

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2015-152582

(P2015-152582A)

(43) 公開日 平成27年8月24日(2015.8.24)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
GO 1 N 27/62 (2006.01)	GO 1 N 27/62 E	2 G O 4 1
HO 1 J 49/42 (2006.01)	HO 1 J 49/42	5 C O 3 8

審査請求 未請求 請求項の数 6 O L (全 14 頁)

(21) 出願番号	特願2014-29902 (P2014-29902)	(71) 出願人	000001993 株式会社島津製作所 京都府京都市中京区西ノ京桑原町1番地
(22) 出願日	平成26年2月19日 (2014.2.19)	(74) 代理人	100141852 弁理士 吉本 力
		(74) 代理人	100152571 弁理士 新宅 将人
		(72) 発明者	村瀬 雅樹 京都府京都市中京区西ノ京桑原町1番地 株式会社島津製作所内
		Fターム(参考)	2G041 CA01 DA04 EA01 GA06 GA08 GA10 KA01 5C038 JJ02 JJ06 JJ07 JJ09 JJ11

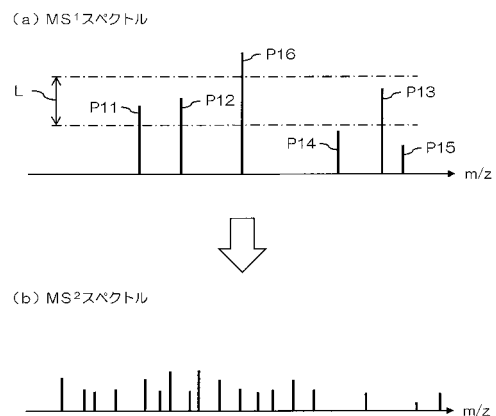
(54) 【発明の名称】 イオントラップ質量分析装置及びイオントラップ質量分析方法

(57) 【要約】

【課題】 試料をイオン化させる回数を減少させることができるとともに、測定時間を短縮することができるイオントラップ質量分析装置及びイオントラップ質量分析方法を提供する。

【解決手段】 MS¹ スペクトルに基づいて、強度又はS/N比が所定範囲L内にある複数のピークP11, P12, P13に対応するイオンをMS² プリカーサイオンとして検出する。MS² プリカーサイオンとして検出された複数のイオンをイオントラップ内で一度に開裂させて質量分析を行うことにより、MS² スペクトルを測定する。

【選択図】 図3



【特許請求の範囲】

【請求項 1】

試料をイオン化することにより得られるイオンをイオントラップに捕捉し、当該イオンを開裂させて質量分析を行うことにより MS^n 分析 (n は 2 以上の整数) を行うためのイオントラップ質量分析装置であって、

イオン化された試料の質量分析を行うことにより MS^1 スペクトルを測定する MS^1 測定処理部と、

前記 MS^1 スペクトルに基づいて、強度又は S/N 比が所定範囲内にある複数のピークに対応するイオンを MS^2 プリカーサイオンとして検出するプリカーサイオン検出処理部と、

MS^2 プリカーサイオンとして検出された複数のイオンを前記イオントラップ内で一度に開裂させて質量分析を行うことにより、 MS^2 スペクトルを測定する MS^2 測定処理部とを備えたことを特徴とするイオントラップ質量分析装置。

【請求項 2】

前記プリカーサイオン検出処理部は、前記 MS^2 プリカーサイオンとして検出された複数のイオンのうち、所定の質量電荷比を質量差として隣接するピークの一方を除外することを特徴とする請求項 1 に記載のイオントラップ質量分析装置。

【請求項 3】

前記 MS^2 スペクトルを測定して得られたプロダクトイオンのうち、 MS^2 プリカーサイオンの中の 1 個の質量電荷比から所定の質量電荷比を質量差として低質量側に位置するイオンのみを開裂させて質量分析を行うことにより、 MS^3 スペクトルを測定する MS^3 測定処理部をさらに備えたことを特徴とする請求項 1 又は 2 に記載のイオントラップ質量分析装置。

【請求項 4】

前記 MS^2 プリカーサイオンとして検出された複数のイオンの中に同定できない成分があった場合に、同定できなかった成分に対応するイオンについて、前記 MS^2 測定処理部による処理を再度実行させる MS^2 再測定処理部をさらに備えたことを特徴とする請求項 1 ~ 3 のいずれかに記載のイオントラップ質量分析装置。

【請求項 5】

前記 MS^2 プリカーサイオンとして検出された複数のイオンの中に同定できない成分があった場合に、ターゲット上の試料を当該ターゲット上で分離する処理を行うオンターゲット分離処理部と、

前記オンターゲット分離処理部による処理が行われた試料に対して、前記 MS^1 測定処理部による処理を再度実行させる MS^1 再測定処理部をさらに備えたことを特徴とする請求項 1 ~ 4 のいずれかに記載のイオントラップ質量分析装置。

【請求項 6】

試料をイオン化することにより得られるイオンをイオントラップに捕捉し、当該イオンを開裂させて質量分析を行うことにより MS^n 分析 (n は 2 以上の整数) を行うためのイオントラップ質量分析方法であって、

イオン化された試料の質量分析を行うことにより MS^1 スペクトルを測定する MS^1 測定ステップと、

前記 MS^1 スペクトルに基づいて、強度又は S/N 比が所定範囲内にある複数のピークに対応するイオンを MS^2 プリカーサイオンとして検出するプリカーサイオン検出ステップと、

MS^2 プリカーサイオンとして検出された複数のイオンを前記イオントラップ内で開裂させて質量分析を行うことにより、 MS^2 スペクトルを測定する MS^2 測定ステップとを備えたことを特徴とするイオントラップ質量分析方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

10

20

30

40

50

本発明は、試料をイオン化することにより得られるイオンをイオントラップに捕捉し、当該イオンを開裂させて質量分析を行うことによりMSⁿ分析（nは2以上の整数）を行うためのイオントラップ質量分析装置及びイオントラップ質量分析方法に関するものである。

【背景技術】

【0002】

生体試料等の混合物試料からペプチドを始めとする高分子化合物を同定する際に、イオントラップを備えたイオントラップ質量分析装置が広く用いられている（例えば、下記非特許文献1参照）。この種の質量分析装置では、例えばMALDI（マトリックス支援レーザー脱離イオン化法）により試料がマトリックスとともに真空中で気化され、試料とマトリックスとの間のプロトンの授受によって試料がイオン化される。そして、試料をイオン化することにより得られるイオンをイオントラップに捕捉して質量分析を行うことができるようになっている。

10

【0003】

図9は、従来 of イオントラップ質量分析装置により質量分析を行う際の処理の一例を示したフローチャートである。この例では、イオントラップに捕捉したイオンを、いわゆるCID（衝突誘起解離）により開裂して質量分析を行うことにより、MSⁿ分析を行う場合について説明する。

【0004】

まず、イオン化された試料の質量分析（MS¹分析）を行うことによりMS¹スペクトルを測定する（ステップS501）。そして、MS¹スペクトルを解析することにより、所定の基準を満たすピークに対応するイオンをMS²プリカーサイオンとして検出する（ステップS502及びS503）。

20

【0005】

MS²プリカーサイオンが検出された場合には（ステップS504でYes）、試料をイオン化することにより得られたイオンをイオントラップ内に捕捉し、MS²プリカーサイオンとして検出されたイオンを1つずつイオントラップ内に残して開裂させ、質量分析（MS²分析）を行うことによりMS²スペクトルを測定する（ステップS505）。その後、MS²スペクトルを解析することにより、所定の基準を満たすピークに対応するイオンをMS³プリカーサイオンとして検出する（ステップS506及びS503）。

30

【0006】

このようにして、MSⁿプリカーサイオン（nは2以上の整数）が検出されなくなるまで（ステップS504でNoとなるまで）、ステップS503～S506の処理が繰り返されることによりMSⁿ分析が行われる。このMSⁿ分析により得られたMSⁿスペクトルに基づいて、試料成分を同定することができる。

【先行技術文献】

【非特許文献】

【0007】

【非特許文献1】Andrew N. Krutchinsky, Markus Kalkum, and Brian T. Chait, Automatic Identification of Proteins with a MALDI-Quadrupole Ion Trap Mass Spectrometer, Anal. Chem., 2001, 73(21), 5066-5077

40

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0008】

上記のような従来 of イオントラップ質量分析装置では、MS¹スペクトルに所定の基準を満たすピークが複数ある場合に、通常は、各ピークから1個ずつMS²プリカーサイオンが選ばれてMS²分析が行われる。すなわち、複数個のMS²プリカーサイオンについて並列的に測定を行い、複数個のペプチドを同定することはなされて来なかった。

【0009】

そのため、MS¹スペクトルの各ピークに対応するMS²プリカーサイオンについてM

50

S^2 分析を行う度に、試料がイオン化されることにより減少し、全ての成分を同定する前に試料が枯渇してしまうおそれがある。また、測定時間が長くなるため、真空中でマトリックスが昇華してしまい、測定を続行できなくなるおそれもある。特に、マトリックスの代表的な化合物である DHB (2,5-ジヒドロキシ安息香酸) は、真空中で昇華しやすい特性がある。

【0010】

本発明は、上記実情に鑑みてなされたものであり、試料をイオン化させる回数を減少させることができるとともに、測定時間を短縮することができるイオントラップ質量分析装置及びイオントラップ質量分析方法を提供することを目的とする。

【課題を解決するための手段】

10

【0011】

本発明に係るイオントラップ質量分析装置は、試料をイオン化することにより得られるイオンをイオントラップに捕捉し、当該イオンを開裂させて質量分析を行うことにより MS^n 分析 (n は 2 以上の整数) を行うためのイオントラップ質量分析装置であって、 MS^1 測定処理部と、プリカーサイオン検出処理部と、 MS^2 測定処理部とを備える。前記 MS^1 測定処理部は、イオン化された試料の質量分析を行うことにより MS^1 スペクトルを測定する。前記プリカーサイオン検出処理部は、前記 MS^1 スペクトルに基づいて、強度又は S/N 比が所定範囲内にある複数のピークに対応するイオンを MS^2 プリカーサイオンとして検出する。前記 MS^2 測定処理部は、 MS^2 プリカーサイオンとして検出された複数のイオンを前記イオントラップ内で一度に開裂させて質量分析を行うことにより、 MS^2 スペクトルを測定する。

20

【0012】

このような構成によれば、 MS^1 スペクトルに基づいて、強度又は S/N 比が所定範囲内にある複数のピークに対応するイオンを MS^2 プリカーサイオンとして検出し、それらの複数のイオンをイオントラップ内で一度に開裂させて質量分析を行うことにより、 MS^2 スペクトルを測定することができる。このようにして得られた MS^2 スペクトルに基づいて、複数のピークに対応する成分を一度に同定すれば、測定回数が減少するため、試料をイオン化させる回数を減少させることができるとともに、測定時間を短縮することができる。

【0013】

30

前記イオントラップ質量分析装置は、 MS^3 測定処理部をさらに備えていてもよい。この場合、前記 MS^3 測定処理部は、前記 MS^2 スペクトルを測定する際の開裂処理により生成されたプロダクトイオンのうち、所定の質量電荷比におけるピークに対応するイオンのみを開裂させて質量分析を行うことにより、 MS^3 スペクトルを測定してもよい。

【0014】

前記イオントラップ質量分析装置は、遊離性の修飾分子及び付加体によるニュートラルロスにより生じたフラグメントイオンが MS^1 スペクトルに存在している場合に、既知のニュートラルロスに対応するイオンの質量電荷比の質量差で隣接するイオンピークの一方を MS^2 分析対象となるプリカーサイオンから除外して MS^2 分析ができる。これにより、部分構造を共有する複数個のペプチド由来のプロダクトイオンがニュートラルロスにより重畳し、共有されていない部位の構造解析が困難となることを防ぐことが可能となる。

40

【0015】

前記イオントラップ質量分析装置は、 MS^2 再測定処理部をさらに備えていてもよい。この場合、前記 MS^2 再測定処理部は、前記 MS^2 プリカーサイオンとして検出された複数のイオンの中に同定できない成分があった場合に、同定できなかった成分に対応するイオンについて、前記 MS^2 測定処理部による処理を再度実行させてもよい。

【0016】

このような構成によれば、各成分間のプロダクトイオン生成効率の差異などに起因して、 MS^2 プリカーサイオンとして検出された複数のイオンの中に同定できない成分があった場合であっても、その同定できなかった成分に対応するイオンについて、 MS^2 スペク

50

トルを再度測定することができる。このようにして得られた MS^2 スペクトルに基づいて再度同定を行えば、各成分間のプロダクトイオン生成効率の差異などを考慮に入れた測定を行うことができる。

【0017】

前記イオントラップ質量分析装置は、オンターゲット分離処理部と、 MS^1 再測定処理部とをさらに備えていてもよい。この場合、前記オンターゲット分離処理部は、前記 MS^2 プリカーサイオンとして検出された複数のイオンの中に同定できない成分があった場合に、ターゲット上の試料を当該ターゲット上で分離する処理を行ってもよい。また、前記 MS^1 再測定処理部は、前記オンターゲット分離処理部による処理が行われた試料に対して、前記 MS^1 測定処理部による処理を再度実行させてもよい。

10

【0018】

このような構成によれば、 MS^2 プリカーサイオンとして検出された複数のイオンの中に同定できない成分があった場合であっても、オンターゲット分離処理部による処理が行われた試料に対して、 MS^1 測定処理部による処理を再度実行させることにより、その成分を同定することができる場合がある。また、オンターゲット分離処理部による処理を行う前の試料では MS^1 スペクトルにピークとして現れなかった成分が、オンターゲット分離処理部による処理を行うことによりピークとして現れる場合がある。したがって、オンターゲット分離処理部による処理が行われた試料に対して、 MS^1 測定処理部による処理を再度実行させることによって、より多くの成分を同定することができる。

【0019】

本発明に係るイオントラップ質量分析方法は、試料をイオン化することにより得られるイオンをイオントラップに捕捉し、当該イオンを開裂させて質量分析を行うことにより MS^n 分析(n は2以上の整数)を行うためのイオントラップ質量分析方法であって、 MS^1 測定ステップと、プリカーサイオン検出ステップと、 MS^2 測定ステップとを備える。前記 MS^1 測定ステップでは、イオン化された試料の質量分析を行うことにより MS^1 スペクトルを測定する。前記プリカーサイオン検出ステップでは、前記 MS^1 スペクトルに基づいて、強度又は S/N 比が所定範囲内にある複数のピークに対応するイオンを MS^2 プリカーサイオンとして検出する。前記 MS^2 測定ステップでは、 MS^2 プリカーサイオンとして検出された複数のイオンを前記イオントラップ内で開裂させて質量分析を行うことにより、 MS^2 スペクトルを測定する。

20

【発明の効果】

【0020】

本発明によれば、強度又は S/N 比が所定範囲内にある複数のピークに対応する成分を一度に同定することができるため、測定回数が減少し、試料をイオン化させる回数を減少させることができるとともに、測定時間を短縮することができる。

30

【図面の簡単な説明】

【0021】

【図1】本発明の一実施形態に係るイオントラップ質量分析装置の構成例を示した概略図である。

【図2】制御部及び記憶部の具体的構成の一例を示したブロック図である。

40

【図3】 MS^1 スペクトル及び MS^2 スペクトルの一例を示した概略図である。

【図4】 MS^n 分析を行う際の制御部による処理の一例を示したフローチャートである。

【図5】 MS^2 プリカーサイオンに遊離しやすいイオンが含まれる場合の MS^1 スペクトル及び MS^2 スペクトルの一例を示した概略図である。

【図6A】 MS^n 分析を行う際の制御部による処理の第1変形例を部分的に示したフローチャートである。

【図6B】 MS^n 分析を行う際の制御部による処理の第1変形例を部分的に示したフローチャートである。

【図7】 MS^n 分析を行う際の制御部による処理の第2変形例を部分的に示したフローチャートである。

50

【図 8】 MS^n 分析を行う際の制御部による処理の第 3 変形例を部分的に示したフローチャートである。

【図 9】従来のイオントラップ質量分析装置により質量分析を行う際の処理の一例を示したフローチャートである。

【発明を実施するための形態】

【0022】

図 1 は、本発明の一実施形態に係るイオントラップ質量分析装置の構成例を示した概略図である。本実施形態に係るイオントラップ質量分析装置（以下、単に「質量分析装置」という。）は、例えば生体試料等の混合物試料からペプチドを始めとする高分子化合物を同定する際に使用可能であり、質量分析部 1、制御部 2 及び記憶部 3 などを備えている。

10

【0023】

質量分析部 1 には、例えばイオン化部 11、イオントラップ 12 及び TOFMS（飛行時間型質量分析計）13 が備えられている。本実施形態では、質量分析装置の一例として、マトリックス支援レーザー脱離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）について説明する。

【0024】

イオン化部 11 は、試料をイオン化し、得られたイオンをイオントラップ 12 に供給する。この例では、MALDI（マトリックス支援レーザー脱離イオン化法）を用いて試料にレーザーを照射することにより、試料がマトリックスとともに真空中で気化され、試料とマトリックスとの間のプロトンの授受によって試料がイオン化されるようになっている。試料は、例えばプレートからなるターゲット 111 上に濃縮された状態で準備され、分析の際にターゲット 111 ごと真空状態のイオン化部 11 にセットされる。

20

【0025】

イオントラップ 12 は、例えば三次元四重極型であり、イオン化部 11 で得られたイオンを捕捉するとともに、捕捉したイオンの一部を選択的にイオントラップ 12 内に残し、CID（衝突誘起解離）により開裂させることができる。このようにして開裂されたイオンは、イオントラップ 12 から TOFMS 13 に供給される。

【0026】

TOFMS 13 では、飛行空間 131 を飛行したイオンがイオン検出器 132 により検出される。具体的には、飛行空間 131 に形成された電場により加速されたイオンが、当該飛行空間 131 を飛行する間に質量電荷比に応じて時間的に分離され、イオン検出器 132 により順次検出される。これにより、質量電荷比とイオン検出器 132 における検出強度との関係がスペクトルとして測定され、質量分析が実現される。

30

【0027】

本実施形態では、イオントラップ 12 においてイオンを開裂させて TOFMS 13 で質量分析を行うという一連の動作を繰り返し行うことにより、 MS^n 分析（ n は 2 以上の整数）を行い、 MS^n スペクトルを測定することができる。このようにして得られた MS^n スペクトルを用いてデータベース検索を行うことにより、試料成分を同定することができる。

【0028】

制御部 2 は、質量分析部 1 の動作を制御するとともに、質量分析により得られた MS^n スペクトルに対する処理を行う。記憶部 3 は、例えば RAM（Random Access Memory）、ROM（Read Only Memory）及びハードディスクなどにより構成され、制御部 2 の処理に用いられるデータや、制御部 2 の処理により生成されたデータなどが記憶される。制御部 2 及び記憶部 3 は、質量分析部 1 と一体的に構成されていてもよいし、別々に構成されていてもよい。

40

【0029】

図 2 は、制御部 2 及び記憶部 3 の具体的構成の一例を示したブロック図である。制御部 2 は、例えば CPU（Central Processing Unit）を含む構成であり、CPU がプログラムを実行することにより、 MS^n 測定処理部 21、プリカーサイオン検出処理部 22、同

50

定処理部 2 3 及びオンターゲット分離処理部 2 4 などとして機能する。

【 0 0 3 0 】

MSⁿ 測定処理部 2 1 は、質量分析部 1 で MSⁿ スペクトルを測定するための処理を行う。測定された MSⁿ スペクトルは、記憶部 3 に割り当てられたスペクトル記憶領域 3 1 に記憶される。MSⁿ 分析では、MS¹ スペクトル、MS² スペクトル、MS³ スペクトル、・・・が順次測定され、それぞれスペクトル記憶領域 3 1 に記憶される。

【 0 0 3 1 】

プリカーサイオン検出処理部 2 2 は、MSⁿ⁻¹ スペクトルに基づいて、MSⁿ スペクトルを測定する際の対象となるイオン (MSⁿ プリカーサイオン) を検出する。MSⁿ 分析では、まず、イオン化部 1 1 でイオン化された試料の質量分析 (MS¹ 分析) が TOF MS 1 3 で行われることにより、MS¹ スペクトルが測定される。このとき、MSⁿ 測定処理部 2 1 は、MS¹ 測定処理部として機能する。そして、測定された MS¹ スペクトルに基づいて、プリカーサイオン検出処理部 2 2 により MS² プリカーサイオンが検出される。

10

【 0 0 3 2 】

その後、MS² プリカーサイオンについての MS² 分析が行われる。具体的には、イオン化部 1 1 で試料をイオン化することにより得られたイオンがイオントラップ 1 2 に捕捉され、MS² プリカーサイオンとして検出されたイオンのみがイオントラップ 1 2 内に分離される。そして、イオントラップ 1 2 内に残ったイオンが CID により開裂され、TOF MS 1 3 で質量分析 (MS² 分析) が行われることにより、MS² スペクトルが測定される。このとき、MSⁿ 測定処理部 2 1 は、MS² 測定処理部として機能する。

20

【 0 0 3 3 】

同定処理部 2 3 は、測定された MSⁿ スペクトルに基づいて、試料成分を同定するための処理を行う。この例では、記憶部 3 の一部であるデータベース領域 3 2 に同定用データベースが割り当てられている。当該同定用データベースに含まれる種々の試料成分についての質量電荷比のデータと、MSⁿ スペクトルに含まれる各ピークの質量電荷比との一致度を算出することにより、試料成分を同定することができる。同定処理は、自動で行われるような構成であってもよいし、ユーザが手動で行うような構成であってもよい。

【 0 0 3 4 】

例えば MS² 分析後に試料成分を同定する際には、MS¹ スペクトルにおける MS² プリカーサイオンに対応するピークの質量電荷比と、MS² スペクトルにおける各ピークの質量電荷比とに基づいて、同定用データベースを用いたデータベース検索が行われる。その結果、同定できない成分があった場合には、MSⁿ 測定処理部 2 1 により MS³ スペクトルを測定するための処理が行われる。ただし、同定用データベースは、質量分析装置の記憶部 3 に割り当てられた構成に限らず、例えばネットワークを介して質量分析装置に接続されたデータベースを使用することも可能である。

30

【 0 0 3 5 】

オンターゲット分離処理部 2 4 は、質量分析部 1 に対して、ターゲット 1 1 1 上に濃縮されている試料を当該ターゲット 1 1 1 上で分離 (オンターゲット分離) させる処理を行う。オンターゲット分離では、公知の方法を用いて、例えばターゲット 1 1 1 上のリン酸化ペプチドをリン酸塩溶液で流して分離することができる (例えば、Analytical Chemistry, 2011年, 第83号, 761-766ページ参照)。本実施形態では、同定処理部 2 3 において同定できない成分があった場合に、オンターゲット分離を行うことができるようになっている。

40

【 0 0 3 6 】

図 3 は、MS¹ スペクトル及び MS² スペクトルの一例を示した概略図である。ここで、図 3 (a) は、ある試料に対して MS¹ 分析を行うことにより得られた MS¹ スペクトルの概略図である。また、図 3 (b) は、図 3 (a) の MS¹ スペクトルに基づいて検出された MS² プリカーサイオンについて、MS² 分析を行うことにより得られた MS² スペクトルの概略図である。

50

【0037】

本実施形態では、MS¹スペクトルに基づいてMS²プリカーサイオンを検出する際に、複数のピークに対応するイオンが検出されるようになっている。図3(a)の例では、MS¹スペクトルにおける強度又はS/N比が所定範囲L内にある複数のピークP11, P12, P13に対応するイオンが、MS²プリカーサイオンとして検出される。上記所定範囲Lは、予め定められていてもよいし、任意に設定可能であってもよい。

【0038】

上記所定範囲Lは、下限値及び上限値により規定される範囲である。したがって、強度又はS/N比が下限値に満たないピークP14, P15や、上限値を超えるピークP16に対応するイオンは、MS²プリカーサイオンとして検出されない。これにより、強度又はS/N比が比較的近い複数のピークP11, P12, P13に対応するイオンのみを、MS²プリカーサイオンとして検出することができる。

10

【0039】

MS²分析の際には、イオン化部11で試料をイオン化することにより得られたイオンがイオントラップ12に捕捉された後、MS²プリカーサイオンとして検出された複数のイオンがイオントラップ12内に分離される。そして、イオントラップ12内に残った複数のイオンがCIDにより一度に開裂され、MS²分析が行われることにより、図3(b)に示すようなMS²スペクトルが得られる。

【0040】

図4は、MSⁿ分析を行う際の制御部2による処理の一例を示したフローチャートである。MSⁿ分析を行う際には、まず、イオン化された試料の質量分析(MS¹分析)を行うことによりMS¹スペクトルを測定する(ステップS101:MS¹測定ステップ)。そして、MS¹スペクトルを解析することにより、強度又はS/N比が所定範囲内にある複数のピークに対応するイオンをMS²プリカーサイオンとして検出する(ステップS102及びS103:プリカーサイオン検出ステップ)。

20

【0041】

MS²プリカーサイオンが検出された場合には(ステップS104でYes)、試料をイオン化することにより得られたイオンをイオントラップ12内に捕捉し、MS²プリカーサイオンとして検出された複数のイオンをイオントラップ12内に残して一度に開裂させ、質量分析(MS²分析)を行うことによりMS²スペクトルを測定する(ステップS105:MS²測定ステップ)。そして、測定されたMS²スペクトルに基づいて同定処理を行うことにより、試料成分を同定する(ステップS106:同定ステップ)。

30

【0042】

その後、MS²スペクトルを解析することにより、強度又はS/N比が所定範囲内にある複数のピークに対応するイオンをMS³プリカーサイオンとして検出する(ステップS107及びS103:プリカーサイオン検出ステップ)。このとき、MS³プリカーサイオンとして検出されるイオンに対応するピークの強度又はS/N比の範囲は、MS²プリカーサイオンとして検出されるイオンに対応するピークの強度又はS/N比の範囲と同じであってもよいし、異なってもよい。

【0043】

このようにして、MSⁿプリカーサイオンが検出されなくなるまで(ステップS104でNoとなるまで)、ステップS103~S107の処理が繰り返されることによりMSⁿ分析が行われる。

40

【0044】

上記の通り、本実施形態では、MS¹スペクトルに基づいて、強度又はS/N比が所定範囲L内にある複数のピークに対応するイオンをMS²プリカーサイオンとして検出し、それらの複数のイオンをイオントラップ12内で一度に開裂させて質量分析を行うことにより、MS²スペクトルを測定することができる。このようにして得られたMS²スペクトルに基づいて、複数のピークに対応する成分を一度に同定すれば、測定回数が減少するため、試料をイオン化させる回数を減少させることができるとともに、測定時間を短縮す

50

ることができる。

【0045】

なお、上記実施形態では、強度又は S/N 比が所定範囲 L 内にあるか否かという条件のみに基づいて、複数のピークに対応するイオンを MS^2 プリカーサイオンとして検出するような構成について説明したが、これに限らず、他の条件が含まれていてもよい。例えば、質量電荷比が所定範囲内にある複数のピークのうち、強度又は S/N 比が所定範囲 L 内にある複数のピークに対応するイオンを MS^2 プリカーサイオンとして検出するような構成であってもよい。この場合、質量電荷比の範囲を複数設定し、それぞれの範囲について測定を行うことにより、測定可能な質量電荷比の範囲を複数に分割して測定するような構成であってもよい。

10

【0046】

図5は、 MS^2 プリカーサイオンに遊離しやすいイオンが含まれる場合の MS^1 スペクトル及び MS^2 スペクトルの一例を示した概略図である。ここで、図5(a)は、ある試料に対して MS^1 分析を行うことにより得られた MS^1 スペクトルの概略図である。また、図5(b)は、図5(a)の MS^1 スペクトルに基づいて検出された MS^2 プリカーサイオンについて、 MS^2 分析を行うことにより得られた MS^2 スペクトルの概略図である。

【0047】

図3の場合と同様に、 MS^1 スペクトルに基づいて MS^2 プリカーサイオンを検出する際には、複数のピークに対応するイオンが検出される。図5(a)の例では、 MS^1 スペクトルにおける強度又は S/N 比が所定範囲 L 内にある複数のピーク $P21$ 、 $P22$ 、 $P23$ 、 $P27$ に対応するイオンのうち、所定の質量電荷比 m/z の質量差で隣接するイオン $P23$ 、 $P27$ の一方(この例では低質量側のイオン $P27$)を除外したイオン $P21$ 、 $P22$ 、 $P23$ が MS^2 プリカーサイオンとして検出される。一方、強度又は S/N 比が上記所定範囲 L 内にはないピーク $P24$ 、 $P25$ 、 $P26$ に対応するイオンは、 MS^2 プリカーサイオンとして検出されない。

20

【0048】

MS^2 分析の際には、イオン化部11で試料をイオン化することにより得られたイオンがイオントラップ12に捕捉された後、 MS^2 プリカーサイオンとして検出された複数のイオンがイオントラップ12内に分離される。そして、イオントラップ12内に残った複数のイオンがCIDにより一度に開裂され、 MS^2 分析が行われることにより、図5(b)に示すような MS^2 スペクトルが得られる。

30

【0049】

この例では、 MS^2 プリカーサイオンとして検出された複数のイオンの中に遊離しやすいイオンが含まれているため、 MS^2 スペクトルを測定して得られたプロダクトイオンの中に、プリカーサイオン $P23$ の質量電荷比 m/z より所定の質量電荷比 m/z 低質量側に高強度のピーク $P27'$ が現れている。

【0050】

このように、既知の質量差 m/z から算出される所定の質量電荷比にピーク $P27'$ が現れた場合に、 MS^2 スペクトルからペプチドを同定できなかった場合には、本実施形態では、 MS^n 測定処理部21が当該ピーク $P27'$ に対応するイオンのみを開裂させて質量分析(MS^3 分析)を行うことにより、 MS^3 スペクトルを測定するようになっている。このとき、 MS^n 測定処理部21は、 MS^3 測定処理部として機能する。

40

【0051】

図6A、図6Bは、 MS^n 分析を行う際の制御部2による処理の第1変形例を部分的に示したフローチャートである。図6Aに示した処理は、 MS^2 プリカーサイオン選択時(図4におけるステップS103)、図6Bに示した処理は、 MS^2 分析時における MS^2 スペクトルに基づく同定処理後(図4におけるステップS106の後)に行うことができる。

【0052】

具体的には、図6Aに示すように、 MS^2 プリカーサイオン選択時に、 MS^1 スペクト

50

ルにおける強度又はS/N比が所定範囲L内にある複数のピークP21, P22, P23、P27のうち、所定の質量電荷比 m/zの質量差で隣接するピークP23, P27があれば(ステップS211でYes)、一方のピークを除外したMS²プリカーサイオンを選択する(ステップS212)。このとき、図5の例のように、低質量側のピークP27を除外してもよい。

【0053】

また、図6Bに示すように、同定処理の結果、MS²プリカーサイオンとして検出された複数のイオンの中に同定できない成分があった場合に(ステップS221でYes)、図6AのステップS212で除外されたピークと同じ質量電荷比を持つピークP27'があるか否かを判定する(ステップS222)。その結果、測定されたMS²スペクトルに、MS²プリカーサ候補から既知の修飾分子の質量電荷比に所定の質量差 m/zで隣接するピークとして除外されたピークP27に対応するイオンピークP27'がある場合には(ステップS222でYes)、MS²スペクトルを測定する際に開裂されたイオントラップ12内のイオンのうち、当該ピークP27'に対応するイオンのみを開裂させる。そして、開裂されたイオンに対して質量分析(MS³分析)を行うことにより、MS³スペクトルを測定する(ステップS203: MS³測定ステップ)。

10

【0054】

このように、図6の変形例では、遊離性の修飾分子及び付加体によるニュートラルロスにより生じたフラグメントイオンがMS¹スペクトルに存在している場合に、既知のニュートラルロスに対応するイオンの質量電荷比の質量差 m/zで隣接するイオンピークの一方をMS²分析対象となるプリカーサイオンから除外してMS²分析ができる。これにより、部分構造を共有する複数個のペプチド由来のプロダクトイオンが重畳し、共有しない部位の構造解析が困難となることを防ぐことが可能となる。

20

【0055】

図7は、MSⁿ分析を行う際の制御部2による処理の第2変形例を部分的に示したフローチャートである。この図7に示した処理は、MS²分析時におけるMS²スペクトルに基づく同定処理後(図4におけるステップS106の後)に行うことができる。

【0056】

具体的には、同定処理の結果、MS²プリカーサイオンとして検出された複数のイオンの中に同定できない成分があった場合に(ステップS301でYes)、同定できなかった成分に対応するイオンについて、MSⁿ測定処理部21がMS²分析を再度実行させる。すなわち、試料をイオン化することにより得られたイオンをイオントラップ12内に捕捉し、同定できなかった成分に対応するイオンのみをイオントラップ12内に残して開裂させ、質量分析を行うことによりMS²スペクトルを再測定する(ステップS302: MS²再測定ステップ)。このとき、MSⁿ測定処理部21は、MS²再測定処理部として機能する。

30

【0057】

そして、測定されたMS²スペクトルに基づいて同定処理を行うことにより、試料成分を同定する(ステップS303: 同定ステップ)。このように、図7の変形例では、各成分間のプロダクトイオン生成効率の差異などに起因して、MS²プリカーサイオンとして検出された複数のイオンの中に同定できない成分があった場合であっても、その同定できなかった成分に対応するイオンについて、MS²スペクトルを再度測定することができる。このようにして得られたMS²スペクトルに基づいて再度同定を行えば、各成分間のプロダクトイオン生成効率の差異などを考慮に入れた測定を行うことができる。

40

【0058】

なお、MS²スペクトルの再測定は、最初のMS²スペクトル測定時と同じ測定条件で行ってもよいし、異なる測定条件で行ってもよい。例えば、試料に対するレーザー照射の積算回数やレーザー強度などの測定条件を変更すれば、イオン化しにくい試料を良好に同定できる場合がある。また、図7におけるステップS301~S303の処理は、複数回繰り返し行われてもよい。

50

【 0 0 5 9 】

図 8 は、MSⁿ 分析を行う際の制御部 2 による処理の第 3 変形例を部分的に示したフローチャートである。この図 8 に示した処理は、MS² 分析時における MS² スペクトルに基づく同定処理後（図 4 におけるステップ S 1 0 6 の後）に行うことができる。

【 0 0 6 0 】

具体的には、同定処理の結果、MS² プリカーサイオンとして検出された複数のイオンの中に同定できない成分があった場合に（ステップ S 4 0 1 で Yes）、オンターゲット分離処理部 2 4 が、ターゲット 1 1 1 上に濃縮されている試料に対してオンターゲット分離を行うための処理を実行する（ステップ S 4 0 2：オンターゲット分離ステップ）。そして、オンターゲット分離が行われた試料に対して、MSⁿ 測定処理部 2 1 が MS¹ 分析を再度実行させることにより、MS¹ スペクトルが測定される（ステップ S 4 0 3：MS¹ 再測定ステップ）。このとき、MSⁿ 測定処理部 2 1 は、MS¹ 再測定処理部として機能する。

10

【 0 0 6 1 】

図 8 の変形例では、MS² プリカーサイオンとして検出された複数のイオンの中に同定できない成分があった場合であっても、オンターゲット分離が行われた試料に対して、MS¹ 分析を再度実行させることにより、その成分を同定することができる場合がある。また、オンターゲット分離を行う前の試料では MS¹ スペクトルにピークとして現れなかった成分が、オンターゲット分離を行うことによりピークとして現れる場合がある。したがって、オンターゲット分離が行われた試料に対して、MS¹ 分析を再度実行させることにより、より多くの成分を同定することができる。

20

【 0 0 6 2 】

なお、図 8 の処理が行われた後は、図 4 におけるステップ S 1 0 2 から次の処理を行うことができる。また、図 8 におけるステップ S 4 0 1 ~ S 4 0 3 の処理は、複数回繰り返し行われてもよい。

【 0 0 6 3 】

以上の実施形態では、質量分析装置が MALDI - IT - TOFMS である場合について説明した。しかし、このような構成に限らず、例えばイオン化部 1 1 が MALDI 以外のレーザー照射を利用したイオン化法を用いて、試料をイオン化させるような構成であってもよい。

30

【 0 0 6 4 】

また、TOFMS 1 3 に限らず、磁場型質量分析計、四重極型質量分析計、フーリエ変換イオンサイクロトロン共鳴型質量分析計などの他の質量分析計を用いて質量分析を行うような構成であってもよいし、イオントラップ 1 2 自体の質量分離機能を利用して質量分析を行うような構成であってもよい。

【 符号の説明 】

【 0 0 6 5 】

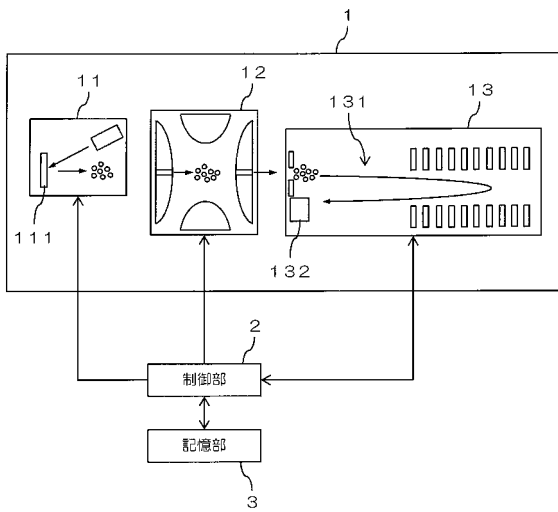
- 1 質量分析部
- 2 制御部
- 3 記憶部
- 1 1 イオン化部
- 1 2 イオントラップ
- 1 3 TOFMS
- 2 1 測定処理部
- 2 2 プリカーサイオン検出処理部
- 2 3 同定処理部
- 2 4 オンターゲット分離処理部
- 3 1 スペクトル記憶領域
- 3 2 データベース領域
- 1 1 1 ターゲット

40

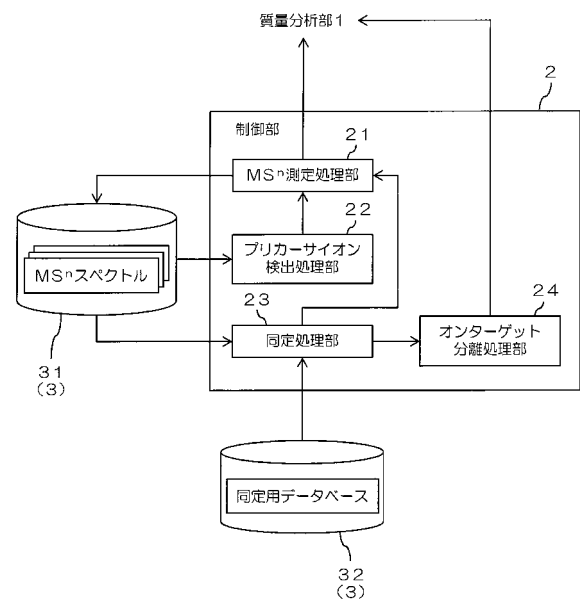
50

- 1 3 1 飛行空間
- 1 3 2 イオン検出器

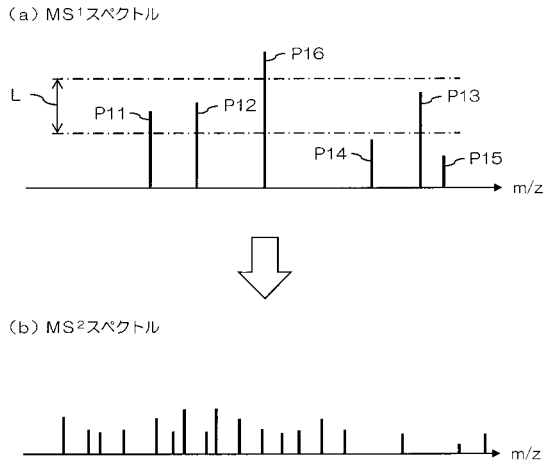
【 図 1 】



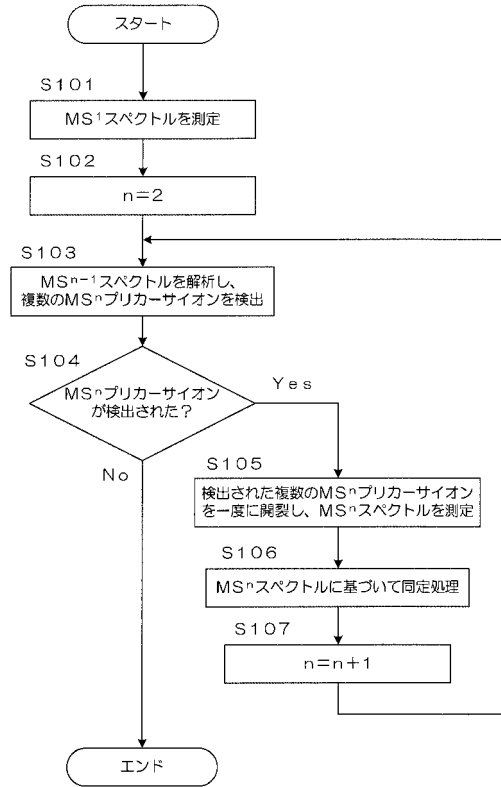
【 図 2 】



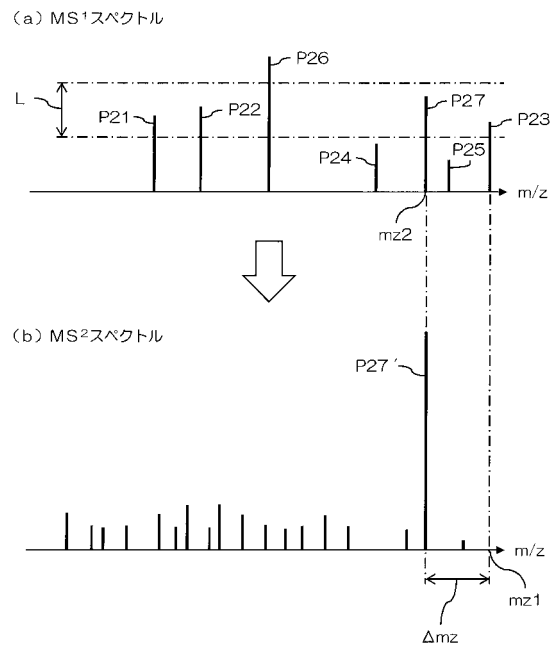
【 図 3 】



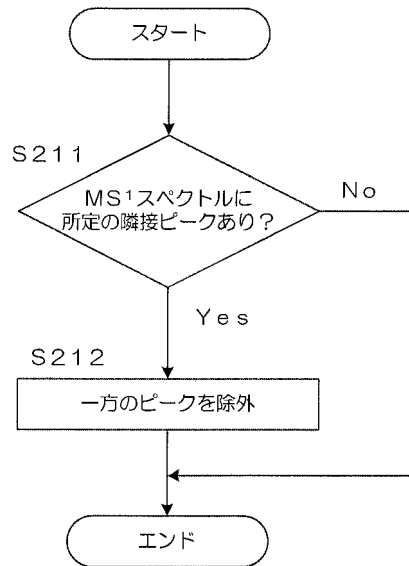
【 図 4 】



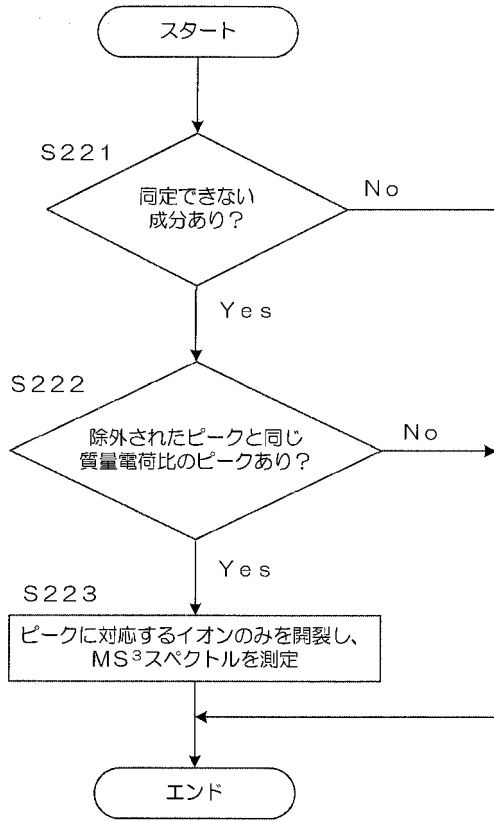
【 図 5 】



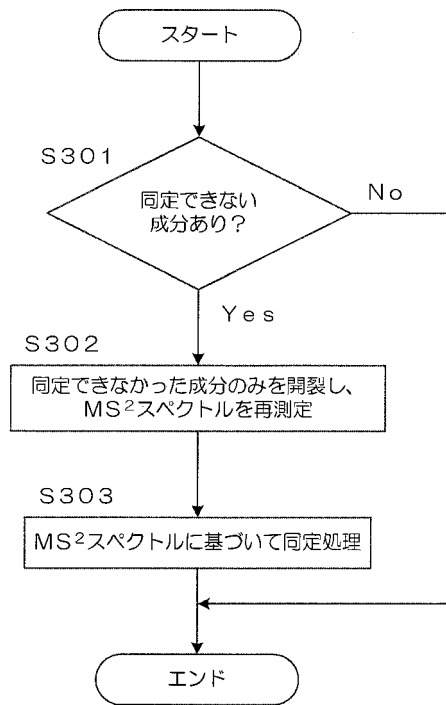
【 図 6 A 】



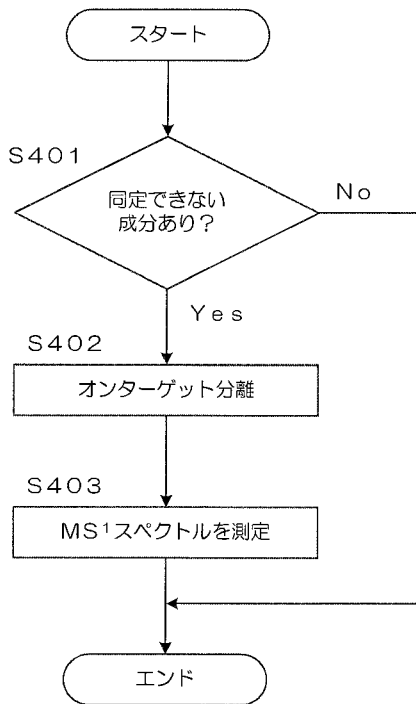
【 図 6 B 】



【 図 7 】



【 図 8 】



【 図 9 】

