

(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2012-186180
(P2012-186180A)

(43) 公開日 平成24年9月27日 (2012.9.27)

(51) Int.Cl.
H O 1 J 49/26 (2006.01)
G O 1 N 27/62 (2006.01)

F I
H O 1 J 49/26
G O 1 N 27/62

テーマコード (参考)
2 G O 4 1
5 C O 3 8

審査請求 有 請求項の数 16 O L (全 19 頁)

(21) 出願番号	特願2012-138461 (P2012-138461)	(71) 出願人	501192059
(22) 出願日	平成24年6月20日 (2012.6.20)		サーモ フィニガン リミテッド ライア
(62) 分割の表示	特願2008-514186 (P2008-514186)		ビリティ カンパニー
	の分割		アメリカ合衆国 カリフォルニア州 95
原出願日	平成18年5月31日 (2006.5.31)		134 サン ホセ リヴァー オークス
(31) 優先権主張番号	0511083.8		パークウェイ 355
(32) 優先日	平成17年5月31日 (2005.5.31)	(74) 代理人	100075258
(33) 優先権主張国	英国 (GB)		弁理士 吉田 研二
		(74) 代理人	100096976
			弁理士 石田 純
		(72) 発明者	マカロフ アレキサンダー アレクセーヴ
			イチ
			イギリス チュシャー チードル ヒュー
			ム マールボロ アベニュー 90
			最終頁に続く

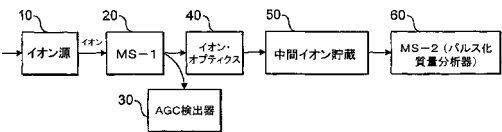
(54) 【発明の名称】 質量スペクトルの測定方法

(57) 【要約】

【課題】高い質量精度を達成する。

【解決手段】第1と第2のタイプのイオンを異なる衝突エネルギーによって生成するよう構成された断片化システムと、第1と第2のタイプのイオンを蓄積し組み合わせるよう構成されたイオン貯蔵50と、イオン貯蔵50から組み合わされた第1と第2のタイプのイオンを受け入れ分析する質量分析器60と、を有することを特徴とする。

【選択図】図1



【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

第 1 と第 2 のタイプのイオンを異なる衝突エネルギーによって生成するように構成された断片化システムと、

前記第 1 と第 2 のタイプのイオンを蓄積し組み合わせるように構成されたイオン貯蔵と、

前記イオン貯蔵から前記組み合わせられた第 1 と第 2 のタイプのイオンを受け入れ分析する質量分析器と、

を有することを特徴とする質量スペクトル計。

【請求項 2】

10

請求項 1 に記載の質量スペクトル計であって、

前記断片化システムは、前記第 1 タイプのイオンの生成に使用された先駆物質イオンの第 1 群と前記第 2 タイプのイオンの生成に使用された先駆物質イオンの第 2 群とが同じ範囲の質量対電荷比を有する場合に、前記第 1 と第 2 のタイプのイオンを異なる衝突エネルギーによって生成するように構成されることを特徴とする質量スペクトル計。

【請求項 3】

請求項 1 に記載の質量スペクトル計であって、

前記断片化システムは、同じ断片化パラメータを使用して前記第 1 と第 2 のタイプのイオンを生成するように構成されることを特徴とする質量スペクトル計。

【請求項 4】

20

請求項 1 または 2 に記載の質量スペクトル計であって、

前記断片化システムは、

第 1 衝突エネルギーによって前記第 1 タイプのイオンを生成するように構成された第 1 断片化セルと、

第 2 衝突エネルギーによって前記第 2 タイプのイオンを生成するように構成された第 2 断片化セルと、を有し

前記第 1 断片化セルと前記第 2 断片化セルは異なる断片化方法を使用するように構成されることを特徴とする質量スペクトル計。

【請求項 5】

30

請求項 1 ～ 4 のいずれかに記載の質量スペクトル計であって、

前記質量分析器は、 $10,000 \sim 100,000$ の間または $10,000 \sim 1,000,000$ の間の分解能で動作するように構成されることを特徴とする質量スペクトル計。

【請求項 6】

タンデム質量スペクトル計の方法であって、

第 1 質量対電荷比範囲を有する先駆物質イオンの第 1 群を断片化パラメータの第 1 セットを使用して断片化し第 1 イオン組成物を生成するステップと、

第 2 質量対電荷比範囲を有する先駆物質イオンの第 2 群を断片化パラメータの第 2 セットを使用して断片化し第 2 イオン組成物を生成するステップと、

40

前記第 1 イオン組成物を分析用にイオン貯蔵内に蓄積するステップと、

前記第 1 イオン組成物の蓄積に続いて前記第 2 イオン組成物を分析用にイオン貯蔵内に蓄積するステップと、

前記組み合わせられたイオンの標本を質量分析するステップと、を有し、

前記第 1 と第 2 の質量対電荷比範囲と前記第 1 と第 2 の断片化パラメータの少なくとも一方が相互に異なることを特徴とするタンデム質量スペクトル計の方法。

【請求項 7】

請求項 6 に記載の方法であって、

前記第 1 質量対電荷比範囲と前記第 2 質量対電荷比範囲は同じであることを特徴とする方法。

【請求項 8】

50

請求項 6 または 7 に記載の方法であって、前記先駆物質イオンの第 1 群を断片化するステップは、前記先駆物質イオンの第 2 群を断片化するステップと異なる方法を使用することを特徴とする方法。

【請求項 9】

請求項 6 に記載の方法であって、

前記第 1 と第 2 の断片化パラメータは同じであることを特徴とする方法。

【請求項 10】

請求項 6 ～ 9 のいずれかに記載の方法であって、

前記先駆物質イオンの第 1 群と前記先駆物質イオンの第 2 群とを質量分析するステップをさらに有することを特徴とする方法。

10

【請求項 11】

請求項 10 に記載の方法であって、

前記組み合わせられたイオンの標本を質量分析する以前に前記先駆物質イオンの第 1 群と前記先駆物質イオンの第 2 群とをイオン貯蔵内に所定量蓄積するステップであって、前記組み合わせられたイオンの標本を質量分析するステップは、組み合わせられた前記第 1 と第 2 のイオン組成物と前記先駆物質イオンの第 1 と第 2 の群を質量分析するステップを有するステップと、

前記先駆イオンの第 1 と第 2 の群の前記質量分析を使用して、前記第 1 と第 2 のイオン組成物の組み合わせられた標本の前記質量分析を校正するステップと、

をさらに有することを特徴とする方法

20

【請求項 12】

請求項 10 または 11 に記載の方法であって、

前記組み合わせられたイオンの標本を質量分析するステップと、前記先駆物質イオンの第 1 群と前記先駆物質イオンの第 2 群を質量分析するステップとによって取得されたデータを使用して特定のタイプの先駆物質イオンの存在を確認するステップをさらに含むことを特徴とする方法。

【請求項 13】

請求項 12 に記載の方法であって、

前記特定のタイプの先駆物質イオンの存在を確認するステップは、前記特定のタイプの先駆物質イオンの質量対電荷比と前記組み合わせられたイオンの標本の前記質量分析の組み合わせとに基づき前記特定タイプの先駆物質イオンを特定するステップを含むことを特徴とする方法。

30

【請求項 14】

請求項 12 または 13 に記載の方法であって、

前記特定のタイプの先駆物質イオンの存在を確認するステップは、中立損失を特定するステップを含むことを特徴とする方法。

【請求項 15】

請求項 6 ～ 14 のいずれかに記載の方法であって、

前記組み合わせられたイオンの標本を質量分析するステップは、10, 000 ～ 100, 000 の間または 10, 000 ～ 1, 000, 000 の間の分解能を使用することを特徴とする方法。

40

【請求項 16】

請求項 6 ～ 15 のいずれかに記載の方法であって、

前記組み合わせられたイオンの標本を質量分析するステップによって取得されたデータ内の各関心質量対電荷比の一意性を事前に確認することによって質量ピークのオーバーラップを回避するステップをさらに含むことを特徴とする方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、質量分析の段階のうちの少なくとも 1 つにイオン・トラッピングを含む質量

50

スペクトル測定に関する。特に、排他的ではないが、本発明は、先駆物質イオンおよびフラグメント・イオンが分析されるタンデム質量スペクトル測定に関する。

【背景技術】

【0002】

概して言えば、質量スペクトル計は、分析されることになる分子からイオンを生成するためのイオン源、およびイオンを質量分析器に案内するためのイオン・オプティクスを包含する。タンデム質量スペクトル計は、さらに、第2の質量分析器を包含する。タンデム質量スペクトル測定においては、質量スペクトルの収集によってイオン化分子の構造的解明を行い、その後、第1の質量分析器を使用して1つまたは複数の所望の先駆物質イオンを質量スペクトルから選択してイオンの断片化を生じさせ、その後、第2の質量分析器を使用してフラグメント・イオンの質量分析を行う。概して言えば、第2の質量分析器には精密質量ケイパビリティを伴う質量分析器が好ましい。しばしば、先駆物質イオンの質量スペクトルを獲得するためにも精密質量分析器を使用すること、言い換えると断片化なしに先駆物質の標本を精密質量分析器に渡すことが望ましい。

10

【0003】

その方法を、1つまたは複数の追加の断片化の段階（すなわち、フラグメント・イオンの断片化およびその断片化等々）を提供するべく拡張することが可能である。これは、一般に MS^n と呼ばれ、 n は、イオンの生成の数を表す。したがって、 MS^2 は、タンデム質量スペクトル測定に対応する。

20

【0004】

タンデム質量スペクトル計は、3つのタイプに分類することが可能である。

(1) 空間的に連続、伝送質量分析器の組み合わせに対応する（たとえば、磁気セクタ、クワドラポール、飛行時間型（TOF）、通常はそれらの間に衝突セルを伴う）。

(2) 時間的に連続、スタンドアロン・トラッピング質量分析器に対応する（たとえば、クワドラポール、リニア、フーリエ変換イオン・サイクロトロン共振（FT-ICR）、静電トラップ）；および

(3) 時間的空間的に連続、トラップまたはトラップのハイブリッドと伝送質量分析器のハイブリッドに対応。

【0005】

本発明は、パルス化精密質量分析器、たとえばTOF分析器、FT-ICR分析器、およびオービトラップ（Orbitrap）質量分析器等の静電トラップ（EST）分析器との使用に特に適している。

30

【0006】

これらの分析器の多くは、短い注入サイクルおよびそれに続く比較的長い質量分析段階を有し、特に高分解能における動作時にそれが言える。したがって、それらの感度は、RFマルチポール等の中間イオン貯蔵の使用から大きな利益を得る。

【0007】

たとえば上記のタンデム質量スペクトル測定のように、精密質量分析器に質量分析の段階が先行することは少なくない。それらの第1段階の質量スペクトル測定は、クワドラポール・トラップまたはそのほかの周知の任意の質量分析器内にイオン・トラッピングを含むことがある。それらの場合、中間イオン貯蔵の使用が、異なる段階の間の反復レートおよびイオン・ビーム・パラメータにおける差異によって生じるイオン損失を回避する。中間イオン貯蔵を含むタンデム質量スペクトル計の例は、ジャーナル・オブ・プロテオメ・リサーチ（J. Proteome Res.）（3（3）（2004年）、pp 621～626）、アナリティカル・ケミストリ（Anal Chem.）（73（2001年）p 253）、WO 2004/068523、米国特許出願第2002/0121594号、米国特許出願第2002/0030159号、WO 99/30350、およびWO 2002/078046の中に見られる。そのほかのタンデム構成もまた可能である。

40

【0008】

質量分析器として使用されるイオン・トラップは、常に、その中に導入されてトラップ

50

されるイオンの総数に敏感である。明らかに、可能な限り多くのイオンを蓄積することが、収集されるデータの統計を向上させるために望ましい。しかしながら、この願望は、より高いイオン濃度においては飽和が存在し、それが空間電荷効果を生むという事実と相容れない。これらの空間電荷効果は質量の分解能を制限し、測定される質量対電荷比のシフトを生じさせ、その結果、質量、さらには強度の不正確な割り当てを導く。特に、イオンによる中間イオン貯蔵の過充填は、その後が続いて獲得される質量スペクトルにおけるピークのシフト、トラッピング質量分析器における質量精度の損失、およびTOF質量分析器内の検出器の飽和を、中間イオン貯蔵自体の中の質量抑圧効果のほかに生じさせる。

【0009】

この問題に取り組む1つのテクニックは、一般に自動利得コントロール(AGC)と呼ばれている。AGCは、質量分析器に収容できるイオンの量を調整するための到来イオン・ストリームの情報の使用に対する一般的な名前である。この情報は、スペクトル情報に基づいて質量範囲を選択するためにも使用できる。イオン・トラップ内に蓄積される総イオン存在量は、次のようにしてコントロールできる。最初にイオンが既知の時間期間にわたって蓄積され、迅速な総イオン存在量測定が実行される。その時間期間およびそのトラップ内の総イオン存在量の知識は、その後続くイオン充填がセル内に最適イオン存在量を作り出すための適切な充填時間の選択を可能にする。このテクニックは、米国特許第5,107,109号の中でさらに詳細に述べられている。

【0010】

初期イオン存在量を測定する別の変形も知られており、それには、先行するスペクトル内の総イオン電流の使用(米国特許第5,559,325号)、トラップを通して検出器に向けてイオンが伝送される短いプレスキャンの使用(WO03/019614)、およびFTICRに先行して貯蔵マルチポール内に貯蔵されるイオンの一部の測定(米国特許第6,555,814号)が含まれる。

【0011】

精密質量分析器を伴うタンデム質量スペクトル計のほとんどにおいては、蓄積されるイオン母集団がまったくコントロールされていない。ジャーナル・オブ・プロテオメ・リサーチ(J. Proteome Res.) (3(3)(2004年)、pp621~626)の場合では、精密質量分析器内への注入に先行して総イオン数だけが、自動利得コントロールを使用してコントロールされ得る。WO2004/068523は、FTICR質量分析器にすべてのイオンを注入する前に、線形トラップから1つのイオン・タイプの複数充填を蓄積するために使用される中間イオン貯蔵を含む実施態様を開示している。各充填は、中間イオン貯蔵内へのイオンの注入に先行する、それ独自の自動利得コントロール・プレスキャンを有する。しかしながら、その主要な応用は、単一イオン・トラップの動作に関する総イオン貯蔵容量の増加に過ぎない。

【0012】

これは、いくつかの現実の問題を手つかずのまま残す。しばしば、単一タイプのイオン、すなわち単一の m/z 値または m/z 範囲を有するイオンを超えて分析することが望まれる。異なるタイプのイオンが、任意の個々の実験に従った異なる要求から導かれることがある。たとえば、異なるタイプのイオンが、ある標本内に存在する異なる分子から、タンデム質量スペクトル測定において断片化された標本イオン(すなわち、先駆物質およびフラグメント・イオンの分析)から、または標本イオンおよび較正物質イオン(すなわち、質量スペクトルの補正のために使用されるロック・マス)から生じることがある。最後のケースは、内部較正物質の使用が、追加されるかまたは到来する標本内に本来的に存在する分析物を使用する、質量精度(特に、TOFおよびESTについて)を改善するもっとも信頼できる方法の1つであるとして知られていることから非常に重要である。しかしながら、たとえば質量スペクトル計に結合される液体分離の場合のように分析物の信号が急速に変化するときには、内部較正物質の所望の存在量を得ることが非常に困難である。これは、較正物質の存在量の精度が非常に重要であることから、有意な問題を呈する。つまり、存在量が低すぎるときには、その較正物質が質量精度を改善するための役に立たず

10

20

30

40

50

、存在量が高すぎるときには、その較正物質が中間イオン貯蔵内の空間電荷容量のほとんどを占有し、したがって標本の利用度を低減する。また、選択候補の成分（たとえば、関心不純物）を用いたイオン母集団の選択的な富化も非常に困難である。

【0013】

質量スペクトルの内部較正をねらいとして、2またはそれより多くのイオン源からのイオンを組み合わせる2つの方法が開発された。ウインジャー（Winger）ほか著「アメリカン・ソサエティ・フォア・マス・スペクトロメトリ（Amer. Soc. Mass Spectrom.）」（第44回カンファレンス会報、ポートランド、1996年、p. 1134）は、2つの方向からICRセル内に導入される2つのソースからのイオンの同時トラッピングをはじめ、外部的に注入されるイオンを伴うICRセル内の電子イオン化によって生成されるイオンの組み合わせを明らかにした。米国特許第5,825,026号は、2つのイオン源からのイオンが質量分析器内への導入のために選択されることを可能にする機械的に切り替え可能な構造を明らかにしている。

10

【先行技術文献】

【特許文献】

【0014】

【特許文献1】WO2004/068523

【特許文献2】WO99/30350

【特許文献3】WO02/078046

【特許文献4】米国特許第5,107,109号

20

【特許文献5】米国特許第5,559,325号

【特許文献6】WO03/019614

【特許文献7】米国特許第6,555,814号

【特許文献8】米国特許第5,825,026号

【非特許文献】

【0015】

【非特許文献1】ジャーナル・オブ・プロテオメ・リサーチ（J. Proteome Res.）（3（3）（2004年）、pp621～626）、アナリティカル・ケミストリ（Anal Chem.）（73（2001年）p253）

【非特許文献2】ウインジャー（Winger）ほか著「アメリカン・ソサエティ・フォア・マス・スペクトロメトリ（Amer. Soc. Mass Spectrom.）」（第44回カンファレンス会報、ポートランド、1996年、p. 1134）

30

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【0016】

この背景に対して、また第1の態様から、本発明の方法は、イオン貯蔵内に、分析されることになる1つのタイプのイオンの標本を蓄積し、前記イオン貯蔵内に、分析されることになる別のタイプのイオンの標本を蓄積し、前記イオンの組み合わせられた標本を質量分析する質量スペクトル測定の方法であって、それぞれのタイプのイオンの以前の測定の結果を基礎としてイオンの目標数を達成するように前記1つのタイプのイオンの前記標本および/または別のタイプのイオンの前記標本を蓄積することを特徴とする。

40

【0017】

本発明は、質量分析のために使用されるイオン蓄積のうちの少なくとも1つが、ほかの蓄積と実質的に異なるイオン組成を有する方法を導入することによって従来技術の有用性を拡張する。イオンの『タイプ』は、単一の m/z 値または m/z 値の範囲に対応することができる。 m/z 値の範囲は、単一のイオン種を占めるべく、またはその範囲内に入る類似の m/z 値を有する2またはそれより多くのイオン種を含めるべく選択できる。基本的に、2つのタイプのイオンは、繰り返し述べている m/z 値または範囲に単に対応するというよりは、異なる組成を有する必要がある。

【0018】

50

イオン貯蔵の逐次充填の使用は、いくつかの利益を提供する。各充填について充填条件（伝送およびイオン貯蔵内における取り込み）を独立に最適化でき、非常に異なる質量を伴ったイオンの貯蔵が要求されている場合（たとえば小分子に対するタンパク質）には特に有用である。また逐次充填は、異なる充填のために選択された異なる質量範囲の独立操作も可能にする。たとえば、RF電位を使用して、ある充填のための低質量カットオフ（たとえばマトリクスまたは溶剤イオンの除去）を増加し、その後、その次の充填のために低減することができる。本発明は、単一の入口開口だけが利用可能な場合に、正および負のイオン両方のトラッピングも可能にする。また、狭い質量の窓だけ（たとえば、先駆物質の選択について、それが線形トラップまたはクワドラポールを使用して獲得されたか否か）を伝送するべく動作する質量分析の段階が手前にある場合には、この方法が、いくつかの異なる質量の窓（または対応する先駆物質の断片）の貯蔵を可能にする。

10

【0019】

これはまた、システムのコンポーネントの並列動作が望まれており、システムの異なる部分が異なるタイミング要件を有する場合、たとえば同時検出のために、より多くの異なるイオンを蓄積することによって関連する遅延を使用し、それによって遅い検出を伴うシステムを適合させる場合にも有用である。

【0020】

マトリックス支援レーザ脱離イオン化法（MALDI）のようなパルス化イオン源の場合には、逐次充填が、標本スポットからの分析物のイオンの最初の充填、および別の標本スポットからの較正物質化合物のイオンの2番目の充填を可能にする（充填の間の時間は、標本スライドを一方の標本から他方に移動させるに充分である）。

20

【0021】

イオンは、異なる方法で準備でき、たとえば1つのタイプのイオンを先駆物質イオンとし、別のタイプをフラグメント・イオンとすることができる。反応タイプおよび条件の選択等のイオンを生成する条件は、各タイプについて最適化でき、たとえばCID、IRMPD、ECDのような衝突方法における衝突エネルギーおよび断片化における多衝突および単衝突のいずれも変更することができる。

【0022】

先行する測定、またはテスト測定は多くの異なる方法で実行でき、それには、電流検知グリッドの使用、誘導電流、散乱イオン、2次電子、または質量スペクトル計によって以前に獲得された1つまたは複数の質量スペクトルの使用が含まれる。オプションとして、この方法は、第1および第2のタイプのイオンのうちの特定のタイプについて、分析されることになる前記特定のタイプのイオンのテスト標本をテスト注入時間にわたって蓄積し、そのようにして蓄積された前記特定のタイプのイオンの存在量を測定し、前記テスト注入時間および前記特定のタイプのイオンの前記測定された存在量を基礎として前記特定のタイプのイオンの所望の目標存在量を結果としてもたらすことになる目標注入時間を決定し、前記特定のタイプのイオンは、前記組み合わせられた標本の質量分析の前に前記目標注入時間にわたって前記イオン貯蔵内に蓄積されることを含む。

30

【0023】

この方法においては、充填の間に獲得される存在量が自動利得コントロール（AGC）を使用してコントロールされる。このアプローチは、本発明の好ましい実施態様に適用されているとおり、以下の実験的な発見に基づいている。衝突冷却に起因して、蓄積されたイオンの最終エネルギーおよび空間分布が、先行するイオンの処理、たとえばどのように自動利得コントロール・プレスキャンが獲得されるか、充填の数、充填の順序等に依存しない。この最終エネルギーおよび空間分布は、イオン母集団の組成に依存し得るが、ほとんどの精密質量分析器の質量精度に掛かるもっとも重要な影響は、注入されたイオンの総数によって示される。この数がコントロールの下にあれば、直ちに高い質量精度が達成可能になる。

40

【0024】

それに加えて、これは、別々に収集されたイオンの存在量を、測定器のダイナミック・

50

レンジと整合させる補助となる。

【0025】

1つのイオン・タイプの蓄積時におけるAGCの実装をはじめ、AGCは、同様に別のイオン・タイプの蓄積のためにも実装できる。さらに、以下に述べるAGCに対するオプションの改良は、第1または第2のイオン・タイプのいずれか、または両方に関して実装できる。

【0026】

方法ステップの順序は、本発明の範囲から逸脱することなく変更できる。たとえば、第1のイオン・タイプが蓄積され、第1の目標注入時間が決定され、それに第2のイオン・タイプの蓄積および第2の目標注入時間の決定が続き、その後第1および第2のイオン・タイプが、それぞれの目標注入時間に従って蓄積されてもよい。それに代わり、第2のイオン・タイプのための目標イオン注入時間の決定に先行して、第1のイオン・タイプが、その目標注入時間に従って蓄積されてもよい。

10

【0027】

テスト標本および特定のタイプのイオンは、異なるイオン貯蔵に蓄積できる。たとえば、テスト標本をイオン・トラップ内に蓄積できる。このイオン・トラップは、その後、その特定のタイプに属する選択されたイオンが、質量分析器または中間イオン貯蔵に渡され、そこでそれらが蓄積されることを可能にするべく使用できる。

【0028】

オプションとして、この方法は、イオン源を動作させて特定のタイプのイオンを生成させ、その後、生成されたイオンを、テスト注入時間だけ、または目標注入時間だけのいずれかにわたるか、またはその両方にわたる蓄積のためにイオン貯蔵に直接伝送することを包含できる。ソースから直接イオンを蓄積するのではなく、イオンを別の処理から蓄積してもよい。たとえば、特定のタイプのイオンを生成するべく反応セル内においてイオンが反応され、その後それらが蓄積されてもよい。専用反応セルを使用してもよく、その場合においては、特定イオンが、テスト注入時間および/または目標注入時間にわたって蓄積されるべくイオン貯蔵に向けられる。それに代わり、特定のタイプのイオンが反応結果として蓄積されるように、共通構造がイオン貯蔵および反応セルの両方を提供することもできる。この場合においては、テスト注入時間および/または目標注入時間にわたって反応が進行することを可能にできる。反応は、反応セル内に存在する気相との標本イオンの反応等のように、多くの形式を取ることができる。

20

30

【0029】

好適には、特定のタイプのイオンおよびそのほかのタイプのイオンの、組み合わせられた所望の目標存在量が、イオン貯蔵の貯蔵容量または最終質量分析器の動作のためのイオンの最適数と実質的に整合する。イオン貯蔵の貯蔵容量は、要求されるイオン貯蔵のパフォーマンスに関係する傾向にある。たとえば、低下したパフォーマンスが許容可能であれば、より高い容量を使用することができる。この方法においては、イオン貯蔵内に蓄積されるイオンの総数が最適、言い換えれば空間電荷効果が許容不能となることなく最大可能となるか、かつ/または検出器のダイナミック・レンジが最適に使用されるように、トラップされたイオンの量が分配される。

40

【0030】

好ましくはこの方法が、単一イオン源を動作させて両方のタイプのイオンを生成することを包含する。イオン源は、2つのタイプのイオンを生成するために共通ソース材料を使用することさえできる。たとえば、2つのタイプのそれぞれを、そのイオン源によって生成されるイオンの範囲から代わるがわる選択してもよい。当然のことながら、別体のイオン源を使用して2つのタイプのイオンのそれぞれを生成してもよい。

【0031】

質量スペクトル計は、それぞれの蓄積期間にわたって両方のタイプのイオンの蓄積に有利な条件の下に動作させることができる。言い換えると、質量スペクトル計は、部分的に、または全体的に、1つまたは別のタイプのイオンの生成または選択が有利であるように

50

動作させることができる。

【0032】

質量スペクトル計には多くの異なる動作パラメータがあり、いずれかの特定イオン・タイプの蓄積が有利であるように調整できる。たとえば、質量スペクトル計のイオン源は、1つまたは別のタイプのイオンを優先して生成するべく動作させることができる。これは、イオン貯蔵ステップにおけるそのイオンの蓄積と同時に行われてもよく、そのようでもよい。この点を明らかにするため、蓄積されるイオンが、その後に中間イオン貯蔵に排出される前に、最初に、イオン源によって逐次的に生成されるイオンがまとめてイオン・トラップにトラップされ、おおよびその後について第2のイオン源が第2のタイプのイオンを生成するべく動作されるようにできる。

10

【0033】

どのようにして質量スペクトル計が1つのイオン・タイプの蓄積に有利であるように動作され得るかについての追加の例として、1つまたは別のタイプのイオンを選択するべく質量フィルタを動作させることができる。質量フィルタは、多くの形式の1つをとることができる。質量フィルタは、アイソレーション・モードで動作するイオン・トラップに対応することができ、言い換えると、イオンがトラップされ、電圧が印加され、それが結果として、特定の m/z 範囲内のイオンのみの選択をもたらす。質量フィルタは、たとえば、必要な m/z 値のイオンだけが通過できるようにDCおよび/またはAC電圧を設定することによって第1のタイプおよび/または第2のタイプのイオンを優先して伝送するべく動作されるイオン・オブティクスに対応できる。

20

【0034】

オプションとして、イオンのテスト標本のいずれかまたは両方が追加のイオン貯蔵内に蓄積され、その後、質量分析のための別体の質量分析器に排出されるようにしてもよい。

【0035】

本発明の応用においては、イオン・タイプのうちの1つが内部較正物質になり、別のイオン・タイプが分析されるべき標本になる。

【0036】

この方法は、タンデム質量スペクトル測定および MS^n に使用できる。したがって、1つのタイプのイオンが親イオンになり、別のタイプが生成物イオン（または断片化、これらの用語は同義語である）になる。オプションとして、1より多くのタイプの親イオンからの生成物イオンが蓄積されるようにできる。

30

【0037】

上記の方法は、2より多くの蓄積および2より多くのタイプのイオンに拡張できる。たとえば、3またはそれより多いタイプのイオンを逐次的に蓄積できる。さらに、単一より多くの蓄積を使用して、特定のタイプのイオンを得ることができる。

【図面の簡単な説明】

【0038】

【図1】従来技術に従ったタンデム質量スペクトル計の概略図である。

【図2】本発明の第1の実施態様に従ったタンデム質量スペクトル計の概略図である。

40

【図3】本発明の第2の実施態様に従ったタンデム質量スペクトル計の概略図である。

【図4】本発明の第3の実施態様に従ったタンデム質量スペクトル計の概略図である。

【図5】本発明の第4の実施態様に従ったタンデム質量スペクトル計の概略図である。

【図6】本発明の第5の実施態様に従ったタンデム質量スペクトル計の概略図である。

【図7】本発明の第6の実施態様に従ったタンデム質量分析器の概略図である。

【発明を実施するための形態】

【0039】

本発明がより容易に理解され得るように、例示の手段としてのみ、添付図面を参照して好ましい実施態様を説明する。

【0040】

50

本発明を、そのいくつかの態様に従って実施できる周知のタンデム質量スペクトル計を図 1 に示す。パルス化または連続イオン源 10 からのイオンが、質量分析および質量選択機能を有し、かつオプションとして断片化を実行できる質量分析器 20 に収容される。それに代えて、断片化の実行に別体の反応セルが使用されてもよい。イオン源 10 は、MALDI 源、エレクトロスプレー源、または任意のそのほかのタイプのイオン源とすることができる。それに加えて、複数のイオン源を使用してもよい。また質量分析器 20 の手前には、任意数の質量分析段および / またはイオン操作を先行させることができる。

【0041】

本発明のすべての実施態様は、自動利得コントロール検出器 30 を伴い、適切な数のイオンをトラップするべく動作できる。周知の任意の AGC 方法を使用して、その後続く充填のための最適イオン化時間を決定できる。この出願においては AGC が、もっとも一般的に、イオンのセットのサンプリングに基づいて最適充填時間を決定する方法として解釈される。したがって、これは、プレスキャンまたは以前のスキャンからの情報を基礎とする方法を含むだけでなく、そのほかの、イオン・ビームを（好ましくは一様に）インタセプトする電流検知グリッド等のイオンの数を測定する方法も含まれる。例えば、誘導電流を検知する方法、開口上の散乱イオンを検知する方法、2 次電子を検知する方法、および質量分析器 20 によって行われた以前の分析的スキャンを使用する方法などが含まれる。また可能な方法には、ここで以前に述べたものも含まれる。最適イオン化時間を使用して生成されたイオンは、質量分析器 20 内において、たとえば衝突誘導解離によって断片化され得る。イオンは、質量分析器 20 から転送オブティクス（たとえば、RF マルチポール 40）を介して中間イオン貯蔵 50 内に転送され、それにおいてそれらが取り込まれ、トラップされる。中間イオン貯蔵 50 の後には、精密質量分析器 60 が続く。

【0042】

本発明の第 1 の実施態様は、概ね図 1 に類似の、図 2 に示されているタンデム質量スペクトル計上において実施される。この実施態様においては、質量分析器 20 がイオン・トラップ 21 に対応する。イオン・トラップ 21 は、米国特許出願第 2003 / 018375 9 号内に記述されているとおりの、デュアル検出器（30' および 30''）に対するラジアル排出を伴う線形セグメント化クワドラポールである。中間イオン貯蔵 50 は、RF 電圧で動作してトラッピング・フィールドを作り出すマルチポール 51 を含む。マルチポール 51 の両端の電極は、それぞれゲーティング電極 52 およびトラッピング電極 53 として動作する。中間イオン貯蔵 50 は、管 54 を介して、好ましくは 10^{-2} mbar より低い気体が充填される。イオンが貯蔵 50 内に蓄積されるとき、トラッピング電極 53 およびゲーティング電極 52 に掛けられる高い電圧によって反射され、その結果、それらがマルチポール 51 内に残存する。反射間の遷移の間に、トラップされたイオンは、それらのエネルギーを衝突で失う。

【0043】

ここで注意する必要があるが、より低い、たとえば 10^{-3} mbar に満たない圧力においては、イオンがイオン・トラップ 21 からマルチポール 51 へ、単一より多くの通路を必要とすることがあり、言い換えるとイオンが、イオン・トラップ 21 の端とマルチポール 51 の間において複数の反射を必要とすることがある。本件出願人の同時係属特許出願 GB 0506287.2 は、その種の反射トラッピングを述べている。基本的に、イオンは、衝突を通じてエネルギーを失い、最小のポテンシャル・ウェルと所望のロケーションの一致を確保することによってそのロケーションに蓄積される（この場合は中間イオン貯蔵 50 内）。

【0044】

標本の質量分析は、図 2 の精密質量分析器 60 を使用し、以下のとおり、本発明の実施態様に従って実行される。

【0045】

イオン源 10 によって生成された第 1 のタイプのイオンの標本が、あらかじめ決定済みの時間間隔にわたって第 1 の質量分析器 20 内に収容される。質量分析器 20 内の総イオ

ン存在量が、その後、A G C 検出器 3 0 を使用して測定される。

【 0 0 4 6 】

プロセスまたはその類（図示せず）が所望のイオン存在量の達成に求められる必要時間間隔を計算する。概して言えば、このイオン存在量は、あらゆる特定トラッピング・ボリュームの過充填の結果として招かれる空間電荷効果を念頭に置いた精密質量分析器 6 0 または中間イオン貯蔵 5 0 のための最適イオン存在量に関係する。第 1 のタイプのイオンについての所望のイオン存在量は、その後続くほかのタイプのイオンの充填を考慮して、全体の最適イオン存在量の部分になる。質量分析器 2 0 が、中間イオン貯蔵 5 0 および / または精密質量分析器 6 0 より小さい容量を有する場合には、所望のイオン存在量の達成に質量分析器 2 0 の充填が 1 回を超えて必要になることがある。

10

【 0 0 4 7 】

したがって、イオン源 1 0 が、所望のイオン存在量を達成するべく必要な時間間隔にわたって再び質量分析器 2 0 を充填し、そこでそれらがトラップされる。その後、イオンがイオン・オブティクス 4 0 を介して中間イオン貯蔵 5 0 に排出され、そこでそれらが再度トラップされる。したがって、イオン処理の第 1 サイクルは、中間イオン貯蔵 5 0 内にトラップされるイオンの第 1 のタイプの所望の存在量を伴って完了する。

【 0 0 4 8 】

この動作の次のサイクルにおいては、イオン・トラップ 2 1 が、異なる実験シーケンス、たとえば単一 m/z 比の分離、気体衝突における断片化等を実行できる。この実験もまた、結果として得られるイオンの数がコントロールされて第 2 のタイプのイオンについて所望の存在量が達成されるように、A G C コントロールの下において実行される。このシーケンスが終了した後に、イオンが中間イオン貯蔵 5 0 に転送されるが、そこには、以前のサイクルからのイオンが存在している。第 2 の充填からのイオンは、衝突の中でそれらのエネルギーを失い、第 1 の充填からのイオンとまったく同じ方法で貯蔵される。中間イオン貯蔵 5 0 のマルチポール 5 1 内にすでに貯蔵されているイオンの数が、その空間電荷容量に近くない限り、貯蔵プロセスが同じ方法で行われる。しかしながら、マルチポール 5 1 の空間電荷容量は、通常、 10^7 イオンまたはそれを超える。これは、一般に精密質量分析器の許容可能な動作に許されているより高い。イオンは、その後、質量分析のために精密質量分析器 6 0 に排出される。

20

【 0 0 4 9 】

質量分析器 2 0 は、イオン・トラップ 2 1 として上で述べられている。質量分析器 2 0 が伝送タイプ（たとえば、クワドラポール質量スペクトル計）のものである場合には、イオン・オブティクス 4 0 が、A G C プレスキャンの間に、イオンが中間イオン貯蔵 5 0 に入ることを止め、イオンの流れを変えて A G C 検出器 3 0 に到達させるような方法で構成される必要がある。

30

【 0 0 5 0 】

伝送タイプの質量分析器を伴う質量スペクトル計の実施態様が図 3 に示されている。この実施態様においては、好適に、クワドラポール質量分析器 2 2 に R F 専用衝突セル 2 3 が続いている。中間イオン貯蔵 5 0 の適切な充填時間が、A G C 検出器 3 0 によってとられるイオン存在量測定から導き出される。その後、イオン・オブティクス 4 0 が伝送モードに切り替えられて、イオンが、この持続時間にわたって中間イオン貯蔵 5 0 のマルチポール 5 1 に入ることが許され、それにおいてそれらが前述のとおりトラップされる。その後、イオン・オブティクス 4 0 が再び拒絶モードに切り替えられて、そこで第 1 の充填が終わる。

40

【 0 0 5 1 】

トラッピング質量分析器 2 2 に関して前述した充填プロセスとの唯一の相違は、質量分析器 2 2 とマルチポール 5 1 の間における複数の経路の提供という、よりおおきな困難によって述べられる。したがって、衝突セル 2 3 が存在しないときには、より高い気体圧力がマルチポール 5 1 内において好ましい。

【 0 0 5 2 】

50

第2の充填については、質量分析器22が、異なる m/z 値または m/z 範囲を伝送するべく切り替えられ、マルチポール51の充填を行うサイクルが反復される。各充填は、それ独自のAGCプレスキャンを、イオンが中間イオン貯蔵50に入ることが許される前に有し、各イオン・タイプについて所望のイオン存在量が達成されることが保証される。

【0053】

マルチポール51内における衝突冷却に起因して、トラップされたイオンの最終エネルギーおよび空間分布は、質量分析器22のタイプ、充填の数、充填の順序等に依存しない。しかしながら、それが、イオン母集団の組成、衝突気体、および中間イオン貯蔵50の動作パラメータに依存することはある。特に重要なことは、貯蔵されたイオンと衝突気体内の揮発性汚染物質の間にコントロールされていない相互作用が存在しないことの確保である。

10

【0054】

必要な数の充填(2より多いこともある)の後、中間イオン貯蔵50の電圧が、すべての貯蔵済みイオンが一斉に精密質量分析器60内に注入されるような方法で変更される。中間イオン貯蔵50の実際の実施態様は、対応する精密質量分析器60の受け入れと整合しなければならない。

【0055】

FT ICR質量分析器70を伴うタンデム質量スペクトル計の好ましい実施態様が図4に示されている。イオン源10、質量分析器20(イオン・トラップ21または伝送タイプ22のものとするができる)、AGC検出器30、およびイオン・オブティクス40が略図的に示されており、それらは、図2または3のいずれかに従う。図4の中間イオン貯蔵50は、好ましくは2つのセグメント51'および51''を包含するマルチポール51を含む。後者は、よりトラッピング電極53の近くに配置される。貯蔵の間は、この後者のセグメント51''が、より低いDCオフセット(正イオン用)を有し、その結果、イオンが主としてその長さに沿って滞留する。FT ICRセル内へのイオン注入については、電極53上の電圧がセグメント51''のオフセットより下に下げられ、すべての貯蔵済みイオンがイオン案内61内に、さらにその後、磁石80(好ましくは超電導磁石)の中央にあるFT ICRセル70内に収容される。イオンがセル70に入った後は、それらが従来の方法で、すなわち端の電極71、72上の電圧を上昇することによってトラップされる。検出およびデータ処理が、周知の従来技術に従ってそれに続く。

20

30

【0056】

オービトラップ(Orbitrap)質量分析器等の静電トラップ分析器100を伴うタンデム質量スペクトル計の好ましい実施態様が図5に示されている。この実施態様においては、中間イオン貯蔵50が、内側電極56内にスロットを伴う湾曲したクワドラポール55を含む。イオン注入に先行して、開口52および53上の電圧を上昇させることによってクワドラポール55の軸に沿ってイオンを絞ることができる。オービトラップ(Orbitrap)質量分析器100へのイオン注入については、クワドラポール55のRF電圧が、周知のとおりオフに切り替えられる。パルスが電極56、57、および58に印加され、その結果、横行電界がイオンを湾曲したイオン・オブティクス90内に加速する。結果として得られる収束イオン・ビームが注入スロット101を通過してオービトラップ(Orbitrap)質量分析器100に入る。イオン・ビームは、中心電極102上の増加する電圧により軸に向かって絞られる。注入スロット101の時間的空間的集束に起因して、イオンがコヒーレントな軸方向発振を開始する。これらの発振は、電極103上にイメージ電流を生成し、それが、WO 02/078046および米国特許第5,886,346号の中で述べられているとおりに増幅され、処理される。

40

【0057】

TOF質量分析器120を伴うタンデム質量スペクトル計の好ましい実施態様が図6に示されている。この実施態様において、中間イオン貯蔵50の構成および動作は、図5のそれに類似である。図5の実施態様とは対照的に、追加の集束イオン・オブティクス110が、収束イオン・ビームを、より小さい角度の広がりを伴うビームに変換する。このビ

50

ームは、その後、周知の任意のタイプとすることができ、かつ単一または複数の反射のいずれかを伴うTOF質量分析器120内において分析される。また、非常に浅い湾曲を伴って、すなわちまっすぐまたはほとんどまっすぐなロッドを伴って中間イオン貯蔵50内にクワドラポール55を使用することも可能である。

【0058】

本発明に従ったタンデム質量スペクトル計の別の好ましい実施態様が図7に示されている。イオン源10からのイオンが、オブションのイオン案内またはイオン・オブティクス12を通して第1のイオン・トラッピング質量分析器20、30に案内される。これは、前述したとおり、プレスキャンの実行、検出器30を用いたAGCの実行、イオンの処理の選択および操作に使用できる。質量分析器20から、オブションのイオン案内またはイオン・オブティクス40を通して中間イオン貯蔵50にイオンが転送される。転送方法は、たとえば、本件出願人の同時係属特許出願GB 0506287.2の中で述べられている多反射トラッピング方法、本件出願人の同時係属特許出願WO2004/081968の高速ワイドレンジ注入、移動仮想イオン・トラップ転送、またはそのほかの任意の適切な転送方法とすることが可能である。中間イオン貯蔵50は、超電導磁石80の内側において、好ましくはワンチェク(Wanczek)ほか(インターナショナル・ジャーナル・オブ・マス・スペクトロメトリ(Int. J. Mass Spectrom.)「イオン・プロセス(Ion Processes)」、87(1989年)、237~247)によって提案されているとおり、ICRセル140の近くに配置される。中間貯蔵50は、磁気トラップ、RFトラップ、または好ましくはRF貯蔵および強い磁界を伴ういわゆる『組み合わせトラップ』、たとえば両端にトラッピング・プレートを伴う短セグメント化マルチポールRFイオン案内とすることが可能である。

【0059】

この中間イオン貯蔵50は、コンポーネント12~50によって準備され、選択されたイオン源10からの複数の注入の収集に使用される。所望のイオン母集団に到達すると、イオンが、オブションのイオン・オブティクス、イオン案内、および差動圧力段を通してICRセル140に向けて、その後続く貯蔵および検出のために排出される。本発明のほかの利点に加えて、この構成は、特に、一般にFT-ICR内に見られる飛行時間問題の回避に適しており、したがってFT-ICRセル140内に、広い質量範囲をカバーし、かつ注入される成分の期待強度比を有することが可能なイオン母集団を作ることができる。

【0060】

この実施態様に従った中間イオン貯蔵50の複数貯蔵の可能性のある応用は、限定ではないが以下を含む。

【0061】

1. 内部較正物質の信頼できる導入

この場合、イオン貯蔵の1つが、内部較正物質のイオンの蓄積だけに供される。

【0062】

『ロック・マス』としても知られる内部較正物質の使用は、多くの質量スペクトル計の質量精度を向上させる。ロック・マスは、多様な方法で導入可能である。たとえば、内部較正物質を、分析されることになる標本と同じイオン・ストリーム内に存在し、それだけが富化または除去される、たとえばクロマトグラフィ内に遍在する背景イオンとすることができる。それに代えて、化学反応を使用して較正物質が生成されてもよい。内部較正物質がイオン噴霧器または『デュアル噴霧器』等の異なるイオン・ストリームから獲得されてもよく、CIによるロック・マスの生成または強度において整合されるようにできる。システムに導入されるロック・マスの量が分析物の量に対して適合可能であることが望ましい。

【0063】

質量スペクトル計は、(i)標本がAGCを使用して所望の存在量まで導入され、(ii)基準がAGCを使用して所望の存在量まで導入され、かつ(iii)以前に導入され

たイオンがともに質量分析されるように動作させることができる。

【0064】

質量分析器20は、必要なイオン存在量が達成されるまで、較正物質に対応する狭い m/z 窓（好ましくは1Th）だけを選択する。この必要イオン存在量は、総イオン存在量の固定比（たとえば10%）とすることが可能であるが、必要質量精度によって負わされる最小値（通常、質量分析器に応じて、質量精度0.5~2ppmに対し、1,000~10,000イオン）より小さくするべきではない。

【0065】

ロック・マスおよび標本は、異なる『目標』イオン存在量を有することができ、その場合においては、1より多くのロック・マスの使用が有利となることがある。複数のロック・マスは1つのソース/注入からの獲得、および適切な波形による選択ができる（マルチ・イオン分離、たとえばSWIFT）。この複数ロック・マスは、別々に注入されてもよい。

10

【0066】

基準を使用して質量スペクトルを改善することができ、またオプションとして、解釈がユーザにとってより好都合となるように基準質量の表示を抑圧することもできる。

【0067】

複数親MS/MS、質量範囲の拡張、およびMS/MSスキャンにおける較正イオンとしての親スペクトル（フル・スキャン）からの追加の質量の使用（選択されたイオン（1つまたは複数）および異なるイオン（1つまたは複数）のMS/MSを収集する）といった、より高度な実験が可能である。このほかの、AGCの使用を利用するスキームを実装してもよい。たとえば、較正物質（1つまたは複数）のための目標存在量の計算を、プレスキャン情報、スイフト波形またはそのほかの、基準質量パラメータの選択、またはスマートなプレスキャン順序に応じて行うことができる。

20

【0068】

先駆物質スキャン・イオンまたはそのほかの較正イオンを生成物イオンとともに収集することは、現在のほとんどのMSⁿデバイスに見られる重要な問題を解決する。この問題は、生成物スペクトル内への較正質量の導入であり、通常は、較正質量が分離または断片化の間に失われる。

【0069】

30

2. 精密質量分析器の単一スペクトル内における複数MS/MS実験

この場合においては各充填が、異なるエネルギー、または選択された先駆物質イオンの衝突活性化の方法にまで対応する。たとえば、最初の充填が、共振励起によって質量分析器20内に形成されるフラグメントのために行われることが可能であり、それが、より高い質量のフラグメントの高められた表現を提供する。2番目の充填はWO2004/068523内に述べられているとおり、より高い運動エネルギー（好ましくは0.030eV/Th超）において中間イオン貯蔵50内に注入される先駆物質イオンのために行われることが可能である。後者がインモニウムおよび低質量フラグメントのより良好な表現を提供することから、最良の全体的カバレッジが達成される。

【0070】

40

各充填は、最終イオン母集団が全体の活性化/衝突エネルギー範囲に対応するように、活性化または衝突エネルギーにおける増分変化に対応することができる。この方法は、質量分析器の単一スペクトル内における『衝突エネルギー・スキャン』の獲得を可能にし、シーケンスのカバレッジを最大化する。また、いくつかの充填のために、追加の断片化方法、たとえばIRマルチ・フォトン解離、電子転送解離、電子取り込み解離等を使用することも可能である。後者は、質量分析器20、イオン・オブティクス40、または中間イオン貯蔵50内にアレンジすることが可能である。構造的情報の追加の次元を提供するこれらの方法は、ペプチドおよびタンパク質の新たなシーケンシングのための強力なツールとして複数充填と組み合わせて使用することができる。

【0071】

50

イオン数の増加とともに、質量分析器 20 は、高い分解能（たとえば 1 Th）を用いて先駆物質イオンを選択する能力を失う。これに対し、貯蔵されるイオンの数が大きいことは、低強度の断片化生成物の識別にとって非常に有用となり得る。複数充填は、必要な総イオン存在量を、それぞれが高分解能選択の空間電荷限界内となるいくつかのより小さいサブセットに分割することによってこの問題が回避されることを可能にしている。

【0072】

3. 精密質量分析器の単一スペクトル内における複数親 MS / MS

全体の質量範囲がいくつかの部分範囲に分割され、それぞれが、それ独自の先駆物質イオンに対応する。質量分析器 20 の各 MS / MS サイクル内においては、対応する m/z 範囲のフラグメント・イオンだけが貯蔵され、その後、中間イオン貯蔵 50 に転送される。それらの複数充填からのすべてのイオンが精密質量分析器 60 内に注入された後は、各先駆物質イオンを、その正確な質量および対応する部分範囲からのその部分的なシーケンスに従って識別することができる。数値的な例としては、100 ~ 2000 Th の全質量範囲を、100 ~ 200、200 ~ 400、400 ~ 600、... 1800 ~ 2000 Th の部分範囲に分割できる。これらの範囲のそれぞれは、少なくとも先駆物質イオンおよび 1 ないし 3 のそのフラグメントを含む上で十分に広い。この方法においては、たとえばリン酸塩群の損失も容易に識別される。全体的にみてこの種のアプローチは、識別の特定性を保持しつつ、大きさの位数で MS / MS スループットを増加する。

【0073】

別の好ましい実施態様は、精密質量分析器 60 を使用する複数反応監視である。この場合における測定の実施態様は、それぞれが既知の m/z （または中立損失等）を有する先駆物質および 1 つまたは複数のそのフラグメント両方を監視することによって特定の分析物の存在を確認することである。イオン・トラップ 21 は、あらかじめ決定済みの数の特定の先駆物質イオンを選択し、その後それらが、その先駆物質のための最適衝突条件において断片化され、中間イオン貯蔵 50 内に貯蔵される。このサイクルが複数の先駆物質イオンについて反復され、その結果、中間イオン貯蔵 50 内の最終的な母集団が複数の（好ましくは 5 ~ 50 の）先駆物質の MS / MS フラグメントを含むが、それにおいて各セットのフラグメントは、異なる衝突条件において生成できる。結果として得られる母集団は、その後、精密質量分析器 60 に注入されて、そこで検出される。特定の反応の監視は、対応する先駆物質および関心フラグメント・イオンの正確な質量（またはそれらの差）を使用して行われる。可能性のある質量ピークのオーバーラップは、高分解能（好ましくは 10,000 ~ 100,000 または 10,000 ~ 1,000,000）の精密質量分析器 60 の使用をはじめ、その単一の精密質量スペクトル内のイオンのすべての目標セット間における各関心 m/z の一様性の予備チェックによって回避される。

【0074】

複数充填のこの応用、および前述した精密質量分析器の単一スペクトル内における複数 MS / MS 実験は、検出時間が収集時間より有意に長いときにもっとも有用となる。これら 2 つの応用についての別の使用は、最初に完全スキャンを行い、その後、親イオンの特定量の注入を含む MS / MS スキャンを行う。これは、MS / MS スキャンの内部較正を可能にする。

【0075】

4. 中間イオン貯蔵内のイオン - イオン反応

中間イオン貯蔵 50 内の RF マルチポール 51 が（図 4 に示されているように）セグメント 51' および 51'' からなる場合には、反対の極性のイオンをトラップすることが可能である。セグメント 51'' 上の DC オフセットをセグメント 51' および開口 53 のそれより低く設定することは、前者のセグメント 51'' の長さに沿って正イオンが貯蔵されることを可能にする。イオン源 10、質量分析器 20、およびイオン・オブティクス 40 の極性が反転される場合には、負イオンを導入することが可能になる。この場合に負イオンは、開口 52 とセグメント 51'' の間に貯蔵されることになる。最後に、開口 52 および 53 の DC 電圧が RF 電圧によって置き換えられ、51' および 51'' 上のオフセット

が開口 5 2 および 5 3 の D C オフセットと同じレベルに切り替えられる。反応物イオンの数が既知であることから、最終的なイオンの数もより低い精度を通じて予測可能である（以下を参照）。その後、一方の極性の生成物イオンが精密質量分析器 6 0 内に注入される。

【 0 0 7 6 】

負と正のイオンの間の切り替え速度を向上させるために、高い電圧の切り替えを避けることが好ましい。エレクトロスプレイ源の場合には、大気圧から真空へのオリフィスに關し、一方は正の高電圧において、他方は負の高電圧において並列に動作する 2 つの噴霧器を使用することによってこれを達成することができる。両方の噴霧器は連続かつ安定したモードで動作するが、一方の極性のイオンだけが第 1 の質量分析器 2 0 に到達できる。

10

【 0 0 7 7 】

5 . 質量分析器 2 0 外の断片化のためのイオン数コントロールの改善

イオン母集団が A G C 検出器 3 0 の下流において何らかの方法で変更される場合には、質量精度への有害な影響を伴ってイオン存在量のコントロールが一層悪化する。これを回避するために、結果として得られるイオン存在量のオンライン較正が必要になる。これは、結果として得られるイオンを中間イオン貯蔵 5 0 から A G C 検出器 3 0 に逆転送し、総イオン存在量を測定した後、それに応じて到来イオン電流を変更することによって行われる。その種の、A G C 検出器 3 0 の下流におけるイオン変更は以下を含む。中間イオン貯蔵 5 0 内における高エネルギー衝突誘導解離、前述のとりのイオン対イオン反応または追加の外部イオン源を用いる反応、中性気体を用いる反応（単一荷電種またはクラスタの除去、同位元素でラベル付けされた気体を用いる反応、分析物固有の反応等）、表面誘導解離、I R マルチ - フォトン解離、電子取り込みまたは電子転送解離、またはこのほかの断片化のタイプ。タイプは、イオン・タイプに従って選択され、そのイオン・タイプについて最適に動作させることができる。

20

【 0 0 7 8 】

この A G C 検出器 3 0 に向けた逆転送は、特に、複数の注入方法を伴って有用となる。

【 0 0 7 9 】

6 . スペクトルの継ぎ合わせにおける改善

本発明は、スペクトルの継ぎ合わせ、すなわち 1 つの質量分析器によって獲得された 1 より多くの質量スペクトルを組み合わせる単一の質量スペクトルとして呈示することへの代替を提供する。本発明は、2 またはそれより多くの質量範囲がイオン・ストリームから選択されることを可能にし、強いピークの除外、低い強度のエリアの富化、または増加された質量範囲を含むことができる。異なるイオン数を提供するべく異なる質量範囲を蓄積すること、およびその後が続いて獲得される質量スペクトルを、それに応じて調整されたピークの相対強度を用いて呈示することができる。その質量範囲は、その後、質量分析器内においてまとめて蓄積し、かつまとめて分析することができ、別々のスペクトルの獲得およびその後のプロセッシング手段を用いた組み合わせが行われなければならないということはない。

30

【 0 0 8 0 】

質量スペクトル内のピークの調整は、ここに述べられている「スペクトルの継ぎ合わせ」だけでなく、多くの応用の中で使用され得る。たとえば、関心ピークが強められること、または不要 / 自明なピークが減衰されるか、さらには除去されることが、それらのピークの原因である流入イオンの数の適切なコントロールによってできる。それに加えて、これらのピークは、精密質量分析器 6 0 のデータの獲得に先行してそれらのイオンが処理される場合に、ストア済みの動作パラメータの使用を通じて質量スペクトルとして表示されるときに操作できる。

40

【 0 0 8 1 】

7 . 分析物の有用性における改善

中間イオン貯蔵 5 0 に続く精密質量分析器 6 0 は、注入されるイオンの少なくともいくつかは中間イオン貯蔵 5 0 に戻されてさらに蓄積されるような方法で動作させることがで

50

きる。これは、TOFタイプの質量分析器、および主として質量分析のその先の段階が下流において企図されているときに特に適している。このアプローチは、低強度信号の有用性を改善する。

【0082】

上記の場合のそれぞれについて、質量スペクトルが獲得されることになるイオンのタイプの選択は、以前の質量スペクトルから獲得された情報に基づくことができる。たとえばこの情報は、質量、電荷、 m/z 、イオン電流、質量スペクトル内のランク、同位元素パターン、総イオン電流、クロマトグラフィのピークの立ち上がり時間、およびこれらの類のいずれかまたはいずれかの組み合わせを含むことがある。以前の質量スペクトルは、WO 03/019614の中で述べられている方法と同様に、イオンがイオン・トラップ21を通して精密質量分析器60に向けて伝送される短いプレスキャンに対応できる。

10

【0083】

本件出願人の特許出願PCT/EP04/010735の中で述べられているとおり、イオンの並列処理を採用して質量分析器のスループットを増加できる。たとえば、以前の反応済みイオンのセットからの質量スペクトルの獲得と同時に、以前の蓄積済みイオンのセットの反応が行われている間にイオンの生成および蓄積が行われるように、イオン処理の異なる部分を同時に実行することができる。

【0084】

当業者によって認識されるとおり、上に述べた実施態様に対する変形を、本発明の範囲から逸脱することなく行うことができる。

20

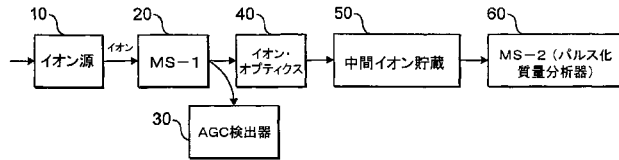
【符号の説明】

【0085】

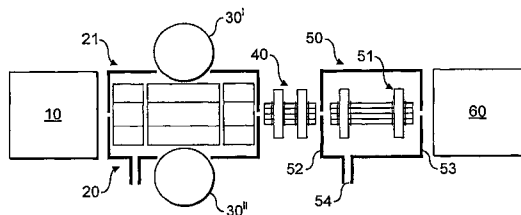
10 イオン源、12 イオン・オブティクス、20, 22, 70, 100, 120 質量分析器、21 イオン・トラップ、23 衝突セル、30 自動利得コントロール検出器、40 イオン・オブティクス、50 中間イオン貯蔵、51 マルチポール、51', 51'' セグメント、52 ゲーティング電極、53 トラッピング電極、54 管、55 クワドラポール、56 内側電極、60 精密質量分析器、61 イオン案内、71 電極、80 超電導磁石、90 イオン・オブティクス、100 静電トラップ分析器、101 注入スロット、102 中心電極、103 電極、110 集束イオン・オブティクス、140 セル。

30

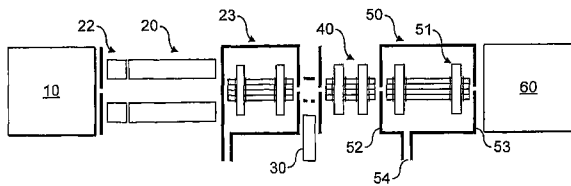
【図 1】



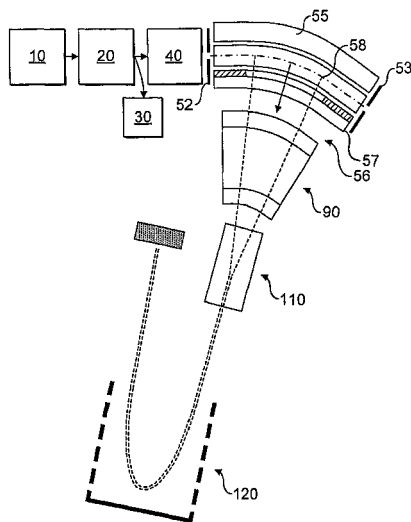
【図 2】



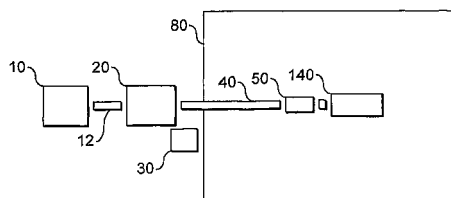
【図 3】



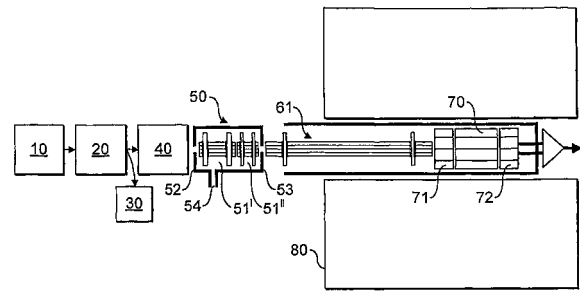
【図 6】



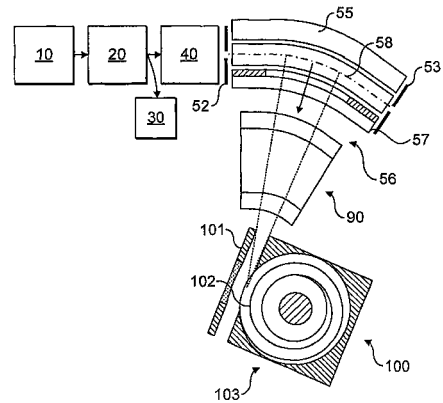
【図 7】



【図 4】



【図 5】



フロントページの続き

(72)発明者 ランゲ オリベル

ドイツ プレーメン リランタレール ヘールストラッセ 9 4

(72)発明者 ホーニング ステファン ロイ

ドイツ デルメンホルスト ゴエテストラッセ 6 3

F ターム(参考) 2G041 CA01 GA08 GA09 KA01

5C038 HH05 HH28