選択条件を設定し記憶する(ステップS34)。プリカーサイオン選択条件には、プリカーサイオンを選択するために質量分析により得られた結果のいずれを使用するのかの選択が含まれる。即ち、関心領域100内の測定点101のうちの特定の一つの測定点に対して得られたマススペクトルデータ、特定の複数の測定点に対して得られたマススペクトルデータを積算した値や平均した値、或いは、関心領域100内の全ての測定点101に対して得られたマススペクトルデータを積算した値や平均した値などのいずれを利用してプリカーサイオン選択の判断を行うのかを選択することができる。また、プリカーサイオン選択の判定条件としては例えば、マススペクトルの中で信号強度が大きい順に所定数のピークを選択する、信号強度値が所定値以上であるピークをその質量電荷比値が大きい順に最大所定数選択する、予め定めた質量電荷比値のピークが存在する場合にそれを所定数選択する、などの指定が可能である。

10

20

30

40

50

【0070】

その後、ユーザが入力部5から自動MSⁿ分析の実行開始を指示すると、分析制御部3は、関心領域100内の各測定点101に対し所定の測定メソッドに従った質量分析を実行するように測定部1を制御する。それにより、関心領域100内の各測定点101に対する質量分析が実行され、それによって収集されたマススペクトルデータはデータ格納部21に一旦保存される(ステップS35、S36)。なお、プリカーサイオン選択条件として特定の一又は複数の測定点におけるマススペクトルデータのみを判定に使用する旨の選択がなされている場合には、全ての測定点101に対する質量分析を実行せずに、その特定の一又は複数の測定点101に対する質量分析のみを実行すればよい。

【0071】

データ収集後、プリカーサイオン選択部24は設定されているプリカーサイオン選択条件に従って、得られたマススペクトルデータに基づいて一又は複数のピークをプリカーサイオンとして選択しそのピークの質量電荷比値を求める(ステップS37)。なお、プリカーサイオン選択条件に適合するピークが全く存在しない場合もあり得るから、その場合には、MS²分析を実行せずに処理を終了する。プリカーサイオンが一又は複数選択された場合、測定領域設定部42は上記ステップS4と同様の手順で、関心領域100内の測定点101と完全には重ならない、且つ他の測定領域200内の測定点201とも完全には重ならない測定点201を含む測定領域200を、ステップS37で選択されたプリカーサイオンの数だけ定める(ステップS38)。また、測定メソッド割当部44は選択されたプリカーサイオンをターゲットとするMS²分析のための測定メソッドを作成し、ステップS38で設定された測定領域200にそれぞれ割り当てる(ステップS39)。

【0072】

測定メソッド及び測定領域が定まると、分析制御部3は、一つの測定領域200内の各測定点201に対し、設定されている測定メソッドに従ったMS²分析、つまりはステップS37で選択されたプリカーサイオンの一つをターゲットとするMS²分析を実行するように測定部1を制御する。即ち、測定部1では、試料Sにレーザ光が照射されることで生成された各種イオンがイオントラップ17に捕捉されたあと、プリカーサイオンの質量電荷比を有するイオン以外のイオンがイオントラップ17内から排除される。その後、イオントラップ17内にコリジョンガスが導入されイオンが励振されることで該イオンの解離が促進される。そして、その解離によって生成されたプロダクトイオンがイオントラップ17から一斉にフライトチューブ18に向けて射出され質量分析される。

【0073】

こうして、一つの測定領域200内の各測定点201に対して同じプリカーサイオンをターゲットとするMS²分析が実行され、それによって収集されたMS²スペクトルデータはデータ格納部21に一旦保存される。これを繰り返すことで、ステップS38で設定された全ての測定領域200内の各測定点201に対するMS²分析が実行され、それによって

収集されたマススペクトルデータがデータ格納部 2 1 に保存される（ステップ S 4 0、S 4 1）。

【0074】

データ収集後、イメージング画像作成部 2 2 はデータ格納部 2 1 に保存されている MS^2 スペクトルデータに基づいて、指定されたプリカーサイオン由来の特定の質量電荷比を有するプロダクトイオンの 2 次元強度分布を示す MS^2 イメージング画像を作成し、主制御部 4 を通じて表示部 6 の画面上に表示する（ステップ S 4 2）。上述したように測定領域 2 0 0 は関心領域 1 0 0 とほぼ同じであるとみなせる。そのため、異なるプリカーサイオンに対応する MS^2 イメージング画像はいずれも関心領域 1 0 0 内の成分分布を反映したものであるとみなすことができ、異なるプリカーサイオンに由来するプロダクトイオンの 2 次元強度分布を視覚的に的確に比較することができる。

10

【0075】

また、ユーザが必要に応じて入力部 5 から所定の操作を行うと、画像重ね処理部 2 5 はデータ格納部 2 1 に格納されている光学画像データを取得し、任意の測定領域に対する MS^2 イメージング画像に領域の光学画像を重ねて表示部 6 の画面上に表示する（ステップ S 4 3）。

【0076】

なお、イオントラップ 1 7 では MS^2 分析だけでなく n が 3 以上の MS^n 分析が可能であるから、 n が 3 以上の自動 MS^n 分析も同様の手順で行うことができる。また、 MS^3 イメージング画像と MS^4 イメージング画像とを比較できるように表示部 6 の画面上に表示することもできる。

20

【0077】

上記実施例のイメージング質量分析装置では、イオン源は MALDI イオン源であるが、LDI 法や SALDI 法によるイオン源でもよい。また、イオン化プローブとしてレーザー光以外の、電子線、イオン線、中性原子線、ガス流、プラズマガス流などを利用したイオン源でもよい。即ち、細径に絞ったイオン化プローブを試料に照射し、そのイオン化プローブが照射された範囲の試料成分のイオン化を行う手法であればよい。

【0078】

また、測定部 1 においてイオン源以外の構成、即ち、イオンを質量電荷比に応じて分離する質量分析器やイオンを解離させるイオン解離部の構成も上記記載のものに限らない。例えば MS^n 分析を行う場合、測定部 1 は、イオントラップ飛行時間型質量分析装置のほか、イオントラップ型質量分析装置、タンデム四重極型質量分析装置、Q-TOF 型質量分析装置などでもよい。また、この場合、 MS^n 分析のためのイオン解離操作の手法は、衝突誘起解離に限らず、赤外多光子吸収解離、電子捕獲解離、電子移動解離など、いずれでもよい。

30

【0079】

さらにまた、上記実施例は本発明の一例であり、本発明の趣旨の範囲で適宜に変更、修正、追加を行っても本願特許請求の範囲に包含されることは当然である。

【符号の説明】

【0080】

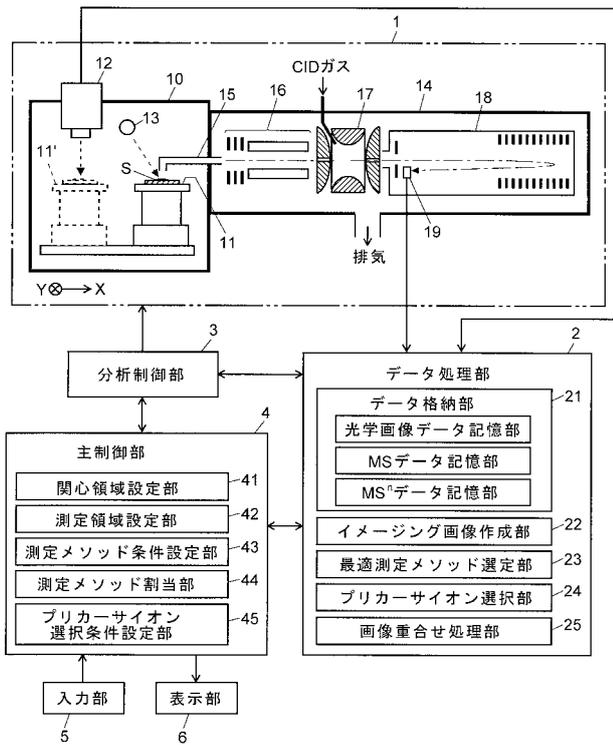
- 1 ... 測定部
- 1 0 ... イオン化室
- 1 1 (1 1 ') ... 試料台
- 1 2 ... 撮像部
- 1 3 ... MALDI 用レーザー照射部
- 1 4 ... 真空チャンバ
- 1 5 ... イオン導入部
- 1 6 ... イオンガイド
- 1 7 ... イオントラップ
- 1 8 ... フライトチューブ

40

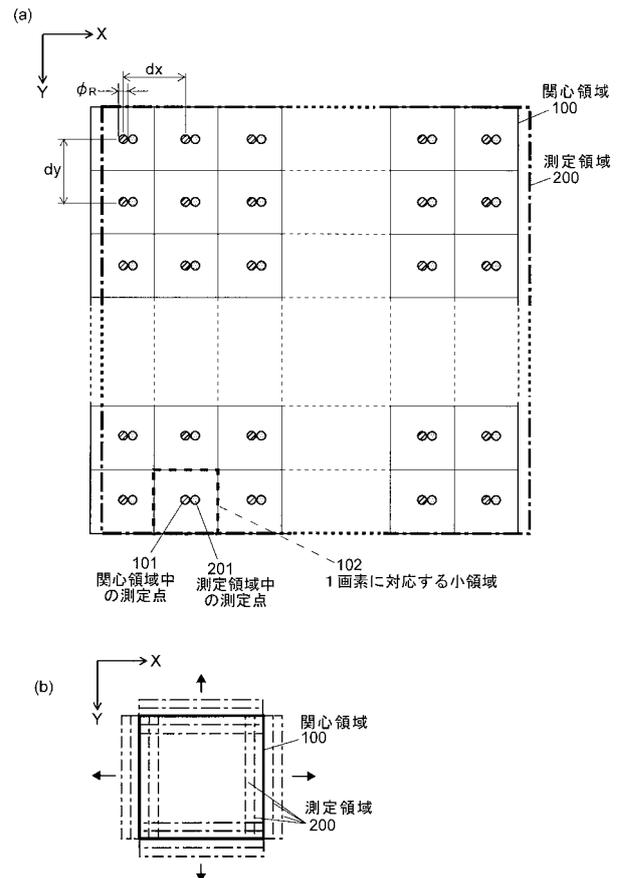
50

- 1 9 ... 検出器
- 2 ... データ処理部
- 2 1 ... データ格納部
- 2 2 ... イメージング画像作成部
- 2 3 ... 最適測定メソッド選定部
- 2 4 ... プリカーサイオン選択部
- 2 5 ... 画像重合せ処理部
- 3 ... 分析制御部
- 4 ... 主制御部
- 4 1 ... 関心領域設定部
- 4 2 ... 測定領域設定部
- 4 3 ... 測定メソッド条件設定部
- 4 4 ... 測定メソッド割当部
- 4 5 ... プリカーサイオン選択条件設定部
- 5 ... 入力部
- 6 ... 表示部
- S ... 試料

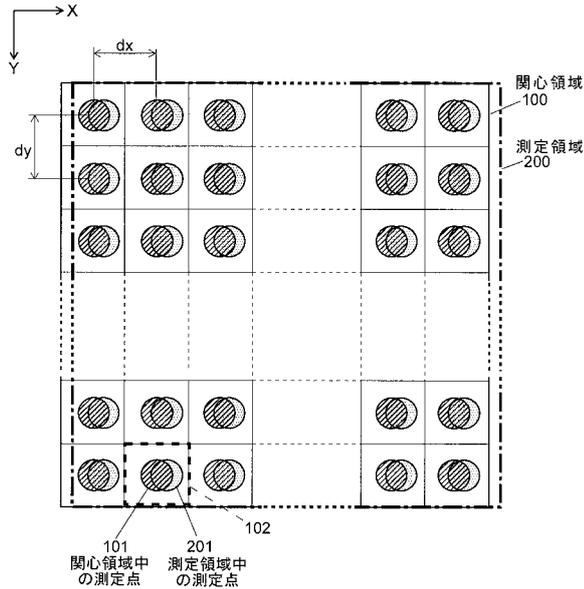
【 図 1 】



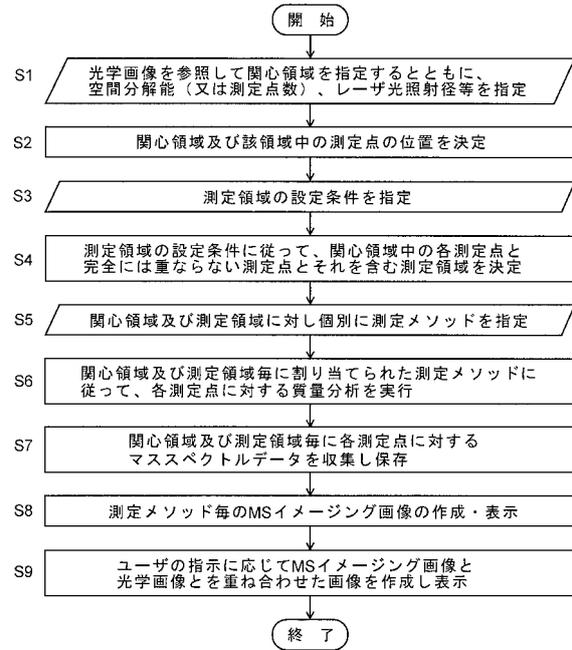
【 図 2 】



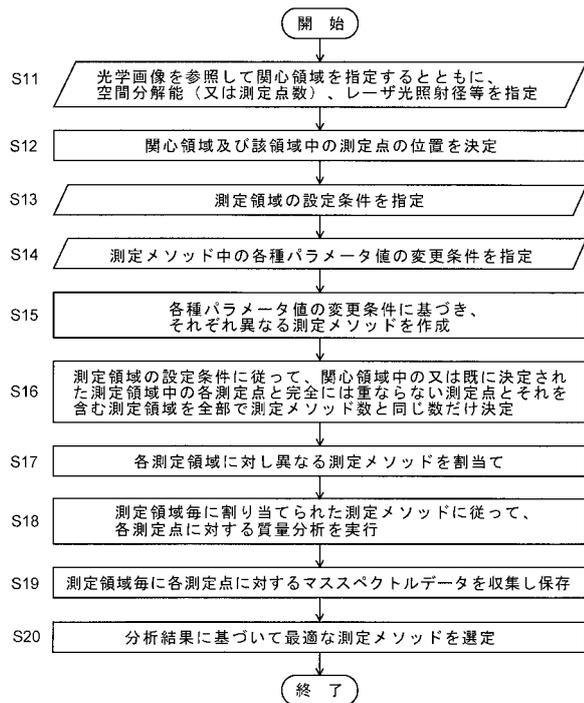
【 図 3 】



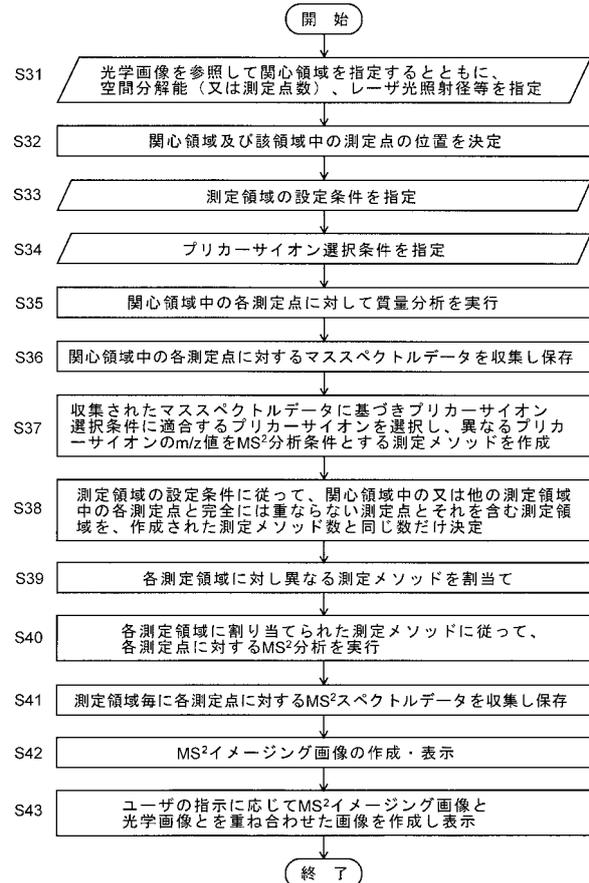
【 図 4 】



【 図 5 】



【 図 6 】



【手続補正書】

【提出日】平成30年9月5日(2018.9.5)

【手続補正1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0015

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0015】

例えば、関心領域、及び空間分解能や質量分析イメージング画像の画素数などのパラメータが指定されると、関心領域内を格子状に区切った、それぞれが質量分析イメージング画像の画素に対応する矩形の小領域の大きさと位置が決まる。そこで、この各小領域の中心位置に、ユーザによってパラメータの一つとして指定された大きさを有する微小領域を定めればよい。なお、空間分解能や微小領域の大きさなどのパラメータはユーザによる指定でなく、装置に予め決められたデフォルト値でもよい。

【手続補正2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0052

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0052】

即ち、測定部1においては、MALDI用レーザー照射部13から試料S上の測定点101（又は201）に対しパルス状のレーザー光が照射されると、その照射部位付近に存在する試料S中の成分がイオン化される。発生したイオンはイオン導入部15を通して真空チャンバ14内に搬送され、イオンガイド16により収束されてイオントラップ17内に導入され、四重極電場の作用により一旦保持される。この各種イオンは所定のタイミングでイオントラップ17から射出されフライトチューブ18内の飛行空間に導入され、該飛行空間を飛行して検出器19に到達する。飛行空間を飛行する間に各種イオンは質量電荷比に応じて分離され、質量電荷比が小さい順に検出器19に到達する。検出器19によるアナログ検出信号は図示しないアナログデジタル変換器によりデジタルデータに変換されたあと、データ処理部2に入力され、飛行時間が質量電荷比に換算されてマススペクトルデータとしてデータ格納部21に格納される。

【手続補正3】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0075

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0075】

また、ユーザが必要に応じて入力部5から所定の操作を行うと、画像重合せ処理部25はデータ格納部21に格納されている光学画像データを取得し、任意の測定領域に対する M/S^2 イメージング画像に該測定領域の光学画像を重ねて表示部6の画面上に表示する（ステップS43）。

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/JP2016/074601
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER G01N27/62(2006.01)i		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) G01N27/62, H01J49/00-49/10		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Jitsuyo Shinan Koho 1922-1996 Jitsuyo Shinan Toroku Koho 1996-2016 Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-2016 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-2016		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	JP 2016-513797 A (Micromass UK Ltd.), 16 May 2016 (16.05.2016), claims 1 to 8; paragraphs [0040] to [0050]; fig. 1 & WO 2014/140625 A1 claims 1 to 8; page 7, lines 5 to 37; fig. 1 & US 2016/0027625 A1 & GB 2517005 A & EP 2973645 A1 & CA 2905318 A1	1-6
Y	JP 2012-237753 A (Japanese Foundation for Cancer Research), 06 December 2012 (06.12.2012), claims 1 to 6; fig. 1 to 5 & US 2012/0278037 A1 claims 1, 2; fig. 1 to 5	1-6
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 10 November 2016 (10.11.16)		Date of mailing of the international search report 22 November 2016 (22.11.16)
Name and mailing address of the ISA/ Japan Patent Office 3-4-3, Kasumigaseki, Chiyoda-ku, Tokyo 100-8915, Japan		Authorized officer Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2016/074601

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	JP 2013-40808 A (Shimadzu Corp.), 28 February 2013 (28.02.2013), claims 1 to 6; paragraph [0025]; fig. 1, 2 (Family: none)	1-6
A	JP 2016-75574 A (Canon Inc.), 12 May 2016 (12.05.2016), & US 2016/0099139 A1	1-6
A	WO 2008/126151 A1 (Shimadzu Corp.), 23 October 2008 (23.10.2008), & US 2010/0116981 A1	1-6

国際調査報告		国際出願番号 PCT/J P 2 0 1 6 / 0 7 4 6 0 1									
A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC)) Int.Cl. G01N27/62(2006.01)i											
B. 調査を行った分野 調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC)) Int.Cl. G01N27/62 H01J49/00-49/10											
最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの <table border="0"> <tr> <td>日本国実用新案公報</td> <td>1922-1996年</td> </tr> <tr> <td>日本国公開実用新案公報</td> <td>1971-2016年</td> </tr> <tr> <td>日本国実用新案登録公報</td> <td>1996-2016年</td> </tr> <tr> <td>日本国登録実用新案公報</td> <td>1994-2016年</td> </tr> </table>				日本国実用新案公報	1922-1996年	日本国公開実用新案公報	1971-2016年	日本国実用新案登録公報	1996-2016年	日本国登録実用新案公報	1994-2016年
日本国実用新案公報	1922-1996年										
日本国公開実用新案公報	1971-2016年										
日本国実用新案登録公報	1996-2016年										
日本国登録実用新案公報	1994-2016年										
国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)											
C. 関連すると認められる文献											
引用文献の カテゴリ*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号									
Y	JP 2016-513797 A (マイクロマス ユーケー リミテッド) 2016.05.16, [請求項 1-8], [0040]-[0050], 図 1 & WO 2014/140625 A1, Claims1-8, p.7 line5-37, Fig.1 & US 2016/0027625 A1 & GB 2517005 A & EP 2973645 A1 & CA 2905318 A1	1-6									
Y	JP 2012-237753 A (公益財団法人がん研究会) 2012.12.06, [請求項 1-6], 図 1-5 & US 2012/0278037 A1, claim1, 2, FIGs. 1-5	1-6									
<input checked="" type="checkbox"/> C欄の続きにも文献が列挙されている。		<input type="checkbox"/> パテントファミリーに関する別紙を参照。									
* 引用文献のカテゴリ		の日の後に公表された文献									
「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの		「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの									
「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの		「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの									
「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)		「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの									
「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献		「&」同一パテントファミリー文献									
「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願											
国際調査を完了した日 10.11.2016		国際調査報告の発送日 22.11.2016									
国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁 (ISA/J P) 郵便番号 100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号		特許庁審査官 (権限のある職員) 伊藤 裕美	2W 9515								
		電話番号 03-3581-1101 内線 3258									

国際調査報告

国際出願番号 PCT/JP2016/074601

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
Y	JP 2013-40808 A (株式会社島津製作所) 2013.02.28, [請求項 1-6], [0025]図 1, 2 (ファミリーなし)	1-6
A	JP 2016-75574 A (キャノン株式会社) 2016.05.12, & US 2016/0099139 A1	1-6
A	WO 2008/126151 A1 (株式会社島津製作所) 2008.10.23, & US 2010/0116981 A1	1-6

様式 PCT/ISA/210 (第2ページの続き) (2015年1月)

(注)この公表は、国際事務局(WIPO)により国際公開された公報を基に作成したものである。なおこの公表に係る日本語特許出願(日本語実用新案登録出願)の国際公開の効果は、特許法第184条の10第1項(実用新案法第48条の13第2項)により生ずるものであり、本掲載とは関係ありません。