(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2024年9月12日(12.09.2024)

WIPO | PCT

(10) 国際公開番号
WO 2024/185286 A1

(51) 国際特許分類:
G01N 27/62 (2021.01)

(21) 国際出願番号： PCT/JP2024/000366

(22) 国際出願日： 2024年1月11日(11.01.2024)

(25) 国際出願の言語： 日本語

(26) 国際公開の言語： 日本語

(30) 優先権データ：
特願 2023-034857 2023年3月7日(07.03.2023) JP

(71) 出願人: 株式会社島津製作所 (**SHIMADZU CORPORATION**) [JP/JP]; 〒6048511 京都府京都市中京区西ノ京桑原町１番地 Kyoto (JP).

(72) 発明者: 奥田 晃士 (**OKUDA, Koji**); 〒6048511 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 Kyoto (JP). 山口 真一 (**YAMAGUCHI, Shinichi**); 〒6048511 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 Kyoto (JP).

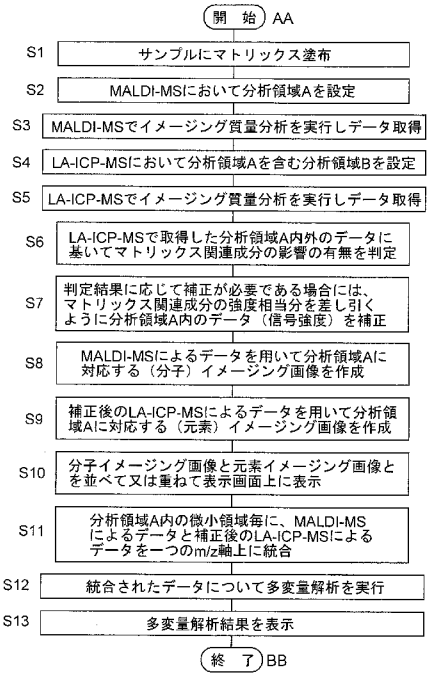
(74) 代理人: 弁理士法人京都国際特許事務所 (**KYOTO INTERNATIONAL PATENT LAW OFFICE**); 〒6008091 京都府京都市下京区東洞院通四条下ル元悪王子町３７番地 豊元四条烏丸ビル Kyoto (JP).

(81) 指定国(表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CV, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IQ, IR, IS, IT, JM, JO, JP, KE, KG,

WO 2024/185286 A1

(54) **Title:** ANALYSIS METHOD EMPLOYING IMAGING MASS SPECTROMETRY

(54) 発明の名称： イメージング質量分析を用いた解析方法



S1 Apply matrix to sample
S2 Set analysis region A in MALDI-MS
S3 Use MALDI-MS to perform imaging mass spectrometry to acquire data
S4 Set analysis region B including analysis region A in LA-ICP-MS
S5 Use LA-ICP-MS to perform imaging mass spectrometry to acquire data
S6 Determine whether or not matrix-related components have impact, on basis of data inside and outside analysis region A, acquired by LA-ICP-MS
S7 If correction is necessary in accordance with determination result, correct data (signal intensity) in analysis region A to subtract intensity equivalent of matrix-related components
S8 Use data obtained by MALDI-MS to create (molecular) imaging image corresponding to analysis region A
S9 Use corrected data obtained by LA-ICP-MS to create (elemental) imaging image corresponding to analysis region A
S10 Display molecular imaging image and elemental imaging image side-by-side or overlapping on display screen
S11 For each microregion in analysis region A, integrate data obtained by MALDI-MS and corrected data obtained by LA-ICP-MS onto one m/z axis
S12 Perform multivariate analysis for integrated data
S13 Display multivariate analysis result
AA Start
BB End

(57) **Abstract:** One aspect of the present invention provides an analysis method employing MALDI-MS and LA-ICP-MS, both of which are capable of performing imaging mass spectrometry, the method including: a step (S2) for setting a region A on a sample coated with a matrix; a step (S3) for employing MALDI-MS to perform mass spectrometry for each of a plurality of microregions within region A; a step (S4) for setting a region B on the sample including all of region A and a range, different from region A, in which the matrix is present; a step (S5) for employing LA-ICP-MS to perform

[続葉有]

KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MU, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW.

(84) 指定国(表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能)：ARIPO (BW, CV, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SC, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, ME, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類：

— 国際調査報告（条約第21条(3)）

mass spectrometry for each of the plurality of microregions within region B; a step (S6) for determining whether or not matrix-related components have an impact, on the basis of data within region A and data in a range outside region A, obtained by LA-ICP-MS; and a step (S7) for correcting a signal intensity in the data obtained in S5, as necessary, on the basis of the result of the determination.

(57) 要約：本発明の一態様は、いずれもイメージング質量分析が可能なＭＡＬＤＩ－ＭＳとＬＡ－ＩＣＰ－ＭＳとを用いた解析方法であり、マトリックスを塗布した試料上で領域Ａを設定するステップ（Ｓ２）と、ＭＡＬＤＩ－ＭＳを用い領域Ａ内の複数の微小領域の各々について質量分析を実行するステップ（Ｓ３）と、前記試料上で領域Ａの全てと、領域Ａとは異なる、マトリックスが存在する範囲と、を含む領域Ｂを設定するステップ（Ｓ４）と、ＬＡ－ＩＣＰ－ＭＳを用い領域Ｂ内の複数の微小領域の各々について質量分析を実行するステップ（Ｓ５）と、ＬＡ－ＩＣＰ－ＭＳによる領域Ａ内のデータと領域Ａの外側の範囲のデータとに基いてマトリックス関連成分の影響の有無を判定するステップ（Ｓ６）と、その判定結果に基いて必要に応じて、Ｓ５で得られたデータにおける信号強度を修正するステップ（Ｓ７）と、を含む。

明　細　書

発明の名称 ： イメージング質量分析を用いた解析方法

技術分野

[0001] 本発明は、試料に含まれる成分の空間的分布を可視化するイメージング質量分析を用いた試料の解析方法に関する。

背景技術

[0002] 近年、医療分野、生化学分野などの各種分野において、試料に含まれる成分の空間的分布を可視化するイメージング質量分析の利用が進展している。マトリックス支援レーザー脱離イオン化（Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization：ＭＡＬＤＩ）質量分析装置を利用したイメージング質量分析装置（以下「ＭＡＬＤＩ－ＭＳ」ということがある）では、試料内に存在するタンパク質、アミノ酸、脂質などの各種の有機化合物の分子イメージングを行うことができる。一方、レーザーアブレーション装置と誘導結合プラズマ質量分析装置とを組み合わせたレーザーアブレーション誘導結合プラズマ質量分析装置（以下「ＬＡ－ＩＣＰ－ＭＳ」ということがある）では、試料内に存在する各種金属元素等の元素イメージングを行うことができる（特許文献１等参照）。このため、それら二つの質量分析装置を組み合わせることで、試料内に存在する物質の分子イメージングと元素イメージングとの両方の情報を取得し、それらを関連付けた解析を実施することができる。

[0003] 例えば非特許文献１には、上記二つの質量分析装置から得られた分子イメージング画像と元素イメージング画像とを同一画面内に並べて表示するマルチモーダルイメージングシステムが開示されている。

先行技術文献

特許文献

[0004] 特許文献1：特開２０１９－１９０８４１号公報

非特許文献

[0005] 非特許文献1：「Multimodal Imaging System」、［online］、［２０２３年

３月７日検索］、株式会社島津製作所、インターネット＜URL: https://www.shimadzu.com/an/sites/shimadzu.com.an/files/pim/pim_document_file/brochures/13216/c146-e423_1.pdf＞

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0006] ＬＡ－ＩＣＰ－ＭＳでは、レーザー光の照射によって試料表面に存在する物質が大部分消失する。そのため、ＬＡ－ＩＣＰ－ＭＳによる分析は実質的に破壊的な分析であり、ＬＡ－ＩＣＰ－ＭＳによる分析後の試料をＭＡＬＤＩ－ＭＳによる分析に供することは不可能である。一方、ＭＡＬＤＩ－ＭＳによる分析ではＭＡＬＤＩ用マトリックスを試料の表面に塗布するため、ＭＡＬＤＩ－ＭＳによる分析後の試料をＬＡ－ＩＣＰ－ＭＳによる分析に供すると、その分析結果はマトリックス自体やマトリックスを塗布する作業に関連する夾雑物の影響を受けるおそれがある。また、ＭＡＬＤＩ－ＭＳでの分析時に形成されるレーザー照射痕により信号強度が低下する懸念もある。こうしたことから、上述した従来のマルチモーダルイメージングシステムを用いた解析では、ＭＡＬＤＩ－ＭＳによる分析とＬＡ－ＩＣＰ－ＭＳによる分析とを、それぞれ異なる試料、典型的には分析対象物を連続的にスライスすることで得た異なる切片試料に対して実施している。

[0007] しかしながら、同じ分析対象物由来の連続的な切片試料であっても、その形状は同一ではなく、ＭＡＬＤＩ－ＭＳで得られた分子イメージング画像とＬＡ－ＩＣＰ－ＭＳで得られた元素イメージング画像とを重ね合わせるには、画像変形処理を伴う煩雑な位置合わせの作業が必要である。また、そもそも連続的な切片試料であっても含有成分の分布が完全に同一というわけではないため、従来の方法では、分子イメージング画像と元素イメージング画像とを重ね合わせた解析を十分に高い精度を以て行うことは難しい。

[0008] 本発明はこうした課題を解決するために成されたものであり、その主たる目的は、ＭＡＬＤＩ－ＭＳにより得られた分子イメージング画像とＬＡ－ＩＣＰ－ＭＳにより得られた元素イメージング画像との煩雑な位置合わせ処理

を行うことなく、精度の高い重ね合わせ解析を簡便に行うことができるイメージング質量分析を用いた解析方法を提供することである。

課題を解決するための手段

[0009] 本発明に係るイメージング質量分析を用いた解析方法の一態様は、イメージング質量分析が可能であるマトリックス支援レーザー脱離イオン化質量分析装置と、イメージング質量分析が可能であるレーザーアブレーション誘導結合プラズマ質量分析装置と、を用いた解析方法であって、

マトリックスを塗布した試料上で第１の分析領域を設定する第１領域設定ステップと、

マトリックス支援レーザー脱離イオン化質量分析装置を用い、前記第１の分析領域内の複数の微小領域のそれぞれについて質量分析を実行して質量分析データを取得する第１分析実行ステップと、

マトリックスを塗布した前記試料上で、前記第１の分析領域の全てと、該第１の分析領域とは異なる、マトリックスが存在する範囲と、を含む第２の分析領域を設定する第２領域設定ステップと、

レーザーアブレーション誘導結合プラズマ質量分析装置を用い、前記第２の分析領域内の複数の微小領域のそれぞれについて質量分析を実行して質量分析データを取得する第２分析実行ステップと、

前記第２分析実行ステップで取得された、前記第１の分析領域内の質量分析データと該第１の分析領域の外側の範囲の質量分析データとに基いて、該第２の分析実行ステップでの質量分析におけるマトリックスに関連する成分の影響の有無を判定する判定ステップと、

前記判定ステップによりマトリックス関連成分の影響が有ると判定された場合、必要に応じて前記第２分析実行ステップで得られた質量分析データにおける信号強度情報を修正する情報修正ステップと、

を含む。

[0010] なお、第２領域設定ステップは、第１分析実行ステップの実行後、つまり第１の分析領域についてのイメージング質量分析の実行後に行ってもよいが

、第１分析実行ステップの実行前に第２領域設定ステップを実行し、第１の分析領域及び第２の分析領域の両方が決まった状態で第１分析実行ステップ及び第２分析実行ステップを順次実行するようにしてもよい。

発明の効果

[0011] 本発明に係るイメージング質量分析を用いた解析方法の上記態様では、マトリックスに含まれる又はマトリックス塗布作業の過程で混入する成分（夾雑物）がレーザーアブレーション誘導結合プラズマ質量分析装置により得られた質量分析データに影響しているか否かを把握することができる。即ち、夾雑物に対応する質量電荷比における信号強度情報を把握できる。さらに、例えば、夾雑物の影響が無視できない程度に大きい場合に、夾雑物により影響を受けた信号強度情報の補正を行うことができ、より精度の高い質量分析データを用いて元素イメージング画像を作成することができる。これにより、この解析方法によれば、別々の試料を用いるのではなく、同一の試料を用いてＭＡＬＤＩ－ＭＳによる分子イメージングとＬＡ－ＩＣＰ－ＭＳによる元素イメージングとを行うことが可能であり、画像変形処理を伴う煩雑な位置合わせ処理を行うことなく、精度の高い重ね合わせ解析を簡便に行うことができる。

図面の簡単な説明

[0012] [図1]本発明に係る解析方法を実施するためのマルチモーダルイメージングシステムの一実施形態の概略構成図。

[図2]本実施形態のマルチモーダルイメージングシステムにおける、解析手順の一例を示すフローチャート。

[図3]本実施形態のマルチモーダルイメージングシステムにおける、ＭＡＬＤＩ－ＭＳによる分析対象の領域を設定する作業の一例の説明図。

[図4]本実施形態のマルチモーダルイメージングシステムにおける、ＬＡ－ＩＣＰ－ＭＳによる分析対象の領域を設定する作業の一例の説明図。

[図5]本実施形態のマルチモーダルイメージングシステムにおける、夾雑物の影響を判定する作業の模式図。

[図6]本実施形態のマルチモーダルイメージングシステムにおける、ＬＡ－ＩＣＰ－ＭＳによる分析対象の領域を設定する作業の他の例の説明図。

発明を実施するための形態

[0013] 以下、本発明に係る解析方法の一例について、添付の図面を参照して説明する。

図１は、この解析方法を実施するためのマルチモーダルイメージングシステムの一実施形態の概略構成図である。

[0014] 図１に示すように、本実施形態のマルチモーダルイメージングシステムは、マトリックス塗布装置１、イメージング質量分析装置（ＭＡＬＤＩ－ＭＳ装置）２、レーザーアブレーション誘導結合プラズマ質量分析装置（ＬＡ－ＩＣＰ－ＭＳ装置）３、制御・処理装置４、を含む。制御・処理装置４の実体はパーソナルコンピューター（又はより高性能なコンピューター）であり、そのパーソナルコンピューターには専用の制御・処理用ソフトウェアがインストールされている。この制御・処理装置４には、キーボード等を含む入力部５と、ディスプレイモニターである表示部６が接続されている。

[0015] マトリックス塗布装置１は、スライドグラス１００上に載置されたサンプル１０１の表面にＭＡＬＤＩ用マトリックスを薄く塗布する装置である。マトリックス塗布装置１としては、例えば島津製作所製の「ｉＭＬａｙｅｒ」、「ｉＭＬａｙｅｒ　ＡＥＲＯ」などを用いることができる。サンプル１０１は例えば、マウスなどの実験動物の臓器を薄くスライスすることで得た切片試料である。

[0016] ＭＡＬＤＩ－ＭＳ装置２は、マトリックス支援レーザー脱離イオン化質量分析装置を用いたイメージング質量分析装置であり、マトリックスが塗布されたサンプル１０１上に設定された所定の分析領域の範囲内について、所定の間隔離れた位置に順次レーザー光を照射し、それによってそのサンプル１０１の各位置を含む微小領域から生成された各種イオンを質量分析することで質量分析データを収集する。通常、イメージング質量分析装置２では、上記分析領域内の微小部位毎に、所定の質量電荷比（m/z）範囲に亘るイオン強

度信号を質量分析データとして取得することができる。ＭＡＬＤＩ－ＭＳ装置２としては、例えば島津製作所製の「ｉＭＳｃｏｐｅ™　ＱＴ」を用いることができる。

[0017] ＬＡ－ＩＣＰ－ＭＳ装置３は、レーザーアブレーション装置と誘導結合プラズマ質量分析装置とを組み合わせたものであり、サンプル１０１上に設定された所定の分析領域の範囲内について、レーザー光の照射位置を線状に走査しながら、所定の時間経過毎に、つまりはレーザー光がサンプル１０１上の所定の長さの範囲を照射する毎に、予め設定された一又は複数のm/z値におけるイオン強度信号を質量分析データとして取得することができる。ＬＡ－ＩＣＰ－ＭＳ装置３としては、島津製作所製の「ＩＣＰＭＳ－２０３０」とレーザーアブレーション装置との組合せを用いることができる。

[0018] 制御・処理装置４は、機能ブロックとして、データ記憶部４０、マトリックス影響判定部４１、マトリックス影響補正部４２、イメージング画像作成部４３、統合スペクトルデータ作成部４４、多変量解析処理部４５、位置ずれ修正部４６、領域設定部４７、表示処理部４８、制御部４９などを含む。

[0019] 次に、本実施形態のマルチモーダルイメージングシステムを用いた特徴的な解析の一例について、図１に加え、図２～図５を参照して説明する。図２は、この解析の手順を示すフローチャートである。図３は、サンプル１０１上にＭＡＬＤＩ－ＭＳによる分析対象の領域を設定する作業の一例の説明図である。図４は、サンプル１０１上にＬＡ－ＩＣＰ－ＭＳによる分析対象の領域を設定する作業の一例の説明図である。図５は、収集した質量分析データに基いて夾雑物の影響を判定する作業の模式図である。

[0020] 最初に、ユーザーはサンプル１０１をスライドグラス１００上に載せ、マトリックス塗布装置１にセットして所定の操作を行う。これにより、マトリックス塗布装置１は、サンプル１０１の上にマトリックスを薄く塗布する（ステップＳ１）。マトリックスはサンプル１０１全体を含むスライドグラス１００上の広い範囲に亘って略一様に塗布されるため、サンプル１０１の外側ではスライドグラス１００上に直接マトリックスが塗布される。従って、

スライドグラス１００上には、サンプル１０１とマトリックスとが共に存在する部分と、サンプル１０１が存在せずマトリックスのみが存在する部分とが形成される。なお、よく知られているように、マトリックスとしては様々な化合物が用いられ、サンプル１０１の種類や分析目的の物質などに応じて適宜選択される。

[0021] 次いで、ユーザーはマトリックスが塗布されたスライドグラス１００をＭＡＬＤＩ－ＭＳ装置２の所定位置にセットし、サンプル１０１上で分子イメージングを行いたい分析領域Ａを設定する（ステップＳ２）。一般に、この分析領域Ａは関心領域（Region of Interest：ＲＯＩ）と呼ばれる。

[0022] ステップＳ２における具体的な手順として、ユーザーは、ＭＡＬＤＩ－ＭＳ装置２に付設されている顕微鏡を用いてサンプル１０１上面の顕微観察を行い、図３（Ａ）に示すように、表示部６の画面上に表示した顕微観察画像上で分析領域Ａの範囲を指示する。この分析領域Ａの指示は、領域設定部４７の制御の下で、ユーザーが顕微観察画像上でマウス等のポインティングデバイスによる操作を行って領域指定枠の大きさや位置を変化させることにより行うことができる。なお、図３（Ａ）に示す例では、領域指定枠の形状は矩形状であるが、この形状を任意に変更できるようにしてもよい。

[0023] 分析領域Ａの設定が終了し、ユーザーが入力部５で所定の操作を実施すると、制御部４９の制御の下でＭＡＬＤＩ－ＭＳ装置２は、サンプル１０１上に設定された分析領域Ａ内についてのイメージング質量分析を実行する（ステップＳ３）。

[0024] 具体的には、ＭＡＬＤＩ－ＭＳ装置２では、スライドグラス１００の上面に平行な面内で互いに直交するＸ軸方向及びＹ軸方向にそれぞれ所定の距離づつステップ状にスライドグラス１００を移動させながら、小径に絞ったレーザー光をサンプル１０１上の分析領域Ａ内にパルス状に照射し、その照射位置付近から発生したイオンを収集して質量分析を実行する。１回のレーザー光照射によって、所定のm/z範囲に亘る質量分析データ（マススペクトルデータ）を得ることができる。但し、ＭＡＬＤＩ法では１回のレーザー光照射

で生成されるイオンの量が必ずしも多くない。そこで、サンプル１０１上の同じ位置又はごく近接した位置に複数回レーザー光を照射し、そのレーザー光照射毎に得られた質量分析データを積算するようにしてもよい。こうした、サンプル１０１上の所定の分析領域Ａに対するイメージング質量分析のやり方は、従来の一般的なイメージング質量分析装置における分析方法と全く同じである。

[0025] ステップＳ３では、図３（Ｂ）に示すような分析領域Ａ内の多数の微小領域（レーザー光照射位置）それぞれにおいて、所定のm/z範囲のマススペクトルデータが得られる。こうしてＭＡＬＤＩ－ＭＳ装置２において収集された大量のデータは、制御・処理装置４に送られ、データ記憶部４０に一旦記憶される。

[0026] 次に、ユーザーはＭＡＬＤＩ－ＭＳ装置２から分析済みのスライドグラス１００を取り出し、それをＬＡ－ＩＣＰ－ＭＳ装置３の所定位置にセットする。そして、サンプル１０１上で分析領域Ａ全体を含むＬＡ－ＩＣＰ－ＭＳ分析対象の分析領域Ｂを設定する（ステップＳ４）。

[0027] ステップＳ４における具体的な手順として、ユーザーは、まず、ＬＡ－ＩＣＰ－ＭＳ装置３（厳密にはレーザーアブレーション装置）に備えられている顕微鏡を用い、サンプル１０１上面の顕微観察を行う。このときの顕微観察画像上では、図４（Ａ）に示すように、ＭＡＬＤＩ－ＭＳ分析によるレーザー照射痕が明瞭に観察可能である。そこで、ユーザーはそのレーザー照射痕から分析領域Ａの境界を認識し、それよりも広く且つサンプル１０１を外れてスライドグラス１００上に直接マトリックスが載っている部分を含むように、分析領域Ｂを設定する（図４（Ｂ）参照）。この分析領域Ｂの指示も、領域設定部４７の制御の下で、ユーザーが顕微観察画像上でマウス等のポインティングデバイスによる操作を行って領域指定枠の大きさや位置を変化させることにより行うことができる。

[0028] なお、ここでは、ＭＡＬＤＩ－ＭＳ装置２とＬＡ－ＩＣＰ－ＭＳ装置３とで同一スライドグラス１００上の同一のサンプル１０１に対してイメージン

グ質量分析を実行するため、両装置２、３においてスライドグラス１００をセットする際の基準位置がそれぞれ一意に定まっており且つ両者の基準位置の対応が明確であれば、ＭＡＬＤＩ－ＭＳ装置２で得られた顕微観察画像におけるサンプル像とＬＡ－ＩＣＰ－ＭＳ装置３で得られた顕微観察画像におけるサンプル像とで位置ずれは生じない。つまりは特別な位置合せ処理を行う必要はない。また、両装置２、３においてスライドグラス１００をセットする際の基準位置がそれぞれ一意に定まっていない又は両者の基準位置が対応付けられていない場合であっても、サンプル像の形状は同一であるため、位置ずれ修正部４６は、ＭＡＬＤＩ－ＭＳ装置２で得られた顕微観察画像におけるサンプル像とＬＡ－ＩＣＰ－ＭＳ装置３で得られた顕微観察画像におけるサンプル像とを用いて、簡単な処理（Ｘ－Ｙ面内での移動及び回転操作）でその両像の間の位置ずれを修正することができる。

[0029] ステップＳ４での分析領域Ｂの設定が終了し、ユーザーが入力部５で所定の操作を実施すると、制御部４９の制御の下で、ＬＡ－ＩＣＰ－ＭＳ装置３はサンプル１０１上に設定された分析領域Ｂ内についてのイメージング質量分析を実行する（ステップＳ５）。

[0030] ＬＡ－ＩＣＰ－ＭＳ装置３は、ＭＡＬＤＩ－ＭＳ装置２とは異なり、所定のm/z範囲に亘るイオン強度データを全て収集するのではなく、予め指定された一又は複数の特定のm/z値におけるイオン強度データを選択的に収集する。通常、この特定のm/z値は、ユーザーが着目するつまりは観測したい元素に応じて決められる。例えば、ユーザーがサンプル１０１中の鉄（Ｆｅ）の分布を観察したいのであれば、Ｆｅに対応するm/z値が観察対象のm/z値として指定される。

[0031] また、ＬＡ－ＩＣＰ－ＭＳ装置３は、ステップ状にサンプル１０１を移動させるのではなく、分析領域Ｂ内でＸ軸方向に連続的にサンプル１０１を移動させる。このとき、レーザー光はサンプル１０１に対して実質的に連続的に照射され、所定のレーザー照射時間が経過する毎に、そのレーザー照射時間内に収集された特定のm/z値を有するイオンに対する強度信号がm/z値毎に

積算される。従って、サンプル１０１上の所定の微小領域（Ｘ軸に沿った方向の所定長さの領域）毎に特定のm/z値におけるイオン強度データが質量分析データとして得られる。ここでは、ＭＡＬＤＩ－ＭＳ装置２におけるイメージング質量分析の空間分解能と、ＬＡ－ＩＣＰ－ＭＳ装置３におけるイメージング質量分析の空間分解能とが略同じになるように、ＭＡＬＤＩ－ＭＳ装置２におけるレーザー照射位置の間隔とＬＡ－ＩＣＰ－ＭＳ装置３における微小領域のサイズとが設定されている。

[0032] ステップＳ５では、図４（Ｃ）に示すような分析領域Ｂ内の多数の微小領域それぞれにおいて、特定のm/z値におけるイオン強度データが得られる。このステップＳ５におけるイメージング質量分析により収集されたデータも、制御・処理装置４に送られ、データ記憶部４０に一旦記憶される。

[0033] ＬＡ－ＩＣＰ－ＭＳ装置３でのイメージング質量分析が終了すると、制御・処理装置４においてマトリックス影響判定部４１は、ステップＳ５において収集されたデータの一部を用いてマトリックスの影響の有無を判定する処理を実施する（ステップＳ６）。

[0034] マトリックスの影響の有無は次のように判定することができる。

図４（Ｃ）に示したように、ＬＡ－ＩＣＰ－ＭＳ装置３によるイメージング質量分析では、マトリックスのみがスライドグラス１００上に存在する微小領域のイオン強度データも取得される。従って、図５に示すように、分析領域Ｂ内には、サンプル１０１上にマトリックスが存在し且つＭＡＬＤＩ－ＭＳ装置２による分析がなされた（つまりはＭＡＬＤＩ－ＭＳ装置２によりレーザー光が照射された）第１部位Ｂ１と、サンプル１０１上にマトリックスが存在し且つＭＡＬＤＩ－ＭＳ装置２による分析がなされていない第２部位Ｂ２と、マトリックスのみが存在している（サンプル１０１は存在しない）第３部位Ｂ３と、が存在する。

[0035] 第３部位Ｂ３にある微小領域から得られた質量分析データには、もともとマトリックスに含まれる成分（元素）と、マトリックス塗布装置１でマトリックスを塗布する作業の際に混入した成分、例えばマトリックスが流通する

配管から溶け出した成分（以下、これら成分を併せて「マトリックス関連成分」という）などが反映される。これに対し、第１部位Ｂ１及び第２部位Ｂ２にある微小領域から得られた質量分析データには、マトリックス関連成分とサンプル１０１に含まれる成分との両方が反映される。但し、第１部位Ｂ１では、ＭＡＬＤＩ－ＭＳ装置２によるイメージング質量分析のためにマトリックス関連成分やサンプル１０１に含まれる成分の一部が失われている可能性がある。

[0036] いま一例として、m/z Ｍ１、m/z Ｍ２の二つのm/z値がステップＳ５におけるイメージング質量分析の対象のm/z値であるとし、その二つのm/z値におけるイオン強度データが図５に示すように得られたものとする。第３部位Ｂ３にある微小領域から得られた質量分析データにおいて、分析対象のm/z値におけるイオン強度が実質的にゼロである場合（図５中のm/z Ｍ２の場合）には、そのm/z値におけるマトリックス関連成分の影響は無いと判定することができる。実際には、例えばそのm/z値におけるイオン強度が所定の閾値以下である場合に、そのm/z値におけるマトリックス関連成分の影響は無いと判定すればよい。一方、分析対象のm/z値におけるイオン強度が実質的にゼロでない（図５中のm/z Ｍ１の場合）には、そのm/z値におけるマトリックス関連成分の影響が有ると判定することができる。

[0037] なお、マトリックスのみを事前に（つまり予備実験により）質量分析することで、該マトリックスに含まれる元素を把握することが可能である。但し、その場合には、マトリックス塗布装置１を用いた塗布作業の過程で混入する夾雑物を把握することができない。そうした夾雑物の混入の状況は装置１の使用状況によっても変化する。これに対し、実際にサンプル１０１を載せたスライドグラス１００に塗布したマトリックスを分析することにより、サンプル１０１に塗布されたマトリックスの状態を反映したイオン強度データを得ることができるという利点がある。

[0038] 分析対象のm/z値においてマトリックス関連成分の影響が有ると判定された場合、マトリックス影響補正部４２は、分析領域Ａ内、つまりは第１部位Ｂ

１にある微小領域から得られた同m/z値におけるイオン強度を補正する処理を行う（ステップＳ７）。図５に示す例では、m/z Ｍ２におけるイオン強度は補正せず、m/z Ｍ１におけるイオン強度を補正する。ステップＳ７における最も簡便な一つの補正方法としては、第１部位Ｂ１にある各微小領域から得られた同m/z値におけるイオン強度Ｉｓから、第３部位Ｂ３にある微小領域から得られた同m/z値におけるイオン強度Ｉｍを差し引く計算を行えばよい。このとき、イオン強度Ｉｍとしては、第３部位Ｂ３にある複数の微小領域から得られた同m/z値におけるイオン強度の平均を用いることが好ましい。これにより、イオン強度におけるマトリックス関連成分の影響を実質的に無くす又は少なくとも軽減することができる。

[0039] 上述した最も簡便な補正方法では、ＭＡＬＤＩ－ＭＳ装置２による質量分析の際にマトリックス関連成分の量が減少する可能性があることを考慮していない。言い換えれば、その減少が元の成分量に比べて無視し得る程度であれば、上述した最も簡便な方法を用いることができる。一方、ＭＡＬＤＩ－ＭＳ装置２による質量分析の際におけるマトリックス関連成分の量の減少を無視することができない場合には、その減少分を反映した処理を補正の際に行うとよい。

[0040] 具体的には、第１部位Ｂ１と第２部位Ｂ２とのそれぞれにおいて互いに近い位置にある微小領域では、分析前のサンプル１０１に含まれる成分の量はほぼ同じであると推定できる。そこで、それら微小領域から得られた分析対象のm/z値におけるイオン強度の差は、ＭＡＬＤＩ－ＭＳ装置２による質量分析の際の減少分に相当すると推定し得る。即ち、第１部位Ｂ１にある微小領域から得られたイオン強度データと第２部位Ｂ２にある微小領域から得られたイオン強度データとを用いて、ＭＡＬＤＩ－ＭＳ装置２による質量分析によって減少したと推定できる分析対象のm/z値におけるイオン強度Ｉｄを計算することができる。そこで、第３部位Ｂ３にある微小領域から得られた同m/z値におけるイオン強度Ｉｍから、その減少分のイオン強度Ｉｄを差し引き、このＩｍ－Ｉｄが第１部位Ｂ１にある微小領域から得られたイオン強度Ｉｓ

におけるマトリックス関連成分の影響であるとみなして差し引く処理、つまりＩｓ－（Ｉｍ－Ｉｄ）の計算を実行すればよい。

[0041] なお、ステップＳ６、Ｓ７の処理を実行する際には、分析領域Ｂ内における第１乃至第３部位Ｂ１～Ｂ３の認識が必要である。第１部位Ｂ１は分析領域Ａと一致しているから問題ないが、第２部位Ｂ２と第３部位Ｂ３との識別にはサンプル１０１の有無の認識が必要である。この認識は、例えば分析領域Ｂの設定の際に或いはステップＳ６の実行時に、ユーザーが目視で顕微観察画像を確認することにより行うことができる。また、ユーザーの判断に頼るのではなく、画像認識処理を利用して自動的に第２部位Ｂ２と第３部位Ｂ３とが識別されるようにしてもよい。

[0042] 上述したように、ここでは、第１部位Ｂ１と第３部位Ｂ３とにそれぞれ存在する微小領域から得られた質量分析データから、又は、第１部位Ｂ１、第２部位Ｂ２及び第３部位Ｂ３にそれぞれ存在する微小領域から得られた質量分析データから、分析対象のm/z値におけるマトリックス関連成分の影響の有無を判定することができる。そして、その判定の結果、マトリックス関連成分の影響が無視できないと判断し得る場合には、分析対象のm/z値におけるイオン強度を補正することでマトリックス関連成分の影響を軽減することができる。これによって、ＭＡＬＤＩ－ＭＳ装置２による質量分析に用いられたサンプル１０１をそのままＬＡ－ＩＣＰ－ＭＳ装置３による質量分析に用いても、ＬＡ－ＩＣＰ－ＭＳ装置３での質量分析結果として、マトリックス関連成分の影響を軽減した精度の高い結果を得ることができる。

[0043] 図２のフローチャートに戻り、説明を続ける。

ステップＳ７の処理の終了後、イメージング画像作成部４３は、データ記憶部４０に保存されているＭＡＬＤＩ－ＭＳ装置２で取得されたイメージング質量分析データを用いて、分析領域Ａに対応する所定のm/z値における分子イメージング画像を作成する（ステップＳ８）。また、イメージング画像作成部４３は、ＬＡ－ＩＣＰ－ＭＳ装置３で取得されステップＳ７において補正された後のイメージング質量分析データを用いて、分析領域Ａに対応する

所定のm/z値における元素イメージング画像を作成する（ステップＳ９）。それぞれのイメージング画像のm/z値はユーザーが適宜に指定し得る。

[0044] 表示処理部４８は、そうして作成された分子イメージング画像と元素イメージング画像とを表示部６の画面上に並べて又は重ねて表示する（ステップＳ１０）。

[0045] 統合スペクトルデータ作成部４４は、分析領域Ａ内の微小領域毎に、その微小領域又はそれに対応する位置から得られたＭＡＬＤＩ－ＭＳ装置２による質量分析データ（所定のm/z範囲に亘るマススペクトルデータ）とＬＡ－ＩＣＰ－ＭＳ装置３による質量分析データ（所定のm/z値におけるイオン強度データ）とを取得し、それらを一つのm/z軸上に統合したデータを求める（ステップＳ１１）。

[0046] 一般に、ＭＡＬＤＩ－ＭＳ装置２により検出される化合物由来のイオンと、ＬＡ－ＩＣＰ－ＭＳ装置３により検出される金属元素由来のイオンとではm/z値が重なることはない。そのため、単純に両方のデータをm/z軸上に並べることでデータを統合することができる。但し、ＭＡＬＤＩ－ＭＳ装置２とＬＡ－ＩＣＰ－ＭＳ装置３とで検出感度に大きな差異がある場合には、事前にその検出感度の差を調べておき、その差が小さくなるようにいずれか又は両方の信号強度を補正したうえで統合するとよい。仮に、ＭＡＬＤＩ－ＭＳ装置２により検出される化合物由来のイオンとＬＡ－ＩＣＰ－ＭＳ装置３により検出される金属元素由来のイオンとでm/z値が重なった場合には、いずれか一方（通常は感度がより高い方）を採用するか、或いは、両方の信号強度にそれぞれ適宜の係数を乗じたうえで両者を加算するようにしてもよい。

[0047] 多変量解析処理部４５は、ステップＳ１１において統合されたデータに基いて多変量解析処理を実施する（ステップＳ１２）。

例えば、データを、微小領域毎の、m/z値とイオン強度との関係を示すデータマトリックスの形式に整理し、そのデータマトリックスに対して主成分分析（ＰＣＡ）、部分的最小二乗解析（ＰＬＳ）などの多変量解析を行うことで、特定の成分が集中して分布している領域を探索する。或いは、階層的ク

ラスター解析（ＨＣＡ）を行うことで、多数のm/z値の中で分布が類似している画像を探索する。

[0048] 表示処理部４８は、そうした多変量解析の結果を表示部６の画面上に所定の形式で表示する（ステップＳ１３）。

[0049] もちろん、ステップＳ８～Ｓ１０の処理とステップＳ１１～Ｓ１２の処理の順序は適宜入れ替えることができる。

[0050] 上記例では、分析領域Ａをその外側に拡張することで分析領域Ｂを設定していたが、これは単に一例であって次のように変更することができる。図６は、上記実施形態のマルチモーダルイメージングシステムにおいて分析領域Ｂを設定する作業の他の例の説明図である。

[0051] 図６（Ａ）に示すように、サンプル１０１の内部のごく一部にのみ分析領域Ａが設定されている場合、この分析領域Ａを拡張するように分析領域Ｂを設定すると、分析領域Ａ以外の分析領域Ｂの面積がかなり広くなる。上記説明から明らかであるように、分析領域Ａ以外の分析領域Ｂに存在する微小領域から得られる質量分析データは、マトリックス関連成分の影響の有無の判定及びその影響の補正に利用されるだけであり、多数の微小領域からの質量分析データが必要なわけではない。むしろ、分析領域Ａ以外の分析領域Ｂの面積が広いと、その部分をＬＡ－ＩＣＰ－ＭＳ装置３で質量分析するのに要する時間が長くなってしまい、解析効率の低下をもたらす。そこで、サンプル１０１の内部のごく一部にのみ分析領域Ａが設定される場合には、例えば図６（Ｂ）、（Ｃ）に示すように、分析領域Ａとは分離した位置に分析領域Ｃを定め、分析領域Ａと分析領域Ｃとを合わせて分析領域Ｂとするとよい。

[0052] 図６（Ｂ）は、サンプル１０１が存在する部分（上記第２部位Ｂ２）と存在しない部分（上記第３部位Ｂ３）とに跨るように分析領域Ｃを定めた場合の例である。一方、図６（Ｃ）は、サンプル１０１が存在しない部分にのみ分析領域Ｃを定めた場合の例である。図６（Ｂ）の場合には、上述したように、分析領域Ａ以外で分析領域Ｂに含まれる微小領域からの質量分析データを利用して、分析領域ＡにおいてＭＡＬＤＩ－ＭＳ装置２による質量分析が

実施されたことによるマトリックス関連成分の減少の程度を推定することができる。

このように、分析領域Ｂは、分析領域Ａ全体を含み、且つ分析領域Ａ以外でマトリックスが存在する部分を含みさえすれば、その位置や広さを適宜に定めることができる。

[0053] なお、上記実施形態は本発明の一例にすぎず、本発明の趣旨の範囲で適宜に変形、追加、修正を行っても本願特許請求の範囲に包含されることは明らかである。

[0054] ［種々の態様］

上述した例示的な実施形態は、以下の態様の具体例であることが当業者により理解される。

[0055] （第１項）本発明に係るイメージング質量分析を用いた解析方法の一態様は、イメージング質量分析が可能であるマトリックス支援レーザー脱離イオン化質量分析装置と、イメージング質量分析が可能であるレーザーアブレーション誘導結合プラズマ質量分析装置と、を用いた解析方法であって、

マトリックスを塗布した試料上で第１の分析領域を設定する第１領域設定ステップと、

マトリックス支援レーザー脱離イオン化質量分析装置を用い、前記第１の分析領域内の複数の微小領域のそれぞれについて質量分析を実行して質量分析データを取得する第１分析実行ステップと、

マトリックスを塗布した前記試料上で、前記第１の分析領域の全てと、該第１の分析領域とは異なる、マトリックスが存在する範囲と、を含む第２の分析領域を設定する第２領域設定ステップと、

レーザーアブレーション誘導結合プラズマ質量分析装置を用い、前記第２の分析領域内の複数の微小領域のそれぞれについて質量分析を実行して質量分析データを取得する第２分析実行ステップと、

前記第２分析実行ステップで取得された、前記第１の分析領域内の質量分析データと該第１の分析領域の外側の範囲の質量分析データとに基いて、該

第２の分析実行ステップでの質量分析におけるマトリックスに関連する成分の影響の有無を判定する判定ステップと、

前記判定ステップによりマトリックス関連成分の影響が有ると判定された場合、必要に応じて前記第２分析実行ステップで得られた質量分析データにおける信号強度情報を修正する情報修正ステップと、

を含む。

[0056] 第１項に記載の解析方法では、マトリックスに含まれる成分又はマトリックス塗布作業の過程で混入する成分（夾雑物）がレーザーアブレーション誘導結合プラズマ質量分析装置により得られた質量分析データに影響しているか否かを把握することができる。即ち、夾雑物に対応する質量電荷比における信号強度情報を把握できるとともに、例えば、その影響が無視できない程度に大きい場合に、夾雑物により影響を受けた信号強度情報の補正を行うことができ、より精度の高い質量分析データを用いて元素イメージング画像を作成することができる。従って、この解析方法によれば、別々の試料を用いるのではなく同一の試料を用いて、ＭＡＬＤＩ－ＭＳによる分子イメージングとＬＡ－ＩＣＰ－ＭＳによる元素イメージングとを行うことが可能であり、画像変形処理を伴う煩雑な位置合わせ処理を行うことなく、精度の高い重ね合わせ解析を簡便に行うことができる。

[0057] （第２項）第１項に記載の解析方法において、前記第２の分析領域は前記第１の分析領域をその外側に拡張した領域とすることができる。

[0058] 第２項に記載の解析方法によれば、例えばユーザーが第２の分析領域を手動で設定する場合に、第１の分析領域の範囲を示す又は第１の分析領域に対応するマーカーを外側に広げる操作を行いさえすればよい。これにより、簡便な操作によって適切に第２の分析領域を設定することができ、ユーザーの作業の負担を軽減できるとともに設定ミスを軽減することができる。

[0059] （第３項）第１項に記載の解析方法において、前記第２の分析領域において前記マトリックスが存在する範囲は前記第１の分析領域とは分離した領域とすることができる。

[0060] 即ち、第２項に記載の解析方法では、第１の分析領域の外側でマトリックスが存在する範囲は該第１の分析領域と連続しているが、それは連続していなくてもよい。第１の分析領域が試料上の中心に近いごく狭い範囲である場合、試料が存在せずマトリックスが存在する位置にまで該第１の分析領域を拡張して第２の分析領域を定めようとすると、第２の分析領域が第１の分析領域に比べてかなり広くなる。第２の分析領域が広いと、ＬＡ－ＩＣＰ－ＭＳによるイメージング質量分析に要する時間が長くなる。

[0061] これに対し、第３項に記載の解析方法によれば、マトリックスの影響の有無を判定するために最小限必要である範囲を第１の分析領域に追加して第２の分析領域を決めることができるので、ＬＡ－ＩＣＰ－ＭＳによるイメージング質量分析に要する時間を必要以上に長引かせることがない。従って、ＬＡ－ＩＣＰ－ＭＳによるイメージング質量分析の所要時間を抑え、解析を効率良く行うことができる。

[0062] （第４項）第１項～第３項のいずれか１項に記載の解析方法は、前記第１分析実行ステップで得られた質量分析データに基いて前記第１の分析領域に対応するイメージング画像を作成するとともに、前記情報修正ステップで修正された質量分析データに基いて前記第１の領域に対応するイメージング画像を作成し、両イメージング画像を並べて又は重ねて表示する画像作成表示ステップ、をさらに含むものとすることができる。

[0063] 第４項に記載の解析方法によれば、試料上の第１の分析領域に対応する分子イメージング画像と、同じ試料上の同じ第１の分析領域に対応する、所定の元素の高精度の分布を示す元素イメージング画像とを、同じ表示画面上に表示することができる。これにより、例えば分子と元素の分布の対比などを精度良く行うことができる。

[0064] （第５項）第１項～第４項のいずれか１項に記載の解析方法において、前記情報修正ステップでは、前記判定ステップによりマトリックス関連成分の影響があると判定された場合、前記第２分析実行ステップで得られた質量分析データにおいてマトリックス関連成分の寄与に相当する強度を差し引く処

理を行うものとすることができる。

[0065] 第５項に記載の解析方法によれば、ＬＡ－ＩＣＰ－ＭＳによるイメージング質量分析により空間分布を確認したい目的元素と、マトリックスに関連する成分に由来する元素とが重なっている場合であっても、そのマトリックスに関連する成分の影響を軽減して、目的元素の強度情報をより正確に求めることができる。

[0066] （第６項）第１項～第５項のいずれか１項に記載の解析方法において、試料上の実質的に同一の位置に対して前記第１分析実行ステップで得られた質量分析データと前記第２分析実行ステップで得られた質量分析データとにより、同一の質量電荷比における強度情報を統合したマススペクトルを作成するデータ統合ステップ、をさらに含むものとすることができる。

[0067] 第６項に記載の解析方法では、例えば、第１分析実行ステップでは第１の分析領域内の微小領域毎に所定のm/z範囲に亘るマススペクトルデータが得られ、第２分析実行ステップではその微小領域にほぼ一致する位置毎の特定のm/z値におけるイオン強度データが得られる。従って、例えば、対応する微小領域毎に、第１分析実行ステップで得られたマススペクトルデータに対し上記特定のm/z値に第２分析実行ステップで得られたイオン強度データを加えることで、一つのm/z軸上に両方のデータを統合することができる。これにより、互いに異なる二種類の質量分析データを併せて取り扱うことが可能となる。

[0068] （第７項）第６項に記載の解析方法において、前記データ統合ステップで統合されたマススペクトルデータに対して多変量解析処理を実行する解析処理ステップ、をさらに含むものとすることができる。

[0069] 上述したように第６項に記載の解析方法によれば、試料上の微小領域毎に一つのm/z軸上に両方のデータが統合されるため、微小領域毎に、m/z値と信号強度値とを対とするデータを得ることができる。第７項に記載の解析方法によれば、こうして得られるデータを多変量解析に供することで、例えば空間分布の類似性が高いm/z値を抽出する、特定の元素の空間分布に類似した分

布を示すm/z値を抽出する等の、従来、主としてユーザーが目視で確認していた解析を自動的に且つ客観的に実施することができる。

[0070] （第８項）第１項～第７項のいずれか１項に記載の解析方法において、前記マトリックスが存在する範囲は、マトリックスのみが塗布された領域であるものとすることができる。

[0071] 第８項に記載の解析方法によれば、前記マトリックスが存在する範囲には試料は存在しないので、マトリックスに含まれる又はマトリックスの塗布作業の際に混入する成分を的確に把握し、その成分による信号強度を求めることができる。

符号の説明

[0072] １…マトリックス塗布装置

２…イメージング質量分析装置（ＭＡＬＤＩ－ＭＳ装置）

３…レーザーアブレーション誘導結合プラズマ質量分析装置（ＬＡ－ＩＣＰ－ＭＳ装置）

４…制御・処理装置

４０…データ記憶部

４１…マトリックス影響判定部

４２…マトリックス影響補正部

４３…イメージング画像作成部

４４…統合スペクトルデータ作成部

４５…多変量解析処理部

４６…位置ずれ修正部

４７…領域設定部

４８…表示処理部

４９…制御部

５…入力部

６…表示部

１００…スライドグラス

１０１…サンプル

請求の範囲

[請求項1] イメージング質量分析が可能であるマトリックス支援レーザー脱離イオン化質量分析装置と、イメージング質量分析が可能であるレーザーアブレーション誘導結合プラズマ質量分析装置と、を用いた解析方法であって、

マトリックスを塗布した試料上で第１の分析領域を設定する第１領域設定ステップと、

マトリックス支援レーザー脱離イオン化質量分析装置を用い、前記第１の分析領域内の複数の微小領域のそれぞれについて質量分析を実行して質量分析データを取得する第１分析実行ステップと、

マトリックスを塗布した前記試料上で、前記第１の分析領域の全てと、該第１の分析領域とは異なる、マトリックスが存在する範囲と、を含む第２の分析領域を設定する第２領域設定ステップと、

レーザーアブレーション誘導結合プラズマ質量分析装置を用い、前記第２の分析領域内の複数の微小領域のそれぞれについて質量分析を実行して質量分析データを取得する第２分析実行ステップと、

前記第２分析実行ステップで取得された、前記第１の分析領域内の質量分析データと該第１の分析領域の外側の範囲の質量分析データとに基いて、該第２の分析実行ステップでの質量分析におけるマトリックスに関連する成分の影響の有無を判定する判定ステップと、

前記判定ステップによりマトリックス関連成分の影響が有ると判定された場合、必要に応じて前記第２分析実行ステップで得られた質量分析データにおける信号強度情報を修正する情報修正ステップと、

を含むイメージング質量分析を用いた解析方法。

[請求項2] 前記第２の分析領域は前記第１の分析領域をその外側に拡張した領域である、請求項１に記載のイメージング質量分析を用いた解析方法。

[請求項3] 前記第２の分析領域において前記マトリックスが存在する範囲は前

記第１の分析領域とは分離した領域である、請求項１に記載のイメージング質量分析を用いた解析方法。

[請求項4] 前記第１分析実行ステップで得られた質量分析データに基いて前記第１の分析領域に対応するイメージング画像を作成するとともに、前記情報修正ステップで修正された質量分析データに基いて前記第１の領域に対応するイメージング画像を作成し、両イメージング画像を並べて又は重ねて表示する画像作成表示ステップ、をさらに含む、請求項１に記載のイメージング質量分析を用いた解析方法。

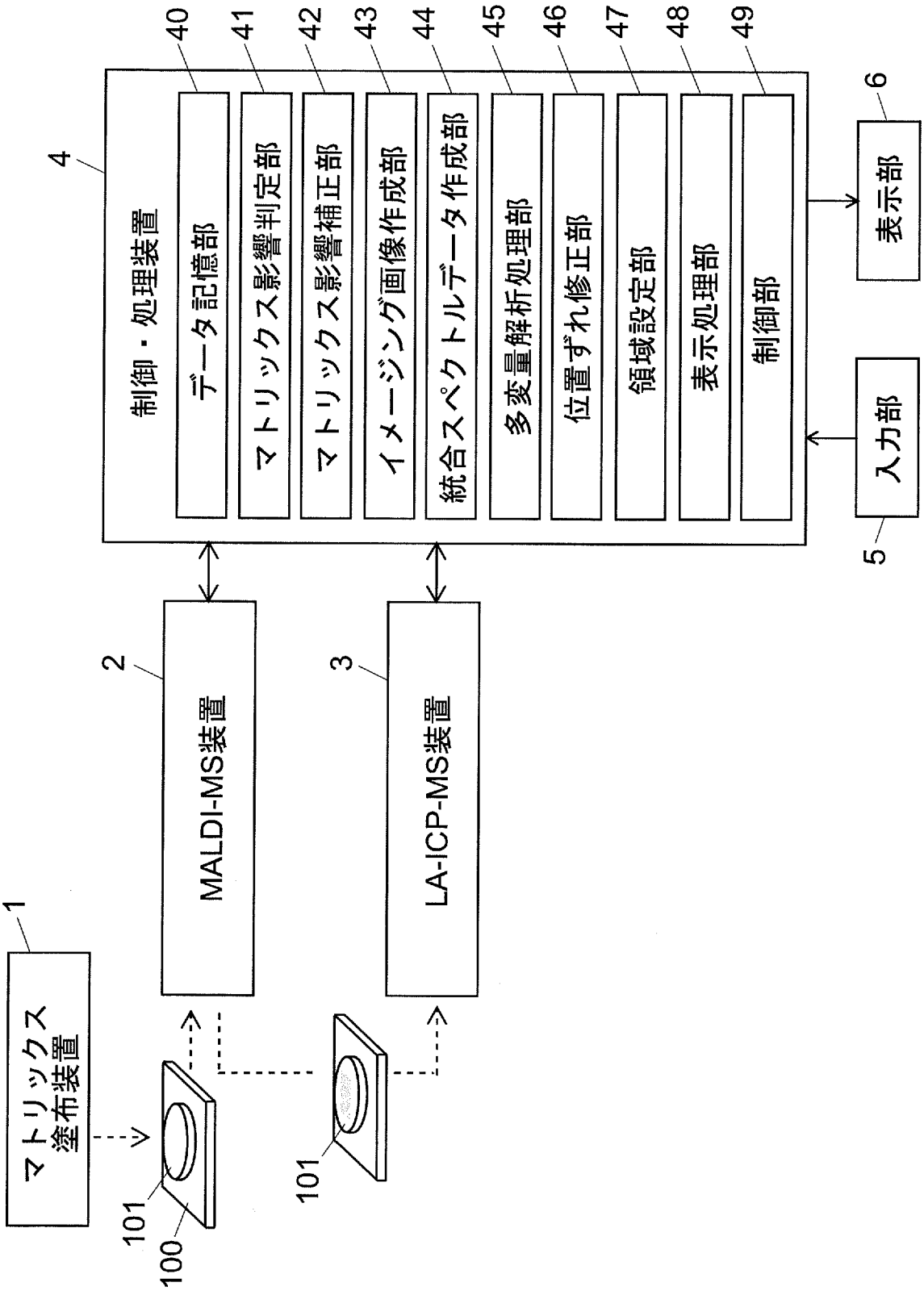
[請求項5] 前記情報修正ステップでは、前記判定ステップによりマトリックス関連成分の影響があると判定された場合、前記第２分析実行ステップで得られた質量分析データにおいてマトリックス関連成分の寄与に相当する強度を差し引く処理を行う、請求項１に記載のイメージング質量分析を用いた解析方法。

[請求項6] 試料上の実質的に同一の位置に対して前記第１分析実行ステップで得られた質量分析データと前記第２分析実行ステップで得られた質量分析データとにより、同一の質量電荷比における強度情報を統合したマススペクトルを作成するデータ統合ステップ、をさらに含む、請求項１に記載のイメージング質量分析を用いた解析方法。

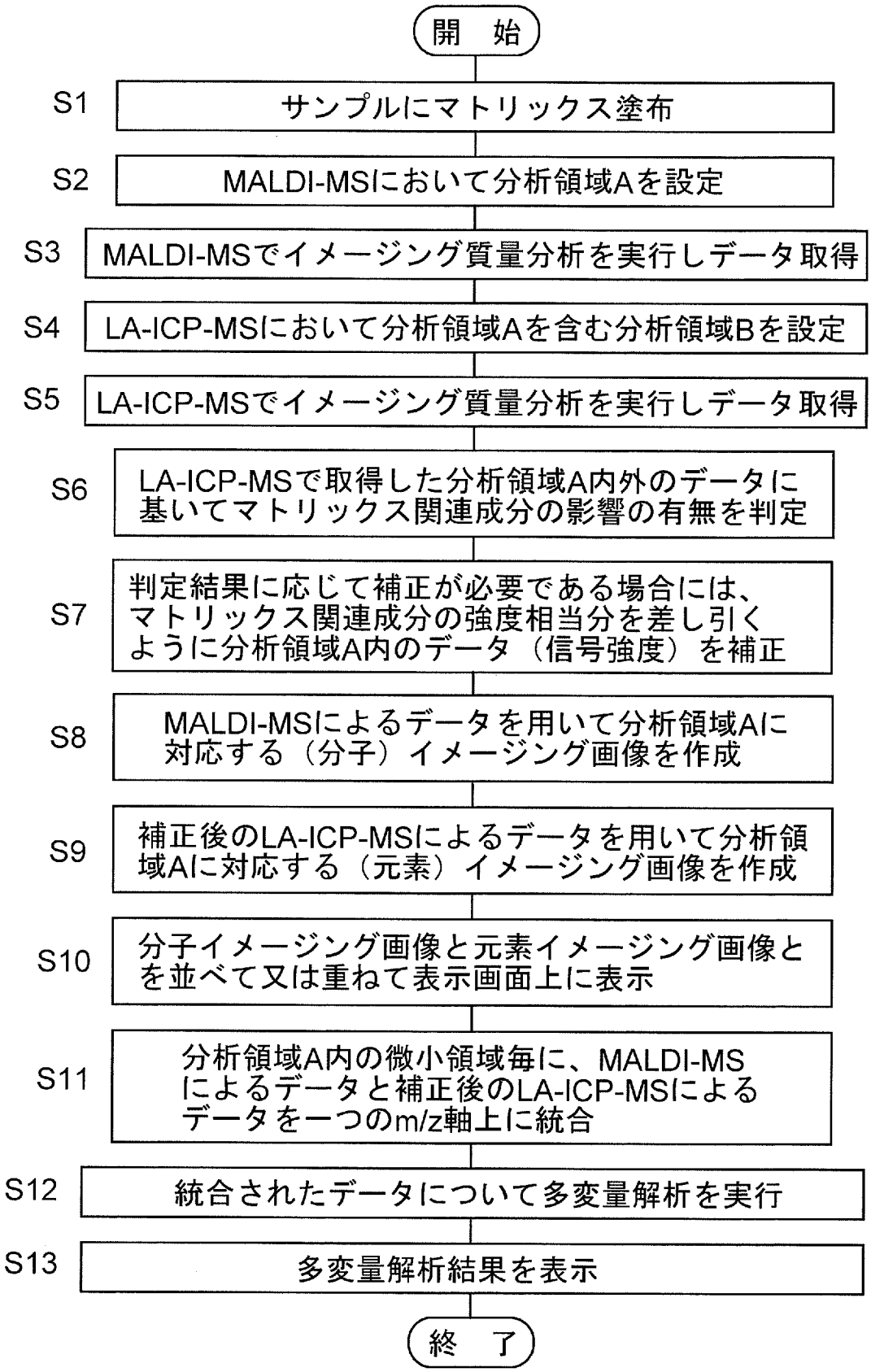
[請求項7] 前記データ統合ステップで統合されたマススペクトルデータに対して多変量解析処理を実行する解析処理ステップ、をさらに含む、請求項６に記載のイメージング質量分析を用いた解析方法。

[請求項8] 前記マトリックスが存在する範囲はマトリックスのみが塗布された領域である、請求項１に記載のイメージング質量分析を用いた解析方法。

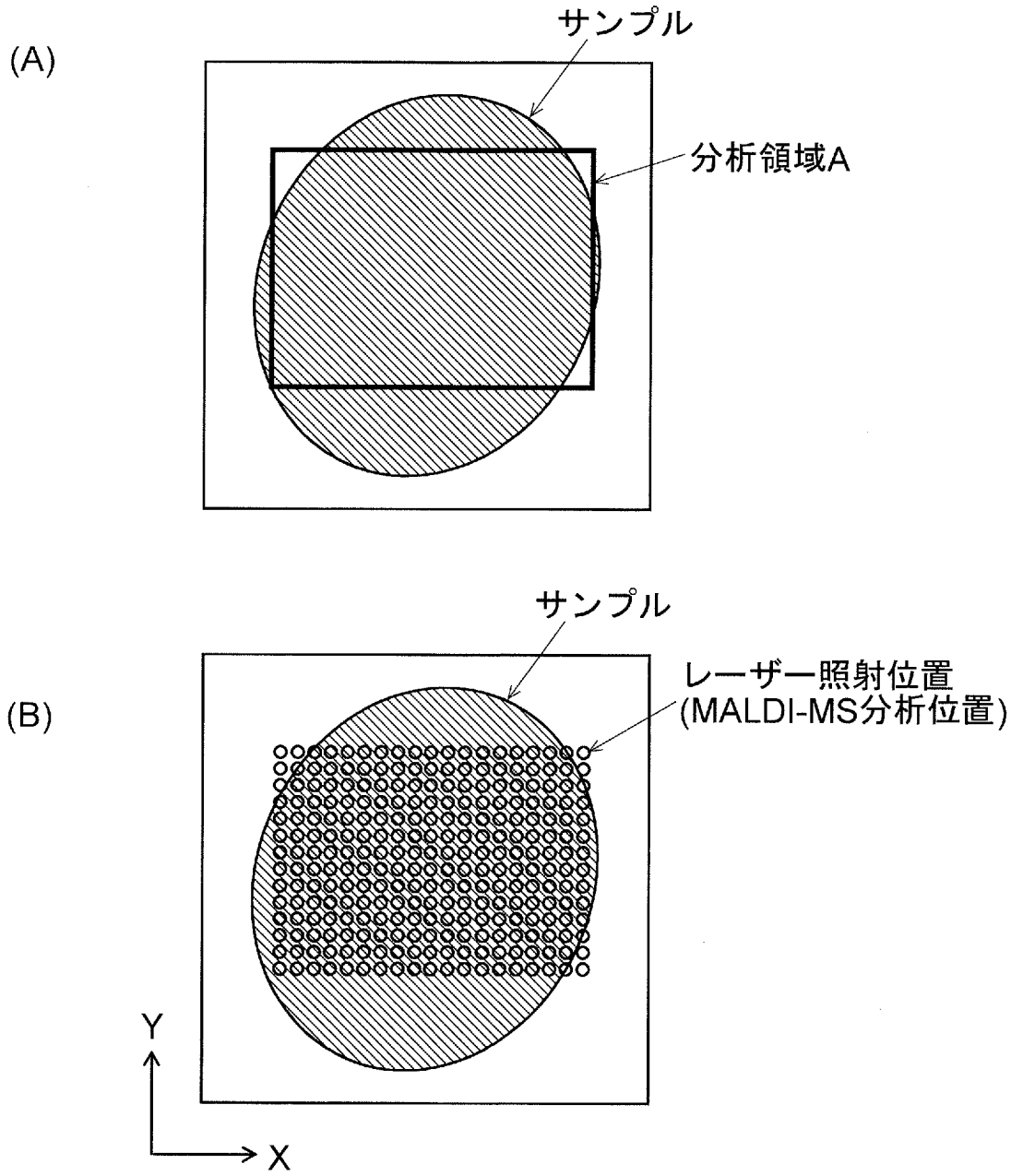
[図1]


マトリックス
塗布装置
1
MALDI-MS装置
2
LA-ICP-MS装置
3
制御・処理装置
4
入力部
5
表示部
6
データ記憶部
40
マトリックス影響判定部
41
マトリックス影響補正部
42
イメージング画像作成部
43
統合スペクトルデータ作成部
44
多変量解析処理部
45
位置ずれ修正部
46
領域設定部
47
表示処理部
48
制御部
49
101
100
101

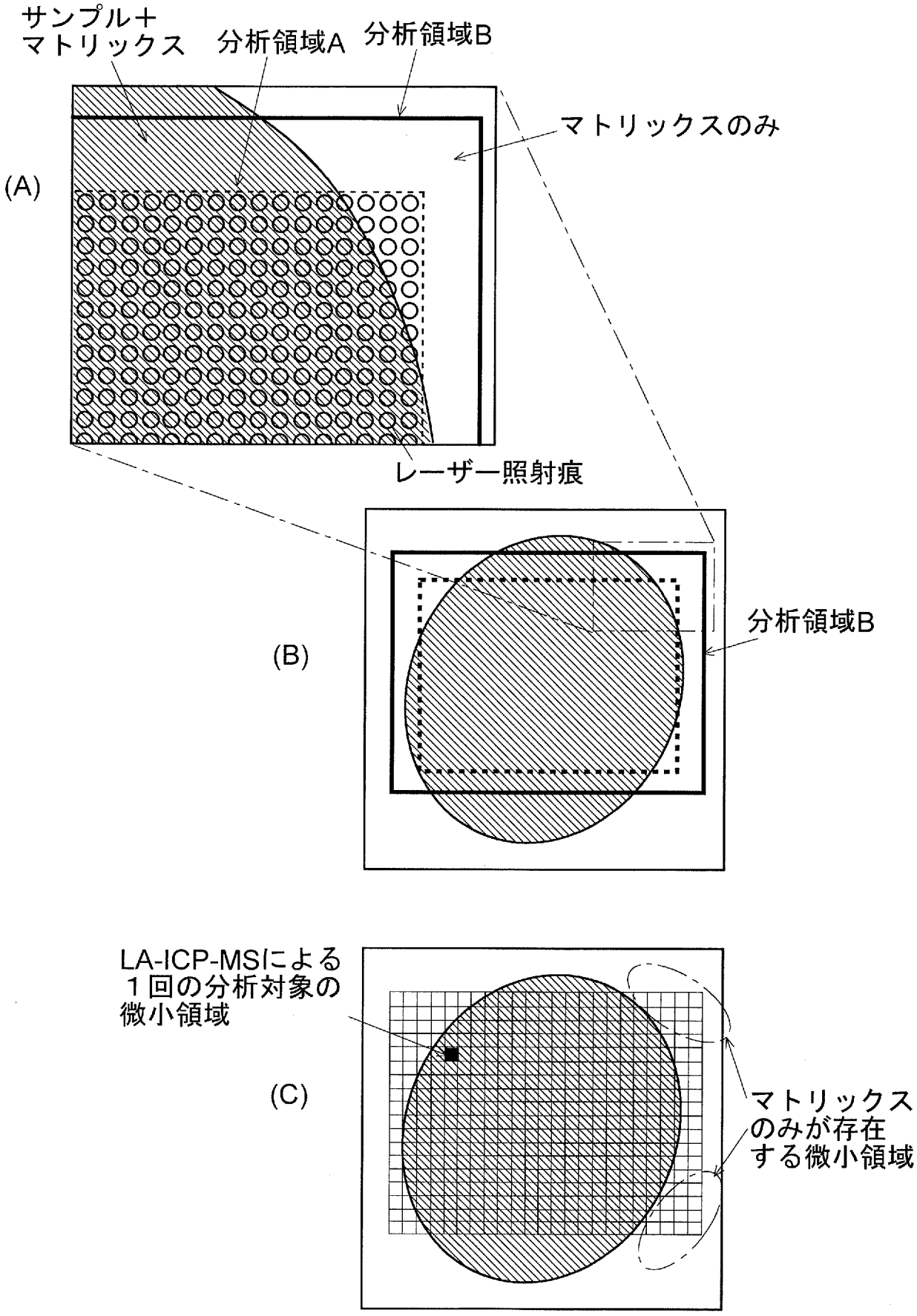
[図2]


開　始
S1
サンプルにマトリックス塗布
S2
MALDI-MSにおいて分析領域Aを設定
S3
MALDI-MSでイメージング質量分析を実行しデータ取得
S4
LA-ICP-MSにおいて分析領域Aを含む分析領域Bを設定
S5
LA-ICP-MSでイメージング質量分析を実行しデータ取得
S6
LA-ICP-MSで取得した分析領域A内外のデータに基いてマトリックス関連成分の影響の有無を判定
S7
判定結果に応じて補正が必要である場合には、マトリックス関連成分の強度相当分を差し引くように分析領域A内のデータ（信号強度）を補正
S8
MALDI-MSによるデータを用いて分析領域Aに対応する（分子）イメージング画像を作成
S9
補正後のLA-ICP-MSによるデータを用いて分析領域Aに対応する（元素）イメージング画像を作成
S10
分子イメージング画像と元素イメージング画像とを並べて又は重ねて表示画面上に表示
S11
分析領域A内の微小領域毎に、MALDI-MSによるデータと補正後のLA-ICP-MSによるデータを一つのm/z軸上に統合
S12
統合されたデータについて多変量解析を実行
S13
多変量解析結果を表示
終　了

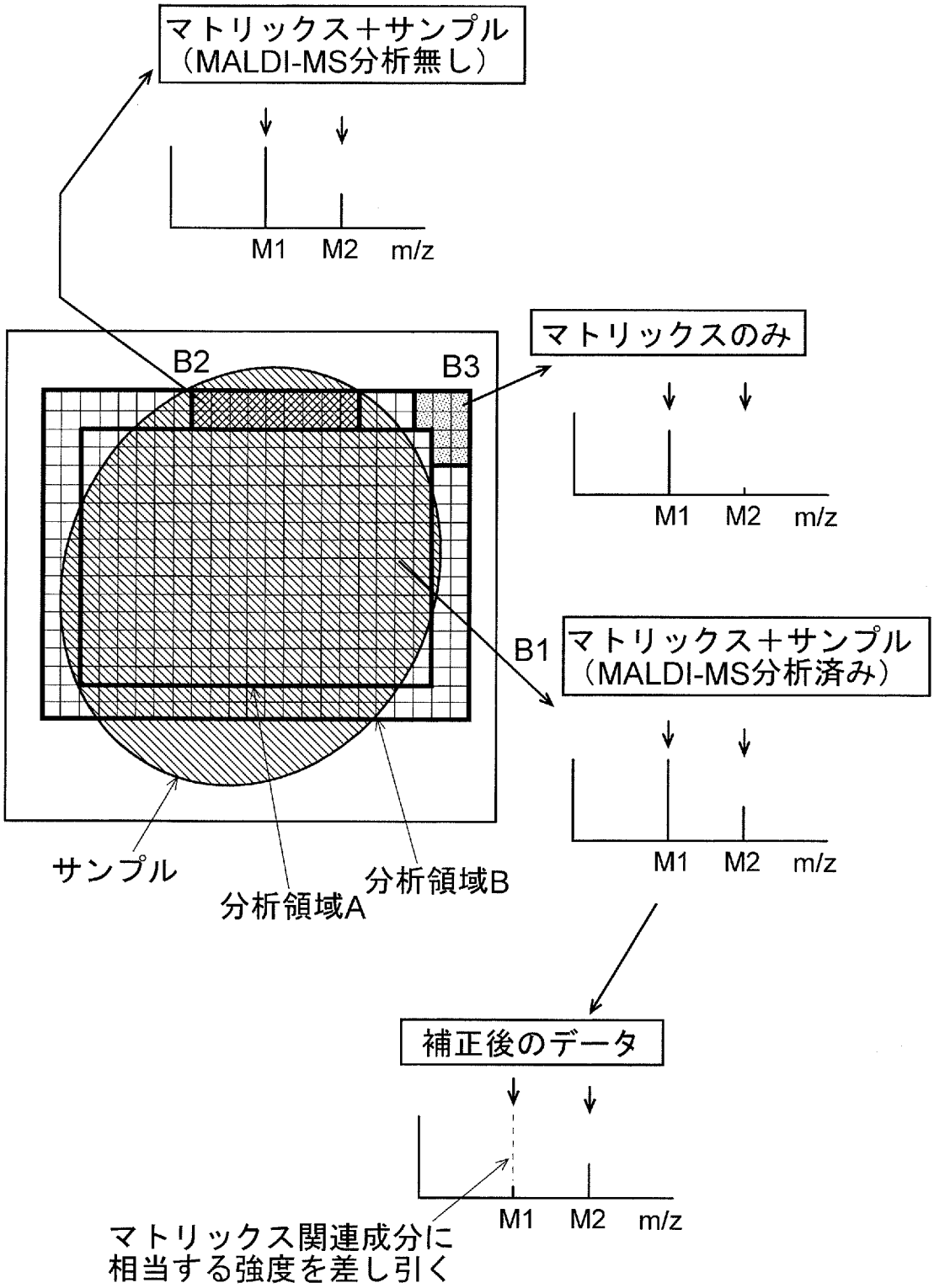
[図3]



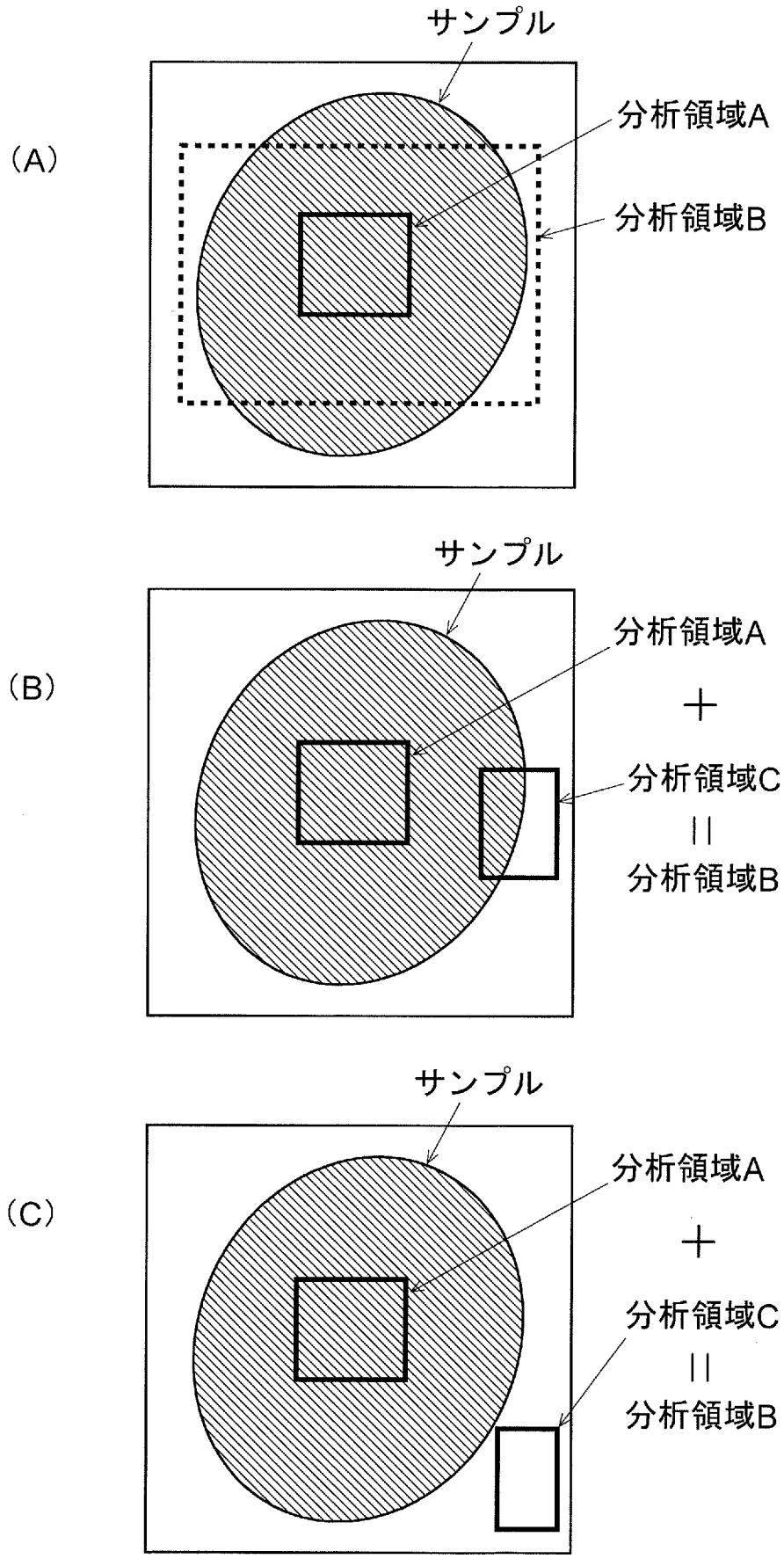
[図4]


サンプル＋
マトリックス
分析領域A
分析領域B
マトリックスのみ
(A)
レーザー照射痕
分析領域B
(B)
LA-ICP-MSによる
１回の分析対象の
微小領域
(C)
マトリックス
のみが存在
する微小領域

[図5]


マトリックス＋サンプル
（MALDI-MS分析無し）
M1
M2
m/z
B2
B3
マトリックスのみ
M1
M2
m/z
B1
マトリックス＋サンプル
（MALDI-MS分析済み）
M1
M2
m/z
サンプル
分析領域A
分析領域B
補正後のデータ
M1
M2
m/z
マトリックス関連成分に
相当する強度を差し引く

[図6]


(A)
サンプル
分析領域A
分析領域B
(B)
サンプル
分析領域A
＋
分析領域C
＝
分析領域B
(C)
サンプル
分析領域A
＋
分析領域C
＝
分析領域B

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP2024/000366

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

G01N 27/62(2021.01)i
FI: G01N27/62 D; G01N27/62 G

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)

G01N27/60-27/70; H01J49/00-49/48

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Published examined utility model applications of Japan 1922-1996
Published unexamined utility model applications of Japan 1971-2024
Registered utility model specifications of Japan 1996-2024
Published registered utility model applications of Japan 1994-2024

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 2016/0005578 A1 (WESTFAELISCHE WILHELMS-UNIVERSITAET MUENSTER) 07 January 2016 (2016-01-07)	1-8
A	WO 2020/217334 A1 (SHIMADZU CORPORATION) 29 October 2020 (2020-10-29)	1-8
A	JP 2022-517827 A (IMABIOTECH) 10 March 2022 (2022-03-10)	1-8
A	BIANGA, Juliusz et al. COMMUNICATION Complementarity of MALDI and LA ICP mass spectrometry for platinum anticancer imaging in human tumor. Metallomics. 2014, vol. 6, 1382-1386, www.rsc.org/metallomics, DOI: 10.1039/c4mt00131a	1-8
A	HOLZLECHNER, Matthias et al. Multisensor Imaging—From Sample Preparation to Integrated Multimodal Interpretation of LA-ICPMS and MALDI MS Imaging Data. Analytical Chemistry. 30 June 2018, 90, 8831-8837, DOI: 10.1021/acs.analchem.8b00816	1-8

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☑ 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
"D" document cited by the applicant in the international application
"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	Date of mailing of the international search report
16 February 2024	**05 March 2024**

Name and mailing address of the ISA/JP	Authorized officer
Japan Patent Office (ISA/JP) **3-4-3 Kasumigaseki, Chiyoda-ku, Tokyo 100-8915** **Japan**	Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/JP2024/000366

Patent document cited in search report	Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
US 2016/0005578 A1	07 January 2016	WO 2014/114803 A2	
		EP 2948973 A2	
WO 2020/217334 A1	29 October 2020	US 2022/0172937 A1	
		CN 113518919 A	
JP 2022-517827 A	10 March 2022	US 2022/0137027 A1	
		WO 2020/152151 A1	
		EP 3914911 A1	
		CN 113330312 A	
		CA 3125695 A1	

国際調査報告

国際出願番号
PCT/JP2024/000366

A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（ＩＰＣ））

G01N 27/62(2021.01)i
FI: G01N27/62 D; G01N27/62 G

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））

G01N27/60-27/70; H01J49/00-49/48

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

日本国実用新案公報	１９２２－１９９６年
日本国公開実用新案公報	１９７１－２０２４年
日本国実用新案登録公報	１９９６－２０２４年
日本国登録実用新案公報	１９９４－２０２４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）

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII)

C. 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
A	US 2016/0005578 A1 (WESTFAELISCHE WILHELMS-UNIVERSITAET MUENSTER) 07.01.2016 (2016-01-07)	1-8
A	WO 2020/217334 A1 (株式会社島津製作所) 29.10.2020 (2020-10-29)	1-8
A	JP 2022-517827 A (イマビオテク) 10.03.2022 (2022-03-10)	1-8
A	BIANGA, Juliusz et al., COMMUNICATION Complementarity of MALDI and LA ICP mass spectrometry for platinum anticancer imaging in human tumor, Metallomics, 2014, Vol. 6 , 1382-1386, www.rsc.org/metallomics, DOI: 10.1039/c4mt00131a	1-8
A	HOLZLECHNER, Matthias et al., Multisensor Imaging—From Sample Preparation to Integrated Multimodal Interpretation of LA-ICPMS and MALDI MS Imaging Data, Analytical Chemistry, 2018.06.30, 90, 8831-8837, DOI: 10.1021/acs.analchem.8b00816	1-8

☐ Ｃ欄の続きにも文献が列挙されている。

☑ 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ー
“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
“D” 国際出願で出願人が先行技術文献として記載した文献
“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
“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）
“O” 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
“P” 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願の日の後に公表された文献
“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抵触するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
“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
“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
“&” 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日	国際調査報告の発送日
16.02.2024	05.03.2024

名称及びあて先

日本国特許庁(ISA/JP)
〒100-8915
日本国
東京都千代田区霞が関三丁目４番３号

権限のある職員（特許庁審査官）

伊藤　裕美 2W 9515

電話番号 03-3581-1101 内線 3258

国際調査報告
パテントファミリーに関する情報

国際出願番号
PCT/JP2024/000366

引用文献	公表日	パテントファミリー文献	公表日
US 2016/0005578 A1	07.01.2016	WO 2014/114803 A2	
		EP 2948973 A2	
WO 2020/217334 A1	29.10.2020	US 2022/0172937 A1	
		CN 113518919 A	
JP 2022-517827 A	10.03.2022	US 2022/0137027 A1	
		WO 2020/152151 A1	
		EP 3914911 A1	
		CN 113330312 A	
		CA 3125695 A1	