



(10)授权公告号 CN 105342646 B

(45)授权公告日 2019.06.28

(21)申请号 201510684162.6

(22)申请日 2010.05.27

(65)同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 105342646 A

(43)申请公布日 2016.02.24

(30)优先权数据
61/181,421 2009.05.27 US

(62)分案原申请数据
201080032360.X 2010.05.27

(73)专利权人 英国质谱有限公司
地址 英国柴郡

(72)发明人 邹坦·塔卡茨

(74)专利代理机构 北京英赛嘉华知识产权代理
有限责任公司 11204

代理人 王达佐 洪欣

(51)Int.Cl.
A61B 10/02(2006.01)
G01N 1/02(2006.01)

(56)对比文件
WO 2007140351 A2,2007.12.06,
US 2008149822 A1,2008.06.26,
US 2004/007673 A1,2004.06.15,
US 2007176113 A1,2007.08.02,
WO 2007138371 A2,2007.12.06,

审查员 朱晓旻

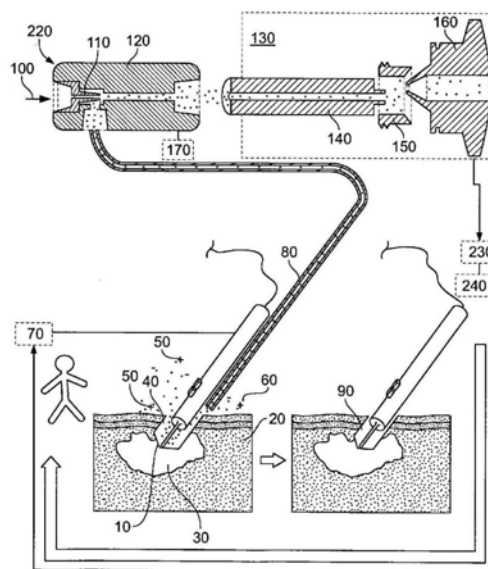
权利要求书4页 说明书15页 附图12页

(54)发明名称

用于鉴定生物组织的系统和方法

(57)摘要

本发明提供了用于分析、定位和/或鉴定组织类型的系统、方法和装置。所述方法包括分析、定位和/或鉴定一个或多个组织样品,其特征在于,所述方法包括:(a)从一个或多个组织样品中的位置产生气态组织颗粒,(b)将气态组织颗粒从所述位置传输到分析仪中,(c)使用分析仪来产生基于气态组织颗粒的组织相关数据,以及(d)基于组织相关数据来分析、定位和/或鉴定一个或多个组织样品。当一个或多个手术工具是电离作用的集成部件时,本发明可以与手术过程密切联合使用,或者本发明也可以用作单独的质谱探针,用于分析一个或多个组织部分。



1. 用于分析、定位和/或鉴定一个或多个组织样品的系统,其包括:

分解装置,其被配置为接触所述一个或多个组织样品的位置并且从所述位置产生气态组织颗粒,其中所述分解装置通过超声处理、焦耳加热、接触加热和辐射加热之一进行工作;

传输装置,其被配置成将所述气态组织颗粒从所述位置传输到分析仪中;和

与所述传输装置可操作地连接的分析仪,所述分析仪被配置为产生基于所述气态组织颗粒的组织相关数据,其中所述组织相关数据可以用于分析、定位和鉴定所述一个或多个组织样品中的至少一种。

2. 用于在手术过程中原位地鉴定一个或多个组织样品的系统,其特征在于,所述系统包括:

具有分解部分的手术装置,所述分解部分用于接触所述一个或多个组织样品的位置以从所述位置产生气态组织颗粒,其中所述分解部分通过超声处理、焦耳加热、接触加热和辐射加热之一进行工作;

传输管,用于收集所述气态组织颗粒并将所述气态组织颗粒从所述位置传输到质谱仪中,其中所述传输管被共轴地安装到所述手术装置上;

用于在所述传输管中产生压力梯度的泵,以便于所述气态组织颗粒从所述位置传输到所述质谱仪中;

用于电离所述气态组织颗粒从而产生多个气态的源于组织的离子的电离装置;

与所述传输管可操作地连接的质谱仪,其用于产生基于多个气态的源于组织的离子的组织相关质谱数据,其中通过将所述组织相关质谱数据与对应于多种已知组织类型的质谱记录库进行比较来连续分析或鉴定所述一个或多个组织样品;以及

反馈装置,其用于将所述一个或多个组织样品的分析或鉴定信号传输到使用者,其中所述信号传输连续地显示给所述使用者。

3. 质谱数据获取方法,其包括:

使样品中的目的区域与能够产生气态样品颗粒的分解装置相接触,其中所述分解装置通过超声处理、焦耳加热、接触加热和辐射加热之一进行工作;

产生气态样品颗粒,其中所述气态样品颗粒包括带电样品颗粒和中性样品颗粒中的至少一种;

将多个所述气态样品颗粒从所述目的区域传输到质谱仪中;以及

使用所述质谱仪来获取响应于来自所述目的区域的气态样品颗粒的样品相关数据。

4. 如权利要求3所述的方法,其特征在于,所述产生步骤在基本上大气压下实现。

5. 生物组织分析方法,其包括:

使用已知的手术工具从样品中的靶位置产生大量样品颗粒,其中在产生所述大量样品颗粒之前不制备所述靶位置,其中所述大量样品颗粒包括气态带电颗粒和气态中性颗粒中的一种或多种,其中所述手术工具包括电手术工具、激光手术工具或超声手术工具中的一种;

将至少一部分所述样品颗粒从所述靶位置传输到样品分析仪中;

使用所述样品分析仪分析至少一部分所述样品颗粒;

产生响应于所述分析的数据;

解释所述产生的数据以生成响应于所述样品中靶位置的特性的结果;以及
将所述结果传递给使用者。

6.如权利要求5所述的方法,其特征在于,大量样品颗粒在基本上大气压下产生。

7.如权利要求5所述的方法,还包括电离所述样品与所述分析仪之间的至少一部分所述气态中性颗粒。

8.样品分析方法,其包括:

使用分解装置以从样品中的位置产生样品颗粒,其中所述样品颗粒在基本上大气压下产生,其中所述分解装置通过超声处理、焦耳加热、接触加热和辐射加热之一进行工作;

将所述分解装置产生的第一多个所述样品颗粒传输远离所述位置;

将所述分解装置产生的第二多个所述样品颗粒呈递到能够产生响应于多个样品颗粒的数据的分析仪中;

分析所述分解装置产生的第三多个所述样品颗粒;以及

将所述分析步骤的结果传递给使用者。

9.如权利要求8所述的方法,其特征在于,在产生所述样品颗粒之前不制备所述样品。

10.如权利要求8所述的方法,其特征在于,所述样品颗粒包括带电的气态样品颗粒、中性气态样品颗粒、带电的气溶胶样品颗粒和中性气溶胶样品颗粒中的一种或多种。

11.如权利要求8所述的方法,其特征在于,所述样品颗粒包括单个分子、分子群和分子簇中的至少一种。

12.如权利要求8所述的方法,其特征在于,将所述样品颗粒呈递到所述分析仪中的步骤包括使用具有接近所述样品的第一端和接近所述分析仪的第二端的传输装置传输所述第一多个样品颗粒。

13.如权利要求12所述的方法,其特征在于,所述传输装置的工作温度为约20℃至约400℃。

14.如权利要求12所述的方法,还包括在所述传输装置的第一端与所述传输装置的第二端之间产生压力差以促进所述第一多个样品颗粒向所述分析仪移动。

15.如权利要求12所述的方法,其特征在于,所述传输装置含有被配置成捕获大颗粒的填充物。

16.如权利要求12所述的方法,其特征在于,所述传输装置包括自由部分和固定部分,其中所述自由部分在使用期间具有移动范围,并且其中所述固定部分在使用期间基本上保持静止。

17.如权利要求14所述的方法,其特征在于,泵被用于产生所述压力差。

18.如权利要求17所述的方法,其特征在于,所述泵被插入在所述分解装置与所述分析仪之间。

19.如权利要求17所述的方法,其特征在于,所述泵为文丘里气体喷射泵。

20.如权利要求17所述的方法,还包括用并入所述泵的电离装置电离至少一些所述样品颗粒以产生样品离子。

21.如权利要求8所述的方法,其特征在于,所述分析仪包括被配置成分析离子的分析仪。

22.如权利要求21所述的方法,其特征在于,所述分析仪包括质谱仪和离子迁移率谱仪

中的至少一种。

23. 如权利要求8所述的方法,还包括在产生所述样品颗粒之后电离至少一些所述样品颗粒以产生样品离子。

24. 如权利要求23所述的方法,其特征在于,所述电离在约大气压下发生。

25. 如权利要求23所述的方法,其特征在于,所述电离在约真空压力下发生。

26. 如权利要求24所述的方法,其特征在于,所述电离使用大气压光致电离、电晕放电电离和二次电喷雾电离中的至少一种实现。

27. 如权利要求25所述的方法,其特征在于,所述电离使用辉光放电电离、化学电离、电子俘获电离、电子碰撞电离和光致电离中的至少一种实现。

28. 如权利要求8所述的方法,还包括向使用者实时连续提供所述结果。

29. 如权利要求8所述的方法,还包括经由视听警告向使用者提供所述结果。

30. 如权利要求8所述的方法,其特征在于,所述样品包括体内生物组织。

31. 如权利要求8所述的方法,其特征在于,所述样品包括离体生物组织。

32. 如权利要求8所述的方法,其特征在于,所述分析步骤的结果包括鉴定存在目的物质和不存在目的物质中的至少一种。

33. 如权利要求8所述的方法,其特征在于,所述分析步骤的结果包括样品组成数据集。

34. 如权利要求33所述的方法,还包括将所述样品组成数据集与已知的样品组成数据集文库进行比较。

35. 用于分析生物样品的系统,其包括:

分解装置,其用于在无样品制备时从所述样品中的位置产生样品颗粒,其中所述分解装置通过辐射加热进行工作;

传输装置,其被配置成将所述样品颗粒传输远离所述位置;

电离装置,其用于电离远离所述位置的至少一部分所述样品颗粒以产生样品离子;以及

分析仪,其与所述传输装置可操作地连接的并且被配置为产生至少基于所述样品颗粒的样品相关数据。

36. 如权利要求35所述的系统,其特征在于,所述分解装置被配置成分解至少一部分所述生物样品以产生样品颗粒,所述样品颗粒包括带电的气态颗粒、中性气态颗粒、带电的气溶胶颗粒和中性气溶胶颗粒中的一种或多种。

37. 如权利要求36所述的系统,其特征在于,所述分解装置包括激光装置。

38. 如权利要求36所述的系统,其特征在于,所述样品颗粒包括单个分子、分子群和分子簇中的至少一种。

39. 如权利要求35所述的系统,其特征在于,所述分析仪包括质谱仪和离子迁移率谱仪中的至少一种。

40. 如权利要求39所述的系统,其特征在于,所述质谱仪包括用于在所述传输装置内产生压力梯度的真空系统以促进所述样品颗粒从所述位置移动至所述质谱仪。

41. 如权利要求35所述的系统,其特征在于,所述传输装置包括传输管被共轴地安装到所述分解装置。

42. 如权利要求35所述的系统,其特征在于,所述传输装置包括传输管,所述传输管具

有被配置成接收所述样品颗粒的第一端以及被配置成将所述样品颗粒递送至所述分析仪的第二端。

43. 如权利要求42所述的系统,其特征在于,所述传输管的工作温度为约20℃至约400℃。

44. 如权利要求35所述的系统,其特征在于,所述系统还包括用于在所述传输装置内产生压力梯度的泵以促进所述样品颗粒从所述位置传输至所述分析仪。

45. 如权利要求44所述的系统,其特征在于,所述电离装置被并入所述泵中。

46. 如权利要求35所述的系统,其特征在于,所述电离装置能够在约大气压下电离所述样品颗粒。

47. 如权利要求46所述的系统,其特征在于,所述电离装置包括电晕放电电离装置和二次电喷雾电离装置中的至少一种。

48. 如权利要求35所述的系统,其特征在于,所述系统还包括反馈装置,其被配置成向使用者实时连续提供所述样品相关数据。

49. 如权利要求35所述的系统,其特征在于,所述样品包括体内生物组织。

50. 如权利要求35所述的系统,其特征在于,所述样品包括离体生物组织。

51. 用于在手术中原位地鉴定生物组织的系统,其包括:

手术装置,其具有被配置成从组织中的位置产生组织颗粒的分解部分,其中所述组织颗粒包括带电的气态颗粒、中性气态颗粒、带电的气溶胶颗粒和中性气溶胶颗粒中的一种或多种,其中所述手术装置包括电手术工具、激光手术工具或超声手术工具中的一种;

传输装置,其具有第一端和第二端,并且被配置成收集接近所述组织中的位置的所述组织颗粒并且将所述组织颗粒呈递给分析仪;

增压装置,其被配置成在所述传输装置的第一端与所述传输装置的第二端之间产生压力差;

电离装置,其被配置成电离所述组织颗粒以产生带电的气态颗粒和带电的气溶胶颗粒中的一种或多种,其中所述带电的气态颗粒和带电的气溶胶颗粒包括源于组织的离子;

分析仪,其被配置成从所述传输装置接收组织颗粒并且产生响应于源于组织的离子的样品相关数据,其中所述源于组织的离子通过将样品相关数据与对应于多种已知的组织类型的现有参考数据库进行比较来分析;以及

报告装置,被配置成在手术过程中向使用者提供分析结果。

52. 如权利要求51所述的系统,其特征在于,增压装置包括流体连接于传输管与分析仪之间并被配置成在传输管中产生压力梯度的泵,其中所述泵包括电离装置,其中所述电离装置包括电晕放电电离装置和二次电喷雾电离装置中的至少一种。

53. 如权利要求51所述的系统,其特征在于,所述手术装置具有用于手术目的的足够的功率进行操作。

用于鉴定生物组织的系统和方法

[0001] 相关的优先权申请

[0002] 本申请要求2009年5月27日提交的第61/181,421号美国临时申请的优先权,通过引用将其内容并入本文。

发明领域

[0003] 本发明涉及用于分析、定位和/或鉴定组织的系统和方法。更具体地,本发明涉及通过将组织分解和诸如质谱分析的分析方法相结合来实时地和原位地分析、定位或鉴定组织的装置、系统和方法。

[0004] 发明背景

[0005] 在整个申请中,在方括号中引用的多篇参考文献是用于更加充分地描述本发明所属领域的状况。因此通过引用将这些参考文献的公开内容并入本发明中。

[0006] 在恶性疾病过程的诊断和治疗期间,病变或异常组织的鉴定是至关重要的。通常,基于使用影像学方法所获取的信息来诊断癌症。某些影像学方法(CT、MRI)能给出高分辨率成像,但不能提供足够的信息来鉴定恶性增殖。其它方法,尤其是核成像技术,提供了较差的分辨率,但是却易于鉴定包括各种类型癌症的增殖组织部分。因此,可以联合使用两种类型的成像方法(PET/CT、PET/MRI)来鉴定和正确定位癌症。

[0007] 通常,通过组织学或细胞学方法得到确诊。组织学是用于鉴定异常/病变组织的金标准方法,因此组织分类是基于组织样品的组织学检查。组织学方法通常包括以下步骤:(1)取样(活组织检查或手术),(2)固定样品,其中主要使用福尔马林,(3)将样品处理或包埋到固体基质中,(4)切割获得2-10 μ m厚的切片,(5)染色,和(6)在显微镜下观察切片。染色能从根本上确定所获得信息的类型。常规的染色剂(例如伊红-苏木精)能够根据形态特征来鉴定细胞,然而免疫组织化学染色揭示了细胞中某些蛋白质的存在。

[0008] 作为组织学/组织病理学的替代方法,细胞病理学方法也被广泛地使用。对于细胞病理学方法,仅从生物液体或者直接从组织块(吸取细胞病理学)采集细胞作为样品,并且与组织学方法类似,在合适的染色处理后,在显微镜下观察样品。

[0009] 组织病理学/细胞病理学和影像学方法都成功地用于癌症的诊断和抗癌治疗的跟踪。但是,与手术前后可用的信息量相比,外科医生对于恶性组织相对于手术部位上可见特征的实际位置仅可得到很少的信息。在通常的情况下,外科医生依靠的是术前的成像和他/她自己的感觉,特别是触觉和视觉方面的感觉。

[0010] 通常,通过切除肿瘤的术中组织病理学检查来解决恶性组织的定位问题。通过将新切除的组织冷冻并将其送到病理学实验室中来进行术中组织病理学检查,在实验室中将样品切片、染色并在显微镜下检查。该步骤的目的是检查切除组织的所有边界是否都是“清晰的”(即,仅切到健康组织)。虽然该步骤被广泛地使用,但是它有一些缺陷,包括病人需要在手术室内暴露手术伤口约20分钟的时间和样品的次优化处理导致结果的可靠性低。

[0011] 为术中肿瘤定位而开发的其它方法包括手术期间使用各种影像学方法。超声波检查和X射线荧光检查已长期用于跟踪手术过程,但是它们的使用通常会中断手术介入。最

近,已经开发出基于MRI和CT的专用成像系统用来为外科医生提供实时信息。最近,术中成像系统已配备有导航装置,有助于将图像联系到视觉可见特征。虽然这些系统被证明在某些应用中非常有用,例如在脊柱手术中,但是它们不能鉴定手术区域的少量肿瘤组织或小的近处转移。

[0012] 最近开发的一组有前景的技术利用恶性组织的选择性化学标记。标记分子携带放射性核素或荧光部分。因为增殖性细胞积累这些分子,所以例如通过伽马照相机或红外照相机可以观察到它们。这些方法成功地用于检测近处转移,例如检测原发肿瘤附近的积累肿瘤细胞的所谓前哨淋巴结。这些方法的缺点在于它们对某些肿瘤的选择特性、它们与手术技术的不相容性和标记的不利副作用。必须注意,可以借助于近红外双光子激光器诱发的荧光来检测黑色素瘤而无需进行标记,但是这种技术仅能用于检测皮肤表面上的原发黑色素瘤。

[0013] 通常可以根据恶性肿瘤的加速代谢而将恶性肿瘤与健康组织区分开。肿瘤细胞积累基本营养素或与这些基本营养素类似的分子(例如氟代脱氧葡萄糖--FDG)。当利用放射性核素(PET中的¹⁸F)或荧光部分标记这些营养素或假营养素分子时,使用适当的显像方法能观察到肿瘤。除加速的代谢之外,肿瘤在许多不同方面与健康细胞不同。例如,从小的代谢组分的分布到不同的蛋白质表达和翻译后修饰模式,肿瘤显示出明显不同的化学组成。这些化学特征可用于肿瘤的免疫组化检查,以及用于使用红外分光光度法或质谱法的组织切片的化学成像。在这些方法中,质谱法是唯一可以作为使用不同组织的不同化学组成的原位和体内组织鉴定工具的基础的技术。

[0014] 为了分析气态或挥发性材料,已常规开发出质谱电离法。这些电离法的一个缺点在于,它们缺乏分析不挥发性化合物的能力。此类化合物包括肽、蛋白质、核酸、碳水化合物等;即约90%的生物学相关分子。

[0015] 从二十世纪七十年代开始,已开发出电离法的新家族,其能够在气/固或气/液界面上将凝相分子直接转化为离子,并且随后从表面解吸新生离子。这些电离法总称为“解吸电离”方法。

[0016] 第二代解吸电离法采用替代的电离方式,即,通过利用所谓的分析束(analytical beam)来进行电离。分析束包括被引导到样品表面上的高能粒子(原子、分子、原子或分子的离子、光子等)。分析束对表面的冲击引起微爆炸,从而产生表面材料的气态离子和分子。利用分析束的早期方法是等离子体解吸电离,其使用由铷同位素的放射性衰变而产生的高能粒子[Macfarlane RD, et al. Science, 191 (4230), 920-925. 1976]。

[0017] 等离子体解吸利用种类不清的发散束,而二次离子质谱(SIMS)使用由静电场加速到10-30keV的原子或簇离子的准直束[Bennighoven, A, Surface Science 28 (2) 541-1971]。由于聚焦离子束的截面, SIMS能够实现高达10nm的空间分辨率。尽管空间分辨率很高,但是对经历SIMS电离的分子的分子量范围的限制大大阻碍了SIMS的广泛应用。通常,可以利用SIMS检测分子量低于1kDa的分子,但是即使在这样窄的分子量范围内,对于较重的离子也较难检测。方法还可以用于深入分析(动态SIMS),但是,在这种情况下,较高能量的离子束主要产生原子离子。还开发了利用SIMS电离研究液体样品(液体SIMS;LSIMS)[Aberth, W, Analytical Chemistry, 54 (12): 2029-2034 1982]。液体SIMS与原有技术相比具有许多优点,包括:更宽的分子量范围(MW<10kDa)、更好的可重复性和灵敏性。LSIMS的一个缺点在

于,在分析之前必须将样品溶于甘油或硝基苯甲醇中。此步骤经常涉及溶解性问题,并且固体样品溶解后显然无法进行任何种类的空间解析分析。其它缺点包括:对以这种方式电离的物质的分子量的限制虽然更小,但还存在。

[0018] 通过用高速惰性气体原子束代替一次离子束,进一步发展了LSIMS方法。该高速惰性气体原子束技术称为“快速原子轰击”(FAB),并且与LSIMS相比具有更多的优点[Williams,DH et al,JACS,103(19):5700-5704 1981],但是该方法实际上还保留了原有方法的所有缺点,包括对分子量的高度限制和空间解析分析能力的损失。

[0019] SIMS技术发展的另一个方向是增加入射(一次)离子的质量。最终,此研究导致了所谓的大簇碰撞(massive cluster impact,MCI)电离的开发,其使用多电荷液体(通常为甘油)小滴作为类似SIMS的实验设备中的入射物[Mahoney,JF Rapid Communications in Mass Spectrometry,5(10):441-445 1991]。将小滴加速到2-10keV/电荷,并且将高能小滴束引导到携带样品材料的表面上,样品材料可以是固态或液态。与SIMS相比,MCI的实质性优点是进一步扩大的质量/电荷范围,更重要的是,MCI主要产生诸如蛋白质的大分子物质的多电荷离子。此优点允许获得详细的质谱信息,例如蛋白质的测序。MCI仍具有下述缺点:分子量范围受限、设备复杂和由于碰撞的甘油滴的溅射效果而导致样品之间的交叉污染。虽然该方法理论上具有空间解析分析的能力,但是已知的现有技术中对该能力的开发尝试都失败了。

[0020] 上述方法的共同缺点在于,它们通常严格地,在高真空条件下工作。因此,样品被引入质谱仪的高真空状态,这导致了对样品的组成和几何形状的限制并且还需要专门的进样系统。

[0021] 从二十世纪八十年代早期开始,开发出了激光解吸电离法[Cooks,RG et al.JACS,103(5):1295-1297,1981]。与SIMS类似,简单的激光解吸电离提供的电离效率较差,并且它们只能用于研究相对有限数量的分子。通过使用所谓的基质化合物,使激光解吸方法彻底变革。基质化合物通常与样品在溶液相中混合,并且被共结晶到携带靶表面的样品上。因为使用的基质化合物是过量的,所以得到的样品由基质化合物晶体组成,分析物分子被包埋在基质化合物晶体的晶格中。使用基质化合物能显著增加电离效率,还扩展了这些方法的应用领域。基质辅助的激光解吸电离(MALDI)[Karas,Hillenkamp,Analytical Chemistry,60(20):2299-2301,1988]广泛地用于完整蛋白质的分析和基于胰蛋白酶消化物的MS研究的蛋白质鉴定,以及聚合物、核酸和碳水化合物分析。MALDI的主要缺点包括低离子产出、主要产生单电荷离子以及仅能在基质化合物的沉积之后研究天然表面。

[0022] 最近提出了能在大气条件下工作的解吸电离法的需求。大气压解吸电离法的优点包括:(1)样品不被引入质谱仪的真空范围中,这使得分析过程更快且更灵活,(2)因为样品不进入真空,因此不需要去除诸如水的挥发性组分,(3)可以以此方式研究/分析任意对象,(4)可以以体内和原位的方式研究包括活生物在内的生物系统,该特征使这些方法能应用于原位组织鉴定。利用原子、离子、分子或分子簇的准直束的解吸电离法不能在大气压条件下使用,因为由于颗粒与气体分子的连续碰撞而不能在高压下将颗粒加速到合适的速度。相同的现象还造成了在更高压力下颗粒束的极度发散,这还阻碍了实际分析束的形成。

[0023] 在上述方法中,因为激光束在电离条件下不与空气分子相互作用,因此只有激光解吸电离可以在大气压下实施,而无需对仪器做出重大的改动。Laiko等人研发了大气压

MALDI [Laiko et al. (2000), *Anal. Chem.*, 72, pages 652-657]; 但是此技术没有得到普及, 这是由于离子产出较低 (大气界面中的 99% 离子损失进一步加重了该问题) 和通常由于在开放的实验设备中的使用激光的带来的工作场所的安全问题。

[0024] 最近开发的解吸电喷雾电离 (DESI) [Takats et al., *Science*, 2004] 从分类/现象上是上述 MCI 技术的大气压版本。两种方法都使用多电荷溶剂小滴作为分析束, 但是对于 DESI, 通过电喷雾产生小滴, 且利用超声气流而不是静电场梯度来加速小滴。尽管如此, DESI 已经实现了与大气压解吸电离法有关的所有期望, 因此它提供了对任意对象的化学组成、尺寸和几何形状方面进行质谱分析的可能性。在 DESI 处理的过程中, 高速电喷雾小滴与样品表面碰撞。碰撞的小滴溶解表面上存在的分子, 并且发射带电的二次小滴。携带表面材料的带电二次小滴最终遵循公知的电喷雾电离机理而产生离子。

[0025] 借助于质谱法对组织的研究是以两种在本质上不同的方式进行的。一种方法关注于组织中存在的化合物群体的系统表征, 而另一种策略专注于组织的快速、直接的 MS 指纹鉴定。第一类中的方法通常先将大量组织匀浆和裂解, 然后选择性地提取感兴趣的化合物群体 (例如蛋白质或磷脂等)。利用电泳法或色谱法分离化合物, 然后通过质谱法进行检测。虽然这些方法不能用来快速鉴定组织, 但是它们提供了关于一种或另一种类型的组织的特征性标志物分子的宝贵信息。

[0026] 通常通过如上所述的解吸电离法来实现组织的快速质谱指纹鉴定。组织的 SIMS 分析给出的特征性谱主要显示磷脂片段, 但是该技术必须要在高真空条件下工作, 因此它不能用于组织的体内分析。根据使用的基质化合物的类型的不同, 组织样品的 MALDI 分析给出的谱描述高含量蛋白质的离子或者常见膜脂的离子。虽然两种谱都是特征性的并且能显示出恶性肿瘤的特有特征, 但是这些方法仍然不能用于体内分析, 因为基质化合物的沉积与活体生物是不相容的。使用红外激光器 (Er-YAG 或 CO₂) 的直接激光解吸电离是 MALDI 的特例, 其中样品的水成分作为基质。这种方法与体内分析完全相容 (这些红外激光器广泛地用于手术中), 但是, 至今还没有利用该方法进行组织鉴定的报道。最近开发的 DESI 法给出了表征各种膜脂的谱, 提供了多种组织的特征性图。与 MALDI 不同, DESI 分析不需要任何样品准备, 因此可以研究活体组织的新切的表面。但是, 活体组织的 DESI 分析不能产生确定性的数据, 因为从所研究的表面漏出的血液和间质液会产生干扰。DESI 分析的其它缺点是在活体生物附近使用 4-5kV DC 所带来的安全问题。

[0027] 从上述对 MS 领域的目前技术的分析中可以总结出: 大量的蛋白质和磷脂给出了不同组织的 DI 质谱中的特征性分布, 但是对于体内 MS 分析, 还没有开发出合适的电离法。

[0028] 从二十世纪六十年代晚期以来, 已经开发了通过快速加热的浓缩相非挥发性样品的电离。这种方法的原理是使用足够高的加热速率来实现可与分析物分子的分解速度相比的裂解速率。在二十世纪七十年代早期, Friedman 等人已经描述了通过快速加热成功电离氨基酸和肽。这些实验的设想机理与固相中存在的离子种类的直接裂解有关。这些实验的实验实施被限制为使纯的结晶分析化合物接触加热。对更高效的加热方法的探索实现了激光在质谱离子源中的应用, 并且最终开发出如上所述的各种激光解吸电离法 (包括 MALDI)。

[0029] 作为激光加热的替代方案, 还研究了溶液相化合物的热辅助喷雾分解 (参见例如 Vestal et al., *Anal. Chem.* (1980), 52, pages 1636-1641)。因为真空或惰性气体环境中的喷雾分解显著增加了分解速率, 从而将完整的分子成功地转换为气相。这些方法被称为“热

喷雾”，而且在二十世纪八十年代晚期和九十年代早期被广泛用作HPLC-MS的交接。大部分热分解方法导致压倒性的中性种类的形成；因此这些方法经常与后电离技术相结合。通常通过电子碰撞(EI)或化学电离(CI)来进行后电离。最近，已经引入了一种类似的方法，其利用通过样品的激光消融而获得的气态种类的电喷雾后电离。

[0030] 本领域现需要具有下述特点的基于MS的装置、系统和方法：可以用于生物组织的直接原位研究、不损伤所研究的生物体、在较短的时间内给出不同类型组织的特征性质谱、并且还可以在手术室中使用，因此能有利地作为一个或多个手术工具或切开工具的集成部件。

[0031] 发明概述

[0032] 本发明提供了用于分析、定位或鉴定组织类型的新的装置、系统和方法。本发明的新的装置、系统和方法能够提供生物组织的原位研究，而不会损伤所研究的生物体的，并且本发明的新的装置、系统和方法能够在对组织进行操作(例如手术操作)期间提供实时反馈。例如当一个或多个手术工具是电离的集成部件时，本发明的装置、系统和方法可以与手术操作紧密结合地使用，或者本发明的装置、系统和方法还可以作为单独的质谱探针来分析手术暴露区域的一个或多个组织部分。

[0033] 因此，一方面，本发明提供分析、定位和/或鉴定一个或多个组织样品的方法，其特征在于，所述方法包括：(a) 从一个或多个组织样品中的位置产生气态组织颗粒，(b) 将气态组织颗粒从所述位置传输到分析仪中，(c) 使用分析仪来产生基于气态组织颗粒的组织相关数据，以及(d) 基于组织相关数据来分析、定位和/或鉴定一个或多个组织样品。

[0034] 本发明还提供了用于分析、定位和/或鉴定一个或多个组织样品的系统。因此，另一方面，本发明提供用于分析、定位或鉴定一个或多个组织样品的装置，其特征在于，所述装置包括：(a) 分解装置，用于接触一个或多个组织样品的位置并且从所述位置产生气态组织颗粒，(b) 传输装置，用于将气态组织颗粒从所述位置传输到分析仪中，以及(c) 与传输装置可操作地连接的分析仪，所述分析仪用于产生基于气态组织颗粒的组织相关数据，其中所述组织相关数据用于分析、定位和/或鉴定一个或多个组织样品。

[0035] 本发明还提供了用于分析、定位和/或鉴定一个或多个组织样品的装置。因此，另一方面，本发明提供用于分析、定位和/或鉴定一个或多个组织样品的装置，其特征在于，所述装置包括：(a) 分解装置，用于接触一个或多个组织样品的位置并且从所述位置产生气态组织颗粒，(b) 传输装置，其被配置为与分析仪可操作地连接，所述传输装置将气态组织颗粒从所述位置传输到分析仪。

[0036] 另一方面，本发明提供了质谱数据获取方法，其特征在于，所述方法包括：(a) 用能够产生气态样品颗粒的分解装置接触样品中的目的区域，(b) 将气态样品颗粒从目的区域传输到质谱仪中，以及(c) 使用质谱仪来获取基于来自目的区域的气态样品颗粒的样品相关数据。

[0037] 另一方面，本发明提供用于实时诊断组织的系统，其特征在于，所述装置包括：(a) 分解装置，用于接触组织的位置并且从所述位置产生气态组织颗粒，(b) 传输装置，用于将气态组织颗粒从所述位置传输到分析仪中，以及(c) 与传输装置可操作地连接的分析仪，所述分析仪被配置为产生基于气态组织颗粒的实时组织相关数据，其中所述组织相关数据用于诊断组织。

[0038] 应当理解,本发明可以用于任何生物组织的实时分析或鉴定并且可用于任何目的。本文的公开内容通过结合手术过程使用所述技术的实例描述本发明,但是,本发明还可用于,例如,为了健康和安全目的而分析肉制品、为了鉴定组织中的药物分子而分析生物组织、分析生物组织是否存在疾病或感染等等。示出的具体实施例不应该理解为缩小所述技术的应用范围。

[0039] 在本发明的又一方面中,本发明的系统、方法和装置包括将组织鉴定的结果信号传输给在某一位置的手术装置的使用者。

[0040] 优点

[0041] 所述方法、系统和装置在手术应用中的优点包括:

[0042] 本发明的方法、系统和装置的应用使外科医生能检测不同类型组织在手术区域上是如何分布的。该特性增强了肿瘤部位的检测、增加了在肿瘤切除手术中组织切除的精确度和坏死/缺血组织切除的精确度,并且使切除的健康组织的量最小化。

[0043] 本发明的方法、装置和系统能够在手术期间实时地、原位地鉴定组织部分。

[0044] 当手术期间切开恶性组织时,本发明的方法、装置和系统能为外科医生提供自动报警。

[0045] 使用本发明的方法、装置和系统的总体优点包括:

[0046] (a) 降低组织切除手术的侵袭性,因此加快复原速度;减少手术准备过程;自动地或半自动地鉴定目标组织;

[0047] (b) 降低癌症复发率;

[0048] (c) 提供组织鉴定的客观标准;

[0049] (d) 实现了在体内和显微镜切片中进行组织的化学分析;

[0050] (e) 为研究人员提供关于组织的化学组成的信息;

[0051] (f) 提供了不需要样品制备过程就能测量组织中某些分子(例如药物分子)的浓度的方法;

[0052] (g) 当给予患者所谓的化学标记分子时,本发明的方法、装置和系统可以在手术期间与化学标记联合使用,所述化学标记分子已知能被恶性组织累积(标记),根据标记分子是否存在来检测癌细胞;

[0053] (h) 为在根据细胞的质谱化学指纹来鉴定细胞的细胞学或流式细胞术提供了细胞鉴定的备选方式,但该方式具有破坏性;

[0054] (i) 提供感染器官中和黏膜上的微生物感染的原位体内鉴定;

[0055] (j) 提供组织的循环/代谢状态的体内鉴定;以及

[0056] (k) 消除了术中样品组织病理学检查的需要,因此使手术时间缩短。

[0057] 根据以下详细说明,本发明的其它特征和优点将变得显而易见。但是应当理解,仅通过示例的方式给出了表明本发明实施方式的详细说明和特定实施例,因为根据以下详细说明,在本发明的实质和范围内进行的各种改变和修改对于本领域的技术人员是显而易见的。

[0058] 附图简要说明

[0059] 根据本文中给出的详细说明和附图,将能更加充分地理解本发明,该详细说明和附图仅以示例的方式给出,不限制本发明的预期范围。

- [0060] 图1示出按照本发明的一个方面的体内质谱组织鉴定系统的方案。
- [0061] 图2示出按照本发明的另一个方面的体内质谱组织鉴定系统的方案。
- [0062] 图3示出了利用二次电喷雾电离的中性气态组织颗粒的后电离的实施。
- [0063] 图4示出了利用电晕放电电离的中性气态组织颗粒的后电离的实施。
- [0064] 图5示出在手术环境中应用本发明的装置和方法所获得的总离子流。
- [0065] 图6示出在电手术切开猪的肝脏的过程中使用图1所示的装置所获得的完全质谱。
- [0066] 图7示出在电手术切开猪的肝脏的过程中使用图1的装置所获得的三个重叠的负离子质谱。
- [0067] 图8示出在电手术切开猪的肝脏、心脏和肺的过程中使用图1所示的装置以负离子模式从对应器官获得的质谱。
- [0068] 图9示出在电手术切除肿瘤和前哨淋巴结的过程中使用图1所示装置以负离子模式从狗的黑色素瘤、其邻近淋巴结和周围健康皮肤获得的质谱。
- [0069] 图10示出根据本发明的另一方面,使用产生气态组织颗粒的激光装置的体内质谱组织鉴定的方法和装置的方案。
- [0070] 图11示出通过电手术获得的谱(上方的谱)与通过使用CO₂激光器的激光手术获得的谱(下方的谱)之间的比较。通过切开猪的肝脏并且不利用任何后电离装置分析在手术切口上形成的离子来获得两个谱。
- [0071] 图12示出了在医院和数据库开发单位之间的数据流的方案。医院将原始的组织学指定数据提供给制造商来帮助数据库开发,同时制造商处理数据并将其存储在中心数据库中。
- [0072] 图13:图A是在手术切开狗的III级肥大细胞瘤的过程中获取的图像,图B是从图A的标记位置得到的谱的三维主要成分分析,图C是在图A的手术期间的实时软件的屏幕截图。1=肌肉,2=皮肤,3=皮下组织,4=肥大细胞瘤。

具体实施方式

- [0073] 除非另外限定,本文中使用的所有的技术或科学术语具有的含义与本发明所属领域的技术人员通常理解的含义相同。此外,除非另外指明,除权利要求书之外,“或”的使用包括“和”,反之亦然。非限制性术语不应解释为限制性,除非另外明确地说明或者上下文清楚地表明不能如此(例如“包括”、“具有”、“包含”通常表示“包括但不限于”)。诸如“a”、“an”和“the”的单数形式(包括权利要求中的单数形式)包括复数指代,除非另外明确说明。
- [0074] “目的区域”或“位置”是指包含获取的组织相关数据集的对象的组织区域。在一个实施方式中,目的区域或位置被怀疑包含异常或病变组织。在某些实施方式中,位置被认为包含正常组织,获取的数据用作对照或背景数据。
- [0075] “原位”是指对细胞或组织的直接检查。原位包括在手术期间对个体的组织的直接检查。
- [0076] “记忆效应”可以定义为分析过程和获取数据之间的非线性延迟。对应于一个样品(样品A)的信号可以被存留,甚至当不再分析样品A时,并且可能干扰随后样品B的分析。
- [0077] “个体”或“患者”指需要对疾病状态、病症或疾病进行治疗的动物,包括人类。
- [0078] “肿瘤组织”是指包括癌细胞的任何瘤性组织。肿瘤组织可以是实体瘤或非实体

瘤,所述非实体瘤例如循环系统中存在的肿瘤,例如白血病。

[0079] 以下将参照附图详细说明本发明。

[0080] 申请人发现使用超声波或热分解的手术方法(例如电手术和红外激光手术)产生大量的源于组织的气态组织颗粒。申请人进一步发现这些气态的源于组织的颗粒的质谱与通过其它质谱技术(例如DESI、SIMS和MALDI)获得的质谱类似。因此,本发明通过将组织的分解电离和质谱分析相结合而提供用于实时地并原位地分析、定位和/或鉴定组织的装置、系统和方法。

[0081] 通过分解组织,生成气相的带电和不带电的颗粒。本发明人发现通过分解生成的带电颗粒表现为分子簇,分子簇逐渐经过解离而产生分子离子。这种逐渐的解离通常在分解点开始,并且通常连同本发明一起完成而在质谱仪中产生分子离子,优选在质量分析之前。不带电的颗粒可以被后电离,并且后电离还产生从个体分子离子到肉眼可见的小滴的带电分子簇分布。这些簇还进行逐渐结合而产生分子离子。以这种方式,可实行组织分解来产生带电组织颗粒,该带电组织颗粒随后产生适于在质谱分析中使用的分子离子。

[0082] 因此,一方面,本发明提供用于分析、定位和/或鉴定一个或多个组织样品的系统,其特征在于,所述系统包括:(a) 分解装置,用于接触一个或多个组织样品的位置并且从所述位置产生气态组织颗粒,(b) 传输装置,用于将气态组织颗粒从所述位置传输到分析仪中,以及(c) 与传输装置可操作地连接的分析仪,所述分析仪用于产生基于气态组织颗粒的组织相关数据,其中所述组织相关数据用于分析、定位和/或鉴定一个或多个组织样品。

[0083] 另一方面,本发明提供用于分析、定位和/或鉴定一个或多个组织样品的装置,其特征在于,所述装置包括:(a) 分解装置,用于接触一个或多个组织样品的位置并且从所述位置产生气态组织颗粒,(b) 传输装置,其被配置为与分析仪可操作地连接,所述传输装置将气态组织颗粒从所述位置传输到分析仪。

[0084] 本申请的新的方法、系统和装置被称为快速蒸发电离质谱(REIMS),其可以在许多应用中实施,所述REIMS涉及将组织气溶胶化而产生和鉴定气态的源于组织的离子以及原位定位异常组织。根据一个实施方式,REIMS技术可以以诊断目的用于筛查目的区域,从而鉴定目的区域中是否存在具有特定类型或组成的组织或具有其它特定属性的组织(例如癌症组织),如果存在,还能以高度的空间分辨率定位癌症组织。这些诊断技术可以用于检查手术操作期间暴露的目的区域或者暴露于侵袭性或半侵袭性仪器(例如腹腔镜、内镜、探针、纤维光缆等)的目的区域。用这种方式,本发明的方法、系统和装置可在许多的应用中用于快速检测和诊断,包括但不限于各种异常的检测,包括肺癌、消化系统器官癌症(包括食道癌、结肠直肠癌等)、皮肤癌、生殖器官癌症(例如前列腺癌、卵巢癌、子宫癌和宫颈癌)、乳腺癌、脑癌、淋巴系统癌症和骨癌等。本发明的其它应用将在下面进行描述。

[0085] 图1示出在手术环境下的本发明系统的一个方面的基本设置。图1所示的系统包括以下部分:

[0086] 分解装置11

[0087] 分解装置的主要功能是通过分解组织结构的组织超声处理或水分快速沸腾而从生物组织产生气溶胶。通过分解形成覆盖了表面活性分子(即原始结构的膜脂)并且包含完整的和热降解的生物分子的气溶胶或气态颗粒。因为阴离子和阳离子不均匀分布,这些气溶胶或气态颗粒可以携带净电荷,并且这些小滴可以解离而提供膜脂的单个分子离子。

[0088] 在本发明的装置、系统和方法中可以使用多种不同分解方法,包括超声处理、焦耳加热、接触加热和辐射加热,辐射加热包括电磁辐射(从微波到接近UV)消融。

[0089] 在图1示出的系统中,分解装置10利用在目的组织样品中引起电流而进行焦耳加热。从分析的观点看,电极10的功能是使生物组织与远程电源70相接触。流过健康、正常组织部分20和流过异常、病变(诸如癌症)组织部分30的电流通过焦耳加热将组织部分20、30转化为带电种类50和中性种类60的气态混合物。使用高频(>100kHz)交流电(AC)是有利的,因为直流电(DC)和低频AC可能干扰活体生物的电生理过程。因此,使用DC和低频AC电流对于个体可能是危险的,甚至是致命的。

[0090] 通过目前使用的手术工具可以将组织成分转化成相应的气态组织颗粒,包括电手术、激光手术、水射流手术或超声手术。

[0091] 例如,对于电手术,电流密度仅在尖电极的附近足够高而造成组织分解;从而,尖电极与身体物理接触的位置处的组织被蒸发。为了避免额外的烧伤,使用大面积对电极(单极切割),或者两个尖电极彼此靠近(双极切割)。在这些情况下,在本发明的一个方面中,手术装置可以配备有传输管80,并且可以将手术装置转变为双功能的手术工具和组织鉴定工具。

[0092] 对于内镜检查,可以使用标准的电手术、激光手术、超声波手术的设备来取样。内镜的工作通道可用于抽取包含目的气态离子的手术烟雾。一个取样点可能需要抽取约1ml的气体,因此,使用的真空不会产生任何有害影响。

[0093] 传送或传输管80

[0094] 传输管80将组织气溶胶化所形成的带电和/或中性种类传输到分析仪中,例如质谱仪(MS)。因为本发明的重要应用是在手术期间原位、体内鉴定、定位和/或分析生物组织20、30,并且与手术设备相比,质谱仪是非常重的仪器,因此重要的是,将组织分解所形成的带电种类50和/或中性种类60传送到远程质谱仪130中,而不是将患者置于MS仪器的附近。因此,在本发明的各方面中,MS可以放置在手术室的外面。可以通过在管80的两端之间制造压力差而产生通过传输管80的携带气态的源于组织的颗粒50、60的气流。因为在大部分优选应用中(例如手术应用),传输管80的取样侧或组织侧的压力是大气压,所以可以通过降低管80的接近MS130的一端(传输管80的MS侧)的压力来产生压力差。通过使用独立的流体泵220或使用MS130的真空系统来降低压力。传输管80可以由任何具有足够机械强度、化学稳定性和足够高柔性的材料制成。例如,管80可以由各种聚合物(聚乙烯、聚四氟乙烯、聚丙烯、聚氯乙烯)、金属(钢、铜)、玻璃和熔融石英制成。材料的重要特征包括无孔和惰性,即管壁不应当保留带电气态组织颗粒50和中性气态组织颗粒60并且不应当与种类50、60发生相互作用或者促进它们的化学反应。管80的内径可以是约0.1mm-约20mm,管的长度可以是约0-约5000mm或者具有足够的长度与MS接合,管壁厚度可以是约0.01mm-约5mm。传输管80可以在室温或升高的温度下使用。工作温度可以设置为室温至400℃。高温易于使传输管80的壁表面发生的吸附-解吸平衡向解吸的方向偏移,这会抑制不期望的记忆效应。高温还可以将气相的结合-解离平衡向解离的方向偏移,这会降低具有相反电荷的离子种类50的重组速率。传输管80可以含有少量的多孔或纤维材料(玻璃绒、织物等)来不可逆地捕获不产生单个气态离子的大颗粒。需要注意的是,非导电性管材料仅能在传输的离子群体包括正离子和负离子的情况下使用。在这些情况下,可以例如通过使用RF电场来产生径向伪势场而

使离子保持脱离管壁,从而进一步提高离子传输效率。

[0095] 应当理解,传输管80可以包括自由部分和固定部分;自由部分是足够柔韧的,从而允许在与手术联合使用过程中进行各种操作;固定部分在手术期间不能移动,用于到达远程分析仪。

[0096] 可以使传输管80保持在手术切除的组织位置的附近,从而可以使气态种类50、60进入传输管80。或者,用作分解装置的手术工具可以与传输管80共轴地连接。

[0097] 流体泵220

[0098] 流体泵220的主要功能是产生沿传输管80的压力差并且引导气流通过传输管80。气流使带电种类50和中性种类60从组织分解的位置向质谱仪130进行传输。可以使用利用不同泵送机理的流体泵。但是,因为带电种类50和中性种类60可能具有化学侵蚀性并且对于手术应用而言流体泵装置220需要在每次手术之后进行消毒和处理,因此在这些情况下使用文丘里气体喷射泵可能是理想的。文丘里泵包括喷嘴110和文丘里管120。文丘里泵可以稀释原气流并降低气体流中带电种类50和中性种类60的浓度,但是文丘里泵也可以聚集带电种类50和中性种类60并促进它们的电喷雾电离或电晕放电电离。文丘里泵的其它优点是没有可动部件,这会降低故障概率。

[0099] 虽然可以省略流体泵220(如图2所示),并且质谱仪的真空系统可用作泵送系统,但是如果在传输管80中需要大的流量和线性速度,这种设置可能不是理想的。此外,当在大气压下进行中性种类60的电离时,流体泵220就能成为系统的必要元件。需要注意的是,电喷雾电离和电晕放电电离法只能在相对较高的压力($p > 10$ 托)下进行。

[0100] 后电离装置320

[0101] 虽然热分解法或机械分解法能在组织气溶胶化时产生带电颗粒50,但是大部分气溶胶化材料在气相中保持中性。此外,当使组织快速地热气溶胶化或机械气溶胶化时,只有某些分子进行电离,这些分子主要属于甘油磷脂类。为了增加离子产量以及增大能进行质谱分析的分子的范围,在某些情况下,中性种类60的电离是可取的。可以在大气压下和真空中实施电离。可以优选大气压电离,因为大气压离子源提供更加稳定和稳固的仪器条件并且涉及更少的严重记忆效应。

[0102] 可在本发明的系统和方法中使用的后电离法包括图3所示的二次电喷雾电离。通过使毛细管180穿过文丘里管120的喷嘴110、将导电溶剂250泵送通过毛细管180并使用高压电源170将高电压(HV)施加到导电溶剂250上,可以进行二次电喷雾电离。通过施加HV,导电溶剂250从毛细管180靠近质谱仪130的端部喷出,从而产生导电溶剂250的带电小滴270。带电小滴270溶解中性颗粒60和携带相反电荷的带电颗粒50,从而产生包含导电溶剂250和源自组织样品20、30的分子的带电小滴280。导电溶剂250从带电小滴280蒸发后,产生气相离子50,将气相离子50进行质谱分析。二次电喷雾电离的优点包括:该方法既能电离挥发性的分子又能电离非挥发性的分子。因为大部分严重的记忆效应都是由挥发性和半挥发性的分子的沉淀所引起,它们的沉淀保持系统中这些分子的低的但恒定的蒸气压,因此从实时分析的观点看,非挥发性组分的分析是重要的。

[0103] 可用于本发明系统和方法的另一种后电离法是如图4中所示的电晕放电电离。通过使放电针200穿过针固定件210而固定在文丘里管120上、使用高压电源170将高压施加到针200来进行电晕放电。为了实现最佳性能,文丘里管120配备有加热元件190并被加热到室

温至500℃的温度。虽然电晕放电主要电离挥发性和半挥发性的分子,但是电晕放电电离可以提供比二次电喷雾电离更加稳固的电离形式,并且不受堵塞和溶解度的影响。与电晕放电电离类似,也可以进行大气压光致电离。

[0104] 也可以在各种真空条件下实施电离。这些方法包括辉光放电电离、化学电离、电子俘获电离、电子碰撞电离、光致电离和能够将分子簇或个体气相分子转换为对应的气态离子的任何电离法。

[0105] 质谱仪130

[0106] 质谱仪130的功能是分开并检测直接通过组织气溶胶化形成的离子或者通过中性颗粒60的后电离形成的离子。因为质谱仪在高真空条件下工作,所以能够在大气区取样的仪器可以优选用于本发明的实施。大气交界通常由加热的毛细管140和skimmer电极160构成,毛细管140作为将大气状态与前部真空范围(p 为约1托)分开的初级传导界限,skimmer电极160作为将前部真空范围从高真空范围($p < 10^{-4}$ 托)分开的次级传导界限。图1-3描述的大气交界由加热的毛细管140、聚焦透镜150和skimmer电极160构成。图1-3中示出的大气交界设置是有利的,因为在这种情况下加热的毛细管140和skimmer电极160的中心轴是基本平行的,而并不重叠。这样,可以通过在聚焦透镜150上施加适当的DC电势使离开加热的毛细管140的离子50偏向到skimmer电极160。因为库仑力对中性颗粒60没有作用,所以带电颗粒50与中性颗粒60被有效地分开,并且中性颗粒60不进入和破坏质谱仪130的高真空范围。任何类型的质量分析仪都可用于气态离子50的质量分析,但是可以优选所谓的离子阱和飞行时间仪器。这些质量分析仪在某些时段中收集离子,然后分析收集的离子群体,从而导致离子强度比率对信号瞬变的敏感度较低。

[0107] 本发明的方法、系统和装置可以使用能够检测由传输管80传输的气态的源于组织颗粒50、60并产生组织相关数据的任何合适的分析仪,包括质谱仪或离子迁移率谱仪。

[0108] 电磁辐射束330

[0109] 作为通过焦耳加热或超声分解组织的替代方式,也可以对组织进行电磁辐射(从微波到接近UV)分解来获得源于组织的气态颗粒,包括气态的源于组织的离子。装置340发射的电磁辐射束被组织20、30所吸收,电磁辐射束330的能量消散为将组织20、30的组分转化为离子的和中性的气态种类50、60的热能。可以优选使用具有红外范围中的波长的激光,因为在这些情况下,仅激发分子的振动和旋转模式,因此可以避免其它的光化学反应。红外激光的其它优点包括:与可见激光或紫外激光相比,组织能更好地吸收红外激光束。手术激光设备专门在红外范围中工作,因此商业购买的激光手术设备可用于本发明的系统和方法中。

[0110] 手术红外激光器可以配备传输管80,从而将手术装置转换为双功能的手术工具和组织鉴定工具。通过分解组织结构的组织水分快速沸腾,组织发生分解。分解将形成覆盖了表面活性分子(即原始结构的膜脂)并且包括完整的和热降解的生物分子的气溶胶或气态颗粒。因为阴离子和阳离子种类分布不均匀,这些气溶胶或气态颗粒可以携带净电荷,并且这些小滴可以解离而产生膜脂的单个分子离子,这与电手术类似。图11示出了通过电手术和激光手术获得的样品谱。

[0111] 本发明还提供了为质谱分析和生物组织鉴定而开发的方法。图1-3中描绘了发明的大体实施。因此,一方面,本发明提供分析、定位和/或鉴定一个或多个组织样品的方法,

其特征在于所述方法包括：(a) 从一个或多个组织样品中的位置中产生气态组织颗粒，(b) 将气态组织颗粒从所述位置传输到分析仪中，(c) 使用分析仪来产生基于气态组织颗粒的组织相关数据，以及 (d) 基于组织相关数据来分析、定位和/或鉴定一个或多个组织样品。

[0112] 通过启动质谱仪130、组织气溶胶化装置70的控制器并将惰性气体流100施加到流体泵220上，可以使图1所示系统处于准备状态。

[0113] 使用电极作为分解装置10的实例，通过将电极10 (其可以合并到手术装置中) 与目的组织的位置紧密接触并使用电源70来施加电极间的电势差，可以进行组织分析。当组织20、30与电极10接触时，由于电能的热消散 (焦耳加热)，组织被热分解，并且整个分解的组织或者其一部分转变为蒸气50、60 (表示气相中的单个分子) 和气溶胶50、60 (表示气相中的分子簇)。

[0114] 作为电手术组织气溶胶化的替代方案，通过将超声、水射流或激光束330引导到组织部分20、30上而使组织部分气溶胶化也可以用于产生带电气态颗粒50和中性气态颗粒60。

[0115] 这些带电气态颗粒50和中性气态颗粒60的化学组成和电负荷所取决于的因素包括原始组织类型和组织气溶胶化的方法等等。带电气态颗粒50和中性气态颗粒60进入传输管80并被传输到流体泵220 (如果使用流体泵的话) 或直接传输到质谱仪130中。

[0116] 热引发的组织气溶胶化可以产生大量带电颗粒50，从而允许在不进行中性颗粒60的后切割电离 (后电离) 的情况下进行组织分析。在这些情况下，管80可以直接连接至质谱仪130，或流体泵220可以直接将带电颗粒50传送 (不进行后电离) 到质谱仪130中。当由于信号强度低或信息量的缺乏而使得从 (组织分解时形成的) 带电颗粒50的质谱分析中获得的信息不足以正确地鉴定或检测组织时，可以使用中性颗粒60的后电离来增加分析信息。

[0117] 流体泵220将中性颗粒60传送到后电离装置中，在该装置中，中性颗粒60的一部分分子被转化为气态离子并与从组织产生的气态离子50一起被质谱仪取样。质谱仪130可用于根据气态离子的质荷比分开所有气态离子并单独进行检测。质谱分析的结果是质谱 (如图6-9中所示)。因为在质谱仪的大气交界中，中性颗粒60不能完全地与带电颗粒50分开，所以带电颗粒50和中性颗粒60易于在质谱仪的离子光学或分析仪区域形成加合物。这种现象是不希望发生的，因为会导致分辨较差的质谱 (图6)。借助于与惰性气体分子或惰性表面的碰撞或光子吸收的离子激活可以有利地用于消除离子-分子复合物，并能获得具有合适分辨率的质谱，如图7所示。因为质谱本身不能直接用于鉴定组织或检测不同组织基体中某些组织的痕量，所以必须通过数据分析系统230处理质谱的组织相关数据。可以将质谱转化为矢量形式，并且基于与对应于多个组织类型的质谱记录的数据库或文库进行比较来鉴定质谱。分析的目的在于：鉴定从纯组织获得的谱或者检测在其它组织的基体中的某些类型的组织。或者，还可以从谱中计算出良好表征的成分的相对浓度。

[0118] 因为离子的质谱分析花费的时间小于约200ms，并且数据分析花费的时间可以为约100-约150ms，所以根据本发明的各方面进行的信息反馈花费的时间可以小于1秒，因此提供了实时的组织鉴定。

[0119] 组织的质谱的特征主要是提供组织特异性模式的膜脂组分。因此，在本发明一个方面中，全谱信息都可用于组织的明确鉴定。数据分析可以基于主成分分析 (PCA)，其中，在手术期间，预先规定的PCA空间可以节省分析时间。目前，可以使用包含约10,000 (一万) 个

谱的谱数据库来计算PCA空间。

[0120] 可以通过比较实时的组织相关质谱和已知组织类型的质谱来获得实时的组织鉴定。实时的组织相关质谱可以与对应于多种已知组织类型的质谱记录库进行比较。记录库应当包括手术介入期间在理论上能被采集的所有组织类型的谱。在本发明的一个方面中，记录库可以包括转化为矢量的谱，所述矢量通过例如PCA而过滤了噪音并被分解成多个维度（例如从300维度数据到60维度数据）。可以以60维线性判别分析（LDA）进行记录库中的组织/器官的区分，以用于数据的定量分类。可以通过使用库并分类实时的谱来进行谱的实时分类。例如，可以使用马哈拉诺比斯距离进行分类。

[0121] 至少可以以两种不同方式使用本发明的装置、系统和方法来分析/定位/鉴定组织。在所谓的报警模式中，可以连续地分析手术气溶胶中的离子种类，并且质谱系统可以给出关于所切开的组织的性质的连续反馈。图13c中示出了在手术期间获得的我们的软件的图形用户界面的屏幕截图。当实时谱鉴定的结果指示存在恶性增殖或者组织鉴定失败时，系统可以向系统的使用者（即外科医生）给出视听警告。当为了鉴定目的而需要主动地采集目的组织特征时，使用本发明的系统或方法的备选方式可以是微探针模式。从质谱组织鉴定的视角来看，两个模式之间的主要区别是单个谱的数据积累时间。在报警模式中，在约0.5-1s的时间中积累数据，而在微探针模式中，只要分解装置产生气态组织颗粒并收集气态组织颗粒就可以一直积累一个谱的数据。为了证明术中组织鉴定的准确度，在二维PCA图中（图13b）示出了从单个取样点（图13a）获得的结果。

[0122] 如果需要实时分析，数据系统的输出信息可以连续地记录并显示在反馈装置240上，反馈装置240可以提供听觉、视觉或视听信息。因此，以侵袭性方式分析和鉴定分解体积中的组织部分40，从而产生组织20、30中的间断90。当将间断90被定为手术切口时，则相对于手术切割，最终分析不涉及其它侵入。

[0123] 另一方面，本发明提供了质谱分析数据的获取方法，其特征在于，所述方法包括：(a) 从样品中的目的区域产生气态带电颗粒的产出，(b) 将气态样品颗粒从目的区域传输到质谱仪中，以及 (c) 使用质谱仪来获取基于来自目的区域的气态样品离子产出的样品相关数据。在本发明的一个方面中，可以通过包括质谱数据记录库的数据库来利用样品相关数据，以用于分析或鉴定生物组织，包括由医院或诊所的医务人员进行分析或鉴定。

[0124] 实施例

[0125] 所描述的实施例仅用于说明目的，并不意图限制本发明的范围。

[0126] 实施例1：手术期间组织部分的分析和鉴定

[0127] 例如参照图1，电手术单元（ICC350, Erbe Elektromedizin GmbH）与四极离子阱质谱仪（LCQ Duo, ThermoFinnigan）联合使用。电手术切割电极10配备了商购的除烟单元80（Erbe），除烟单元80通过8 1/8"OD 2mm ID PTFE管连接至流体泵220（VAC100 Veriflo）。流体泵220被安装在使用大幅改动的DESI离子源（OmniSpray, Prosolia）平台的LCQ仪器上。以负离子模式运行质谱仪130。在离子阱中分离700-800的离子，并且利用中性氦原子的碰撞激活来激活离子。在m/z 700-800范围内获取谱。

[0128] 根据兽医肿瘤学实践，从具有自发肿瘤 of 狗获取狗的体内和离体数据。

[0129] 使用电手术电极10从狗模型的健康上皮组织20中切除恶性黑色素瘤30。为了最小化肿瘤复发的几率，将肿瘤30连同一部分健康皮肤20和携带转移灶的周围淋巴结一起切

掉。根据所切割的组织的质谱鉴定来确定肿瘤边缘。图5示出了手术介入期间获得的总离子流的质谱。手术期间的切割期标记为300,冲洗期标记为310。需要着重指出的是,只有当实施实际手术切割300和清洗仪器的冲洗期310时,才能检测到质谱信号。因为与实际电手术切割的时间相比,两个信号的起落时间非常短,所以该实验设置允许所切割的组织的实时分析,而仅具有很小的记忆效应。在图9中示出了从健康上皮组织、黑色素瘤和转移灶得到的质谱。在 m/z 746和 m/z 723处的离子比被用作肿瘤标志,并且离子比的量显示在反馈装置240上,被转换为蓝色-红色的颜色渐变。音频信号也可用作反馈,当MS谱中离子比的变化时,嘟嘟声的频率随之变化。

[0130] 肿瘤20被成功地手术切除,并且切除物的术后组织学检查已经证明手术是成功的,并且切除的淋巴结携带肿瘤细胞。

[0131] 实施例2:用于肿瘤细胞定位的组织中药物确定

[0132] 电手术单元(ICC350,Erbe Elektromedizin GmbH)与四极离子阱质谱仪(LCQ Duo,ThermoFinnigan)联合使用。电手术切割电极10配备有商购的除烟单元80(Erbe),除烟单元80通过8 1/8"OD 2mm ID PTFE管连接至流体泵220(VAC100Veriflo)。流体泵220被安装在使用大幅改动的DESI离子源(OmniSpray,Prosolia)平台的LCQ仪器上。流体泵220配备了二次电喷雾后电离单元,该后电离单元包括毛细管180和高压电源170。以正离子模式运行电喷雾260和质谱仪130。监测 m/z 447和449处的离子, m/z 446作为背景信号。

[0133] 将携带NCI-H460的人非小细胞肺癌异种移植物的裸鼠饲养在控温和控光的房间中,自由进食和饮水。8周龄时,给予小鼠 $2 \times 20\text{mg/kg}$ 体重的吉非替尼。药物治疗3天后,在苯巴比妥麻醉下,对肿瘤异种移植体进行体内取样。

[0134] 使用电手术电极10从鼠模型的健康肺组织20切除非小细胞肺癌肿瘤30。动物进行术前吉非替尼化疗。吉非替尼(分子量是446)选择性地结合上皮生长因子受体(EGFR),NSCLC肿瘤细胞过表达上皮生长因子受体。因此,吉非替尼可用于这些肿瘤的化学标记。监测吉非替尼的分子离子以定位浸润性肿瘤。

[0135] 将肿瘤20与一部分健康肺组织20一起切除。根据所切割的组织的质谱鉴定来确定肿瘤边缘。 m/z 447和 m/z 446处离子比被用作肿瘤标志,并且离子比的量显示在反馈装置240上,被转换为蓝色-红色的颜色渐变。音频信号也可用作反馈,当MS谱中离子比的变化时,嘟嘟声的频率随之变化。

[0136] 肿瘤20被成功地手术切除,并且切除物的术后组织学检查已经证明手术是成功的。

[0137] 实施例3:粘膜上细菌感染的定位和鉴定

[0138] 包括DC电源70和金属电极10的国产热组织分解装置与四极离子阱质谱仪(LCQ Duo,ThermoFinnigan)联合使用。金属电极10通过8 1/8"OD 2mm ID PTFE管连接到流体泵220(VAC100,Veriflo)。流体泵220被安装在使用大幅改动的DESI离子源(OmniSpray,Prosolia)平台的LCQ仪器上。以负离子模式运行质谱仪130。在离子阱中分离640-840的离子,并且利用中性氮原子的碰撞激活来激活离子。在 m/z 640-840范围内获取谱。

[0139] 使用电极10采集不同细菌感染的粘膜的上部上皮层的样品。因为本申请的方法和装置的目的在于进行最低程度的侵袭性黏膜分析,所以包括上皮细胞、细菌和粘液在内的总共约0.1-04mg物质被分解,用于记录一个可充分说明问题的质谱。将与电极10接触的组

织部分20(喉部粘膜)加热到850℃。将全部质谱与包括122中细菌株的质谱的数据库进行比较。将谱相似性规定为200维质谱数据矢量的余弦。成功地鉴定出铜绿假单胞菌、肺炎克雷伯氏菌、金黄色葡萄球菌和肺炎链球菌,在数据库搜索匹配列表的第一位置处具有合适的数据登录。在大多数情况下,前三个匹配还属于相同的属。

[0140] 实施例4:商业模式

[0141] 本发明包括四个主要的已经明确的应用领域:自动化手术、普通肿瘤外科、病理学和微生物诊断。因为日常实践中所用的仪器的价格范围大大低于质谱系统的市场价格,所以本发明的质谱仪部分可以以制造成本价卖给诊所、病理实验室、门诊部等。通过使部件10、80、220和后电离装置作为本发明系统的一次性消耗部件可以实现实际利润。这是理想的特点,因为不这样的话,在每次手术或诊断介入后,需要彻底清洗和消毒这些部件10、80、220。还可能的利润来源可以是用于解释数据和鉴定个体质谱的软件。可以不断开发搜索引擎和数据库,并将其以较低的但需经常购买的费用卖给使用者。如图12所示,所有售出的系统可以连接到基于因特网的网络上,网络将原始数据390不断提供给开发团队380,并且促进中心组织谱数据库370的开发。医院360可以通过因特网接收完全统一且可靠的数据400。

[0142] 上述公开内容大体上描述了本发明。因为有关事项可以暗示或提供变通方法,因此也考虑到了形式上的改变和等同代替。虽然已经在本文中使用了具体术语,但是这些术语仅意图进行说明而并非意图限制。本发明的其它变型和修改也是可能的。因此,这些修改或变形被认为落入权利要求所限定的本发明范围内。

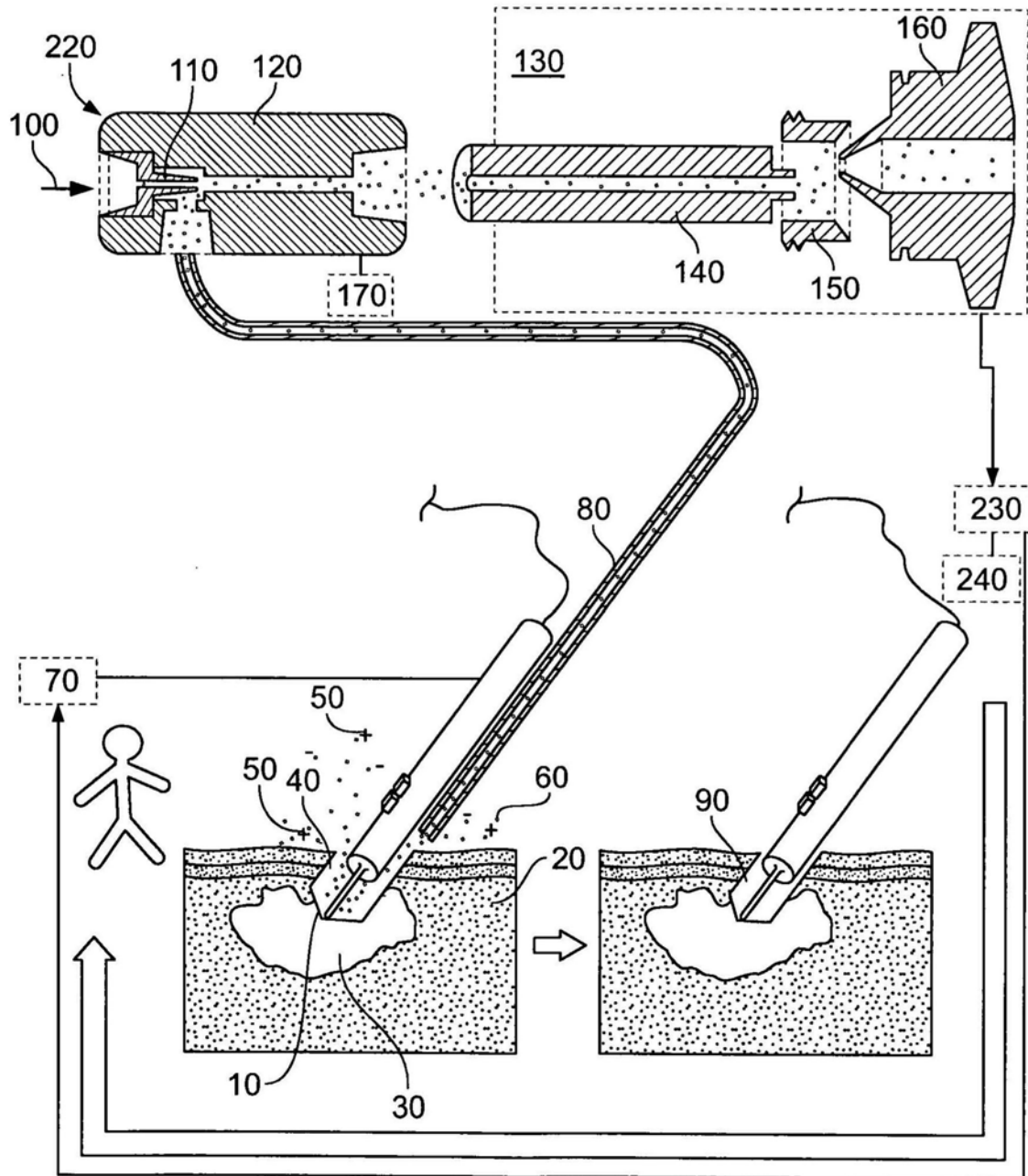


图1

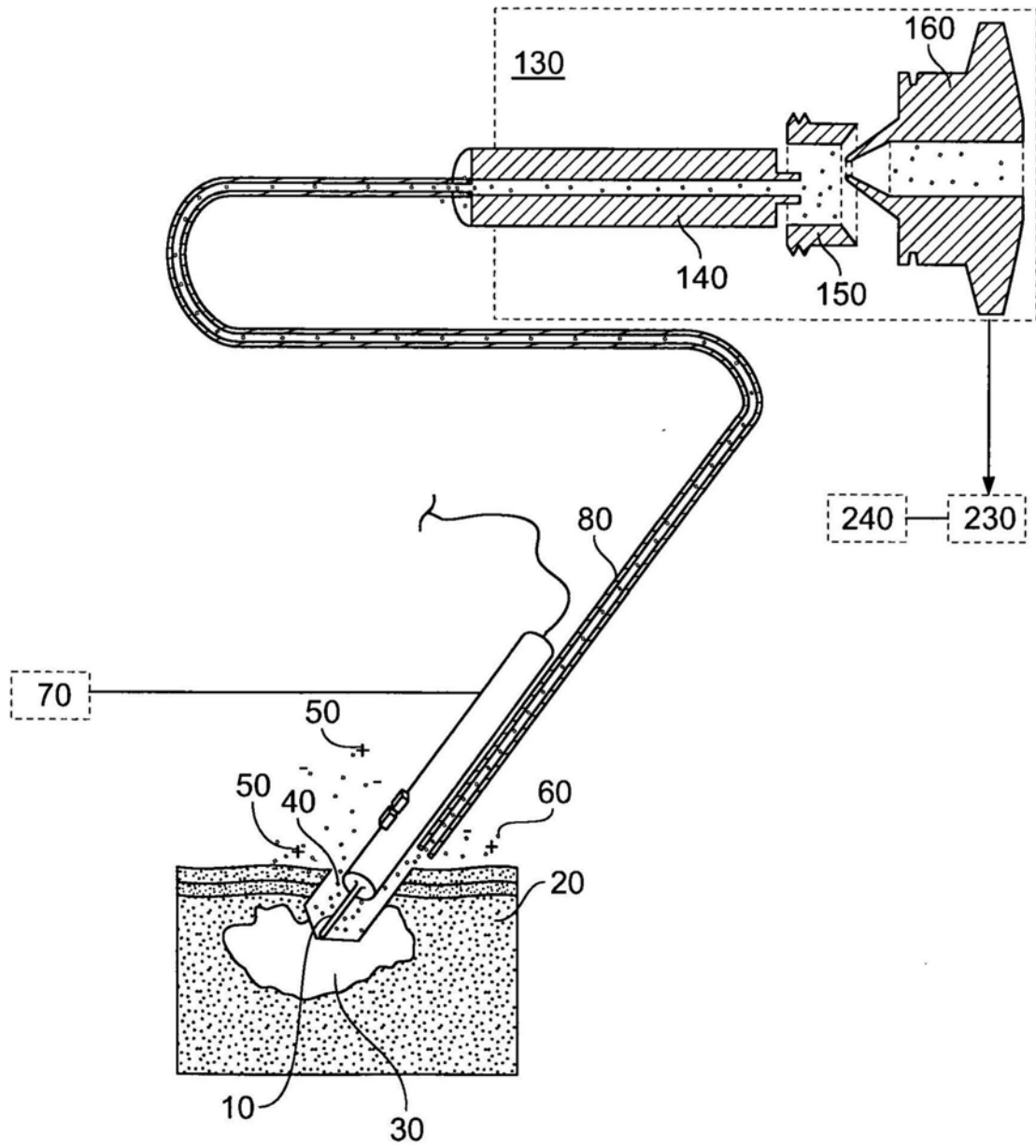


图2

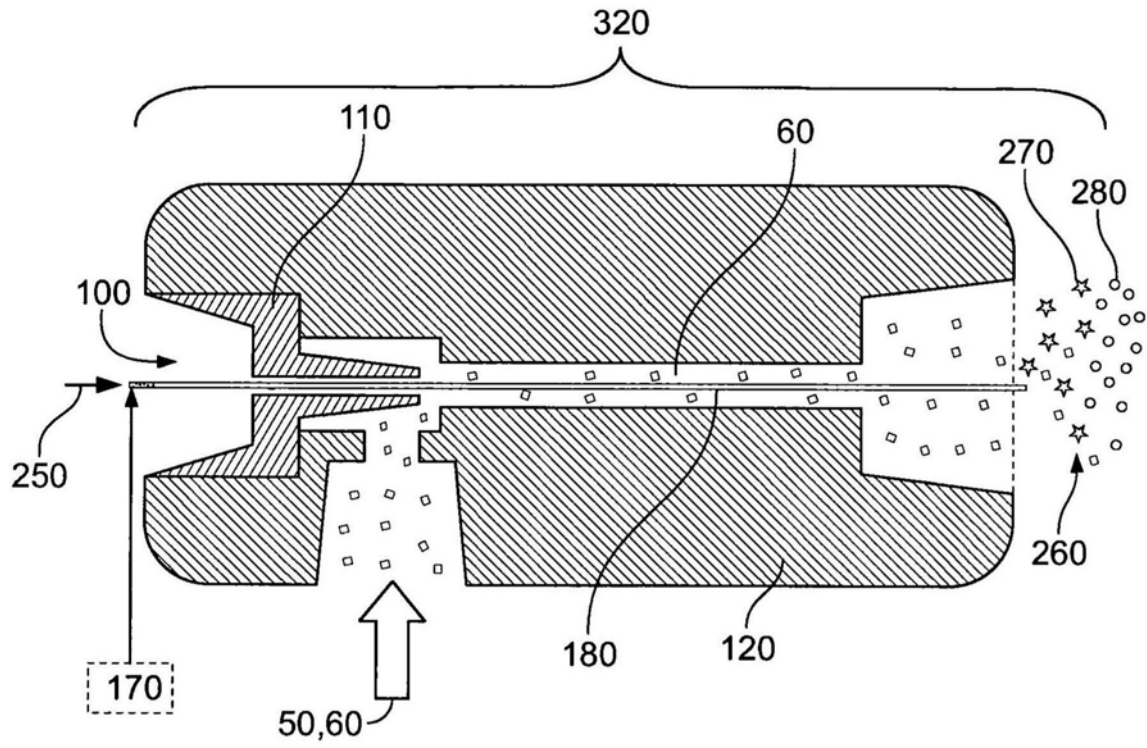


图3

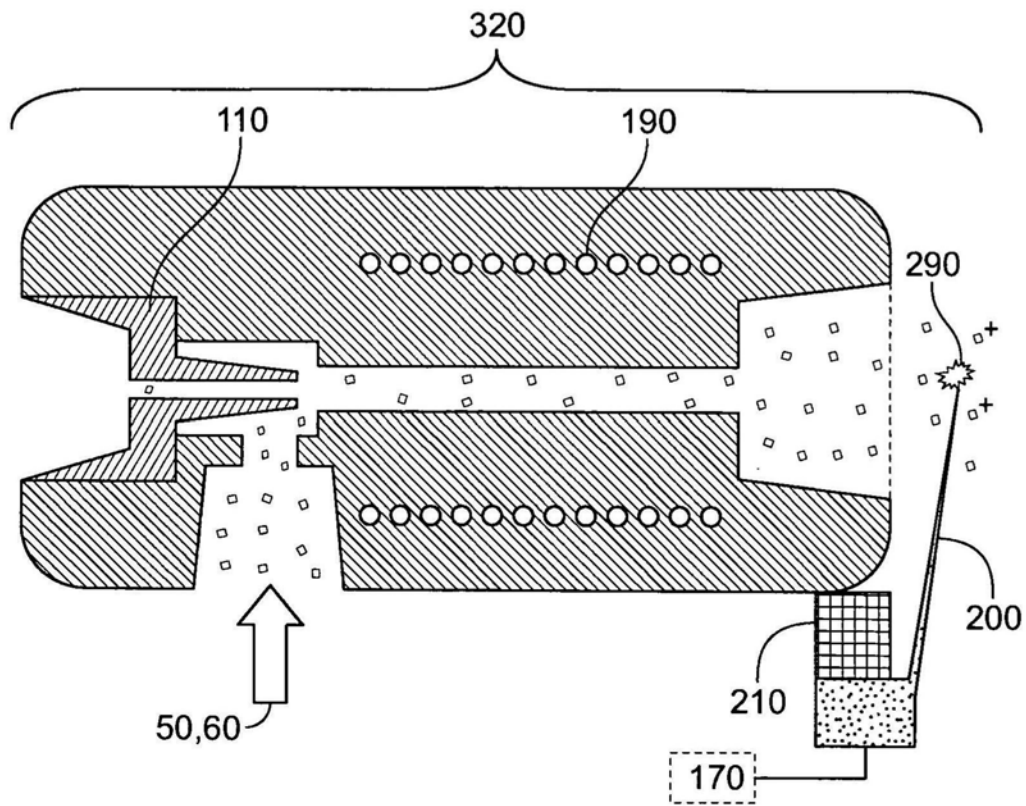


图4

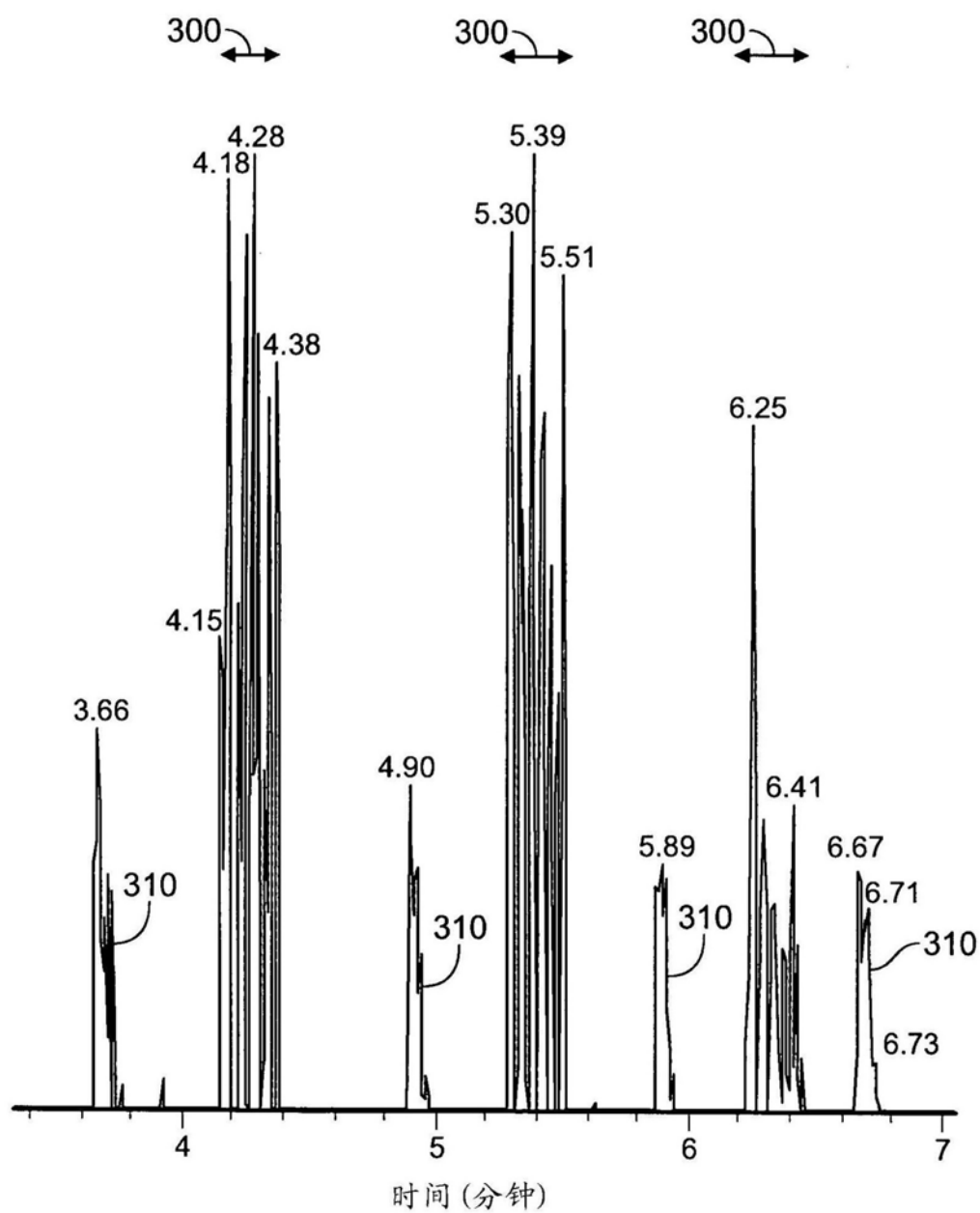


图5

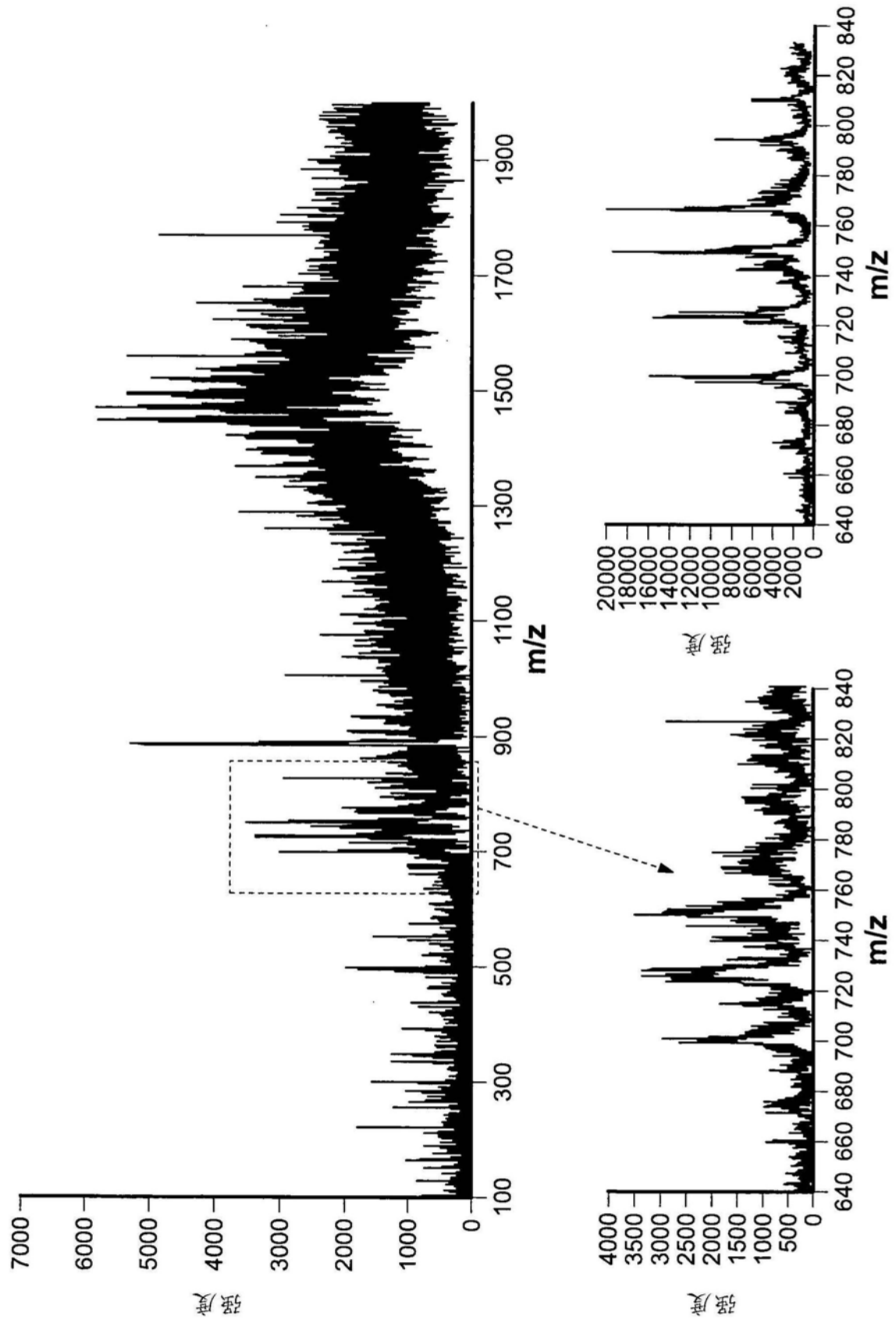


图6

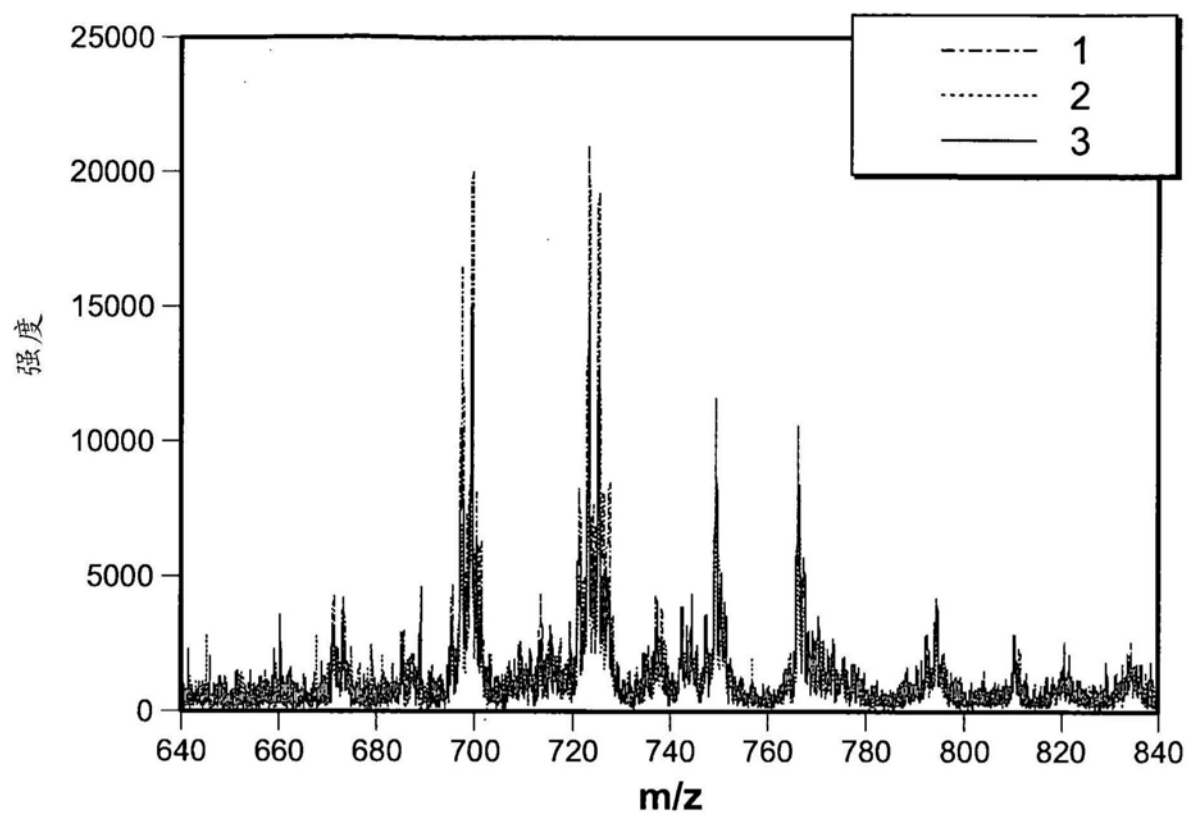


图7

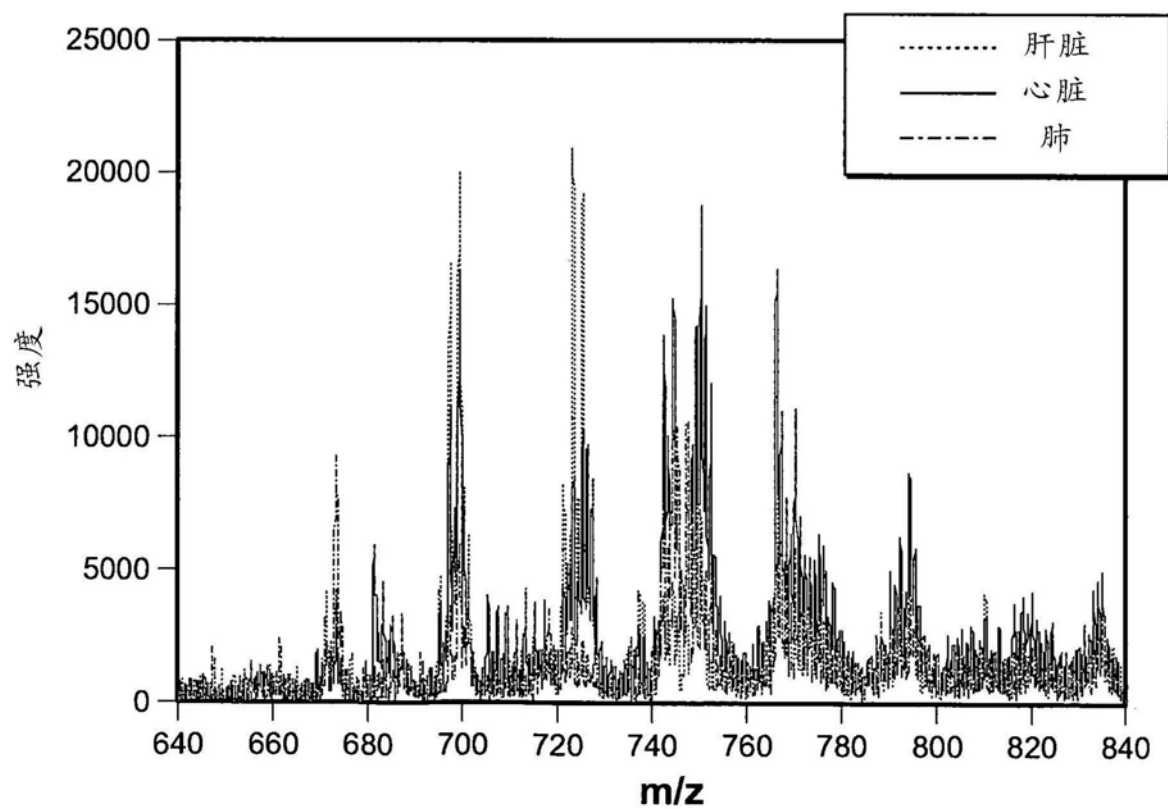


图8

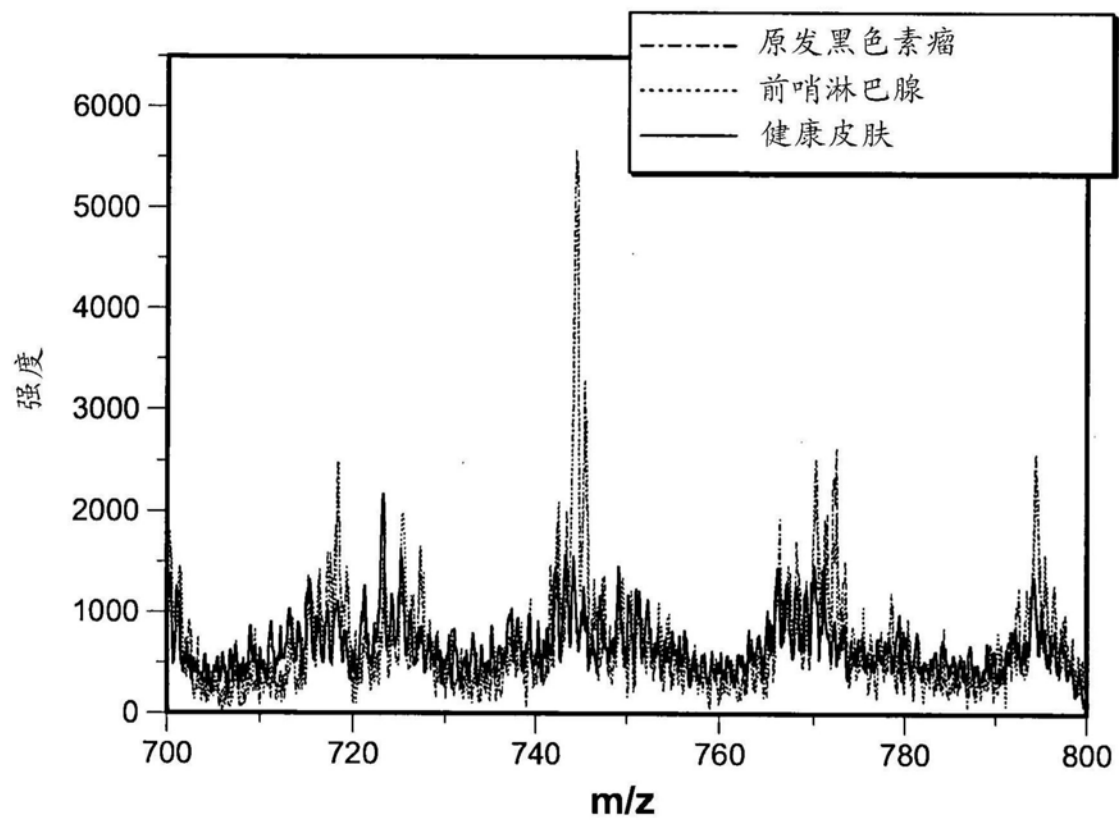


图9

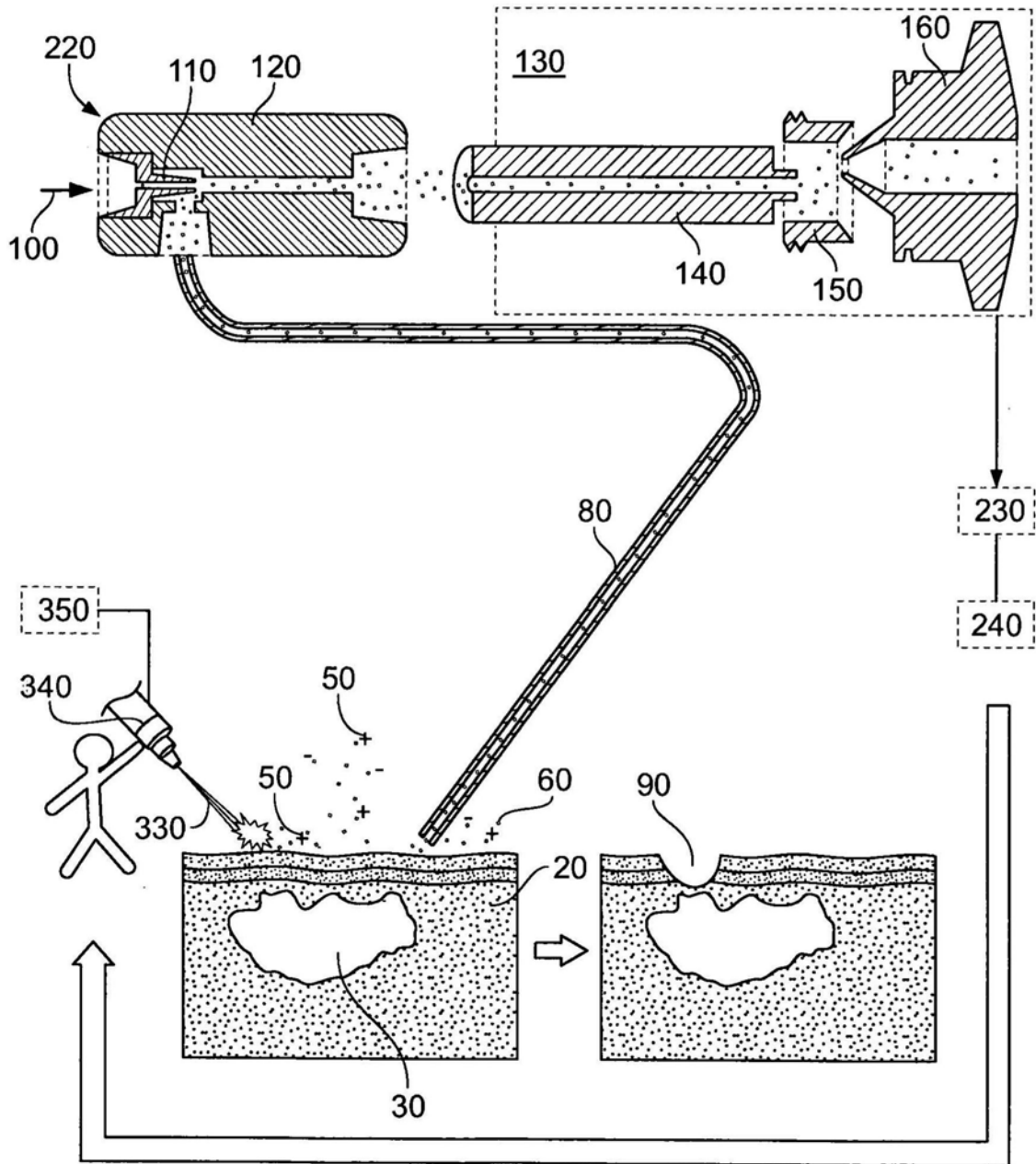


图10

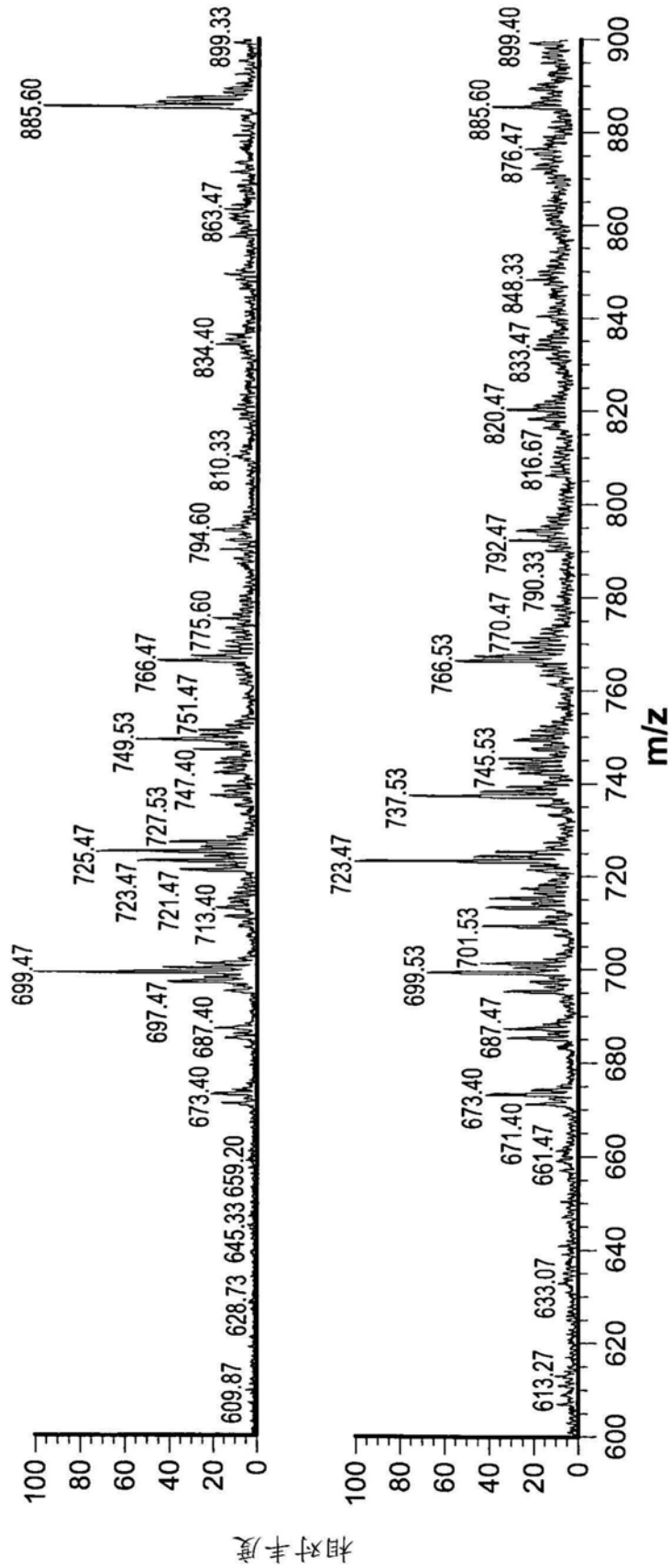


图11

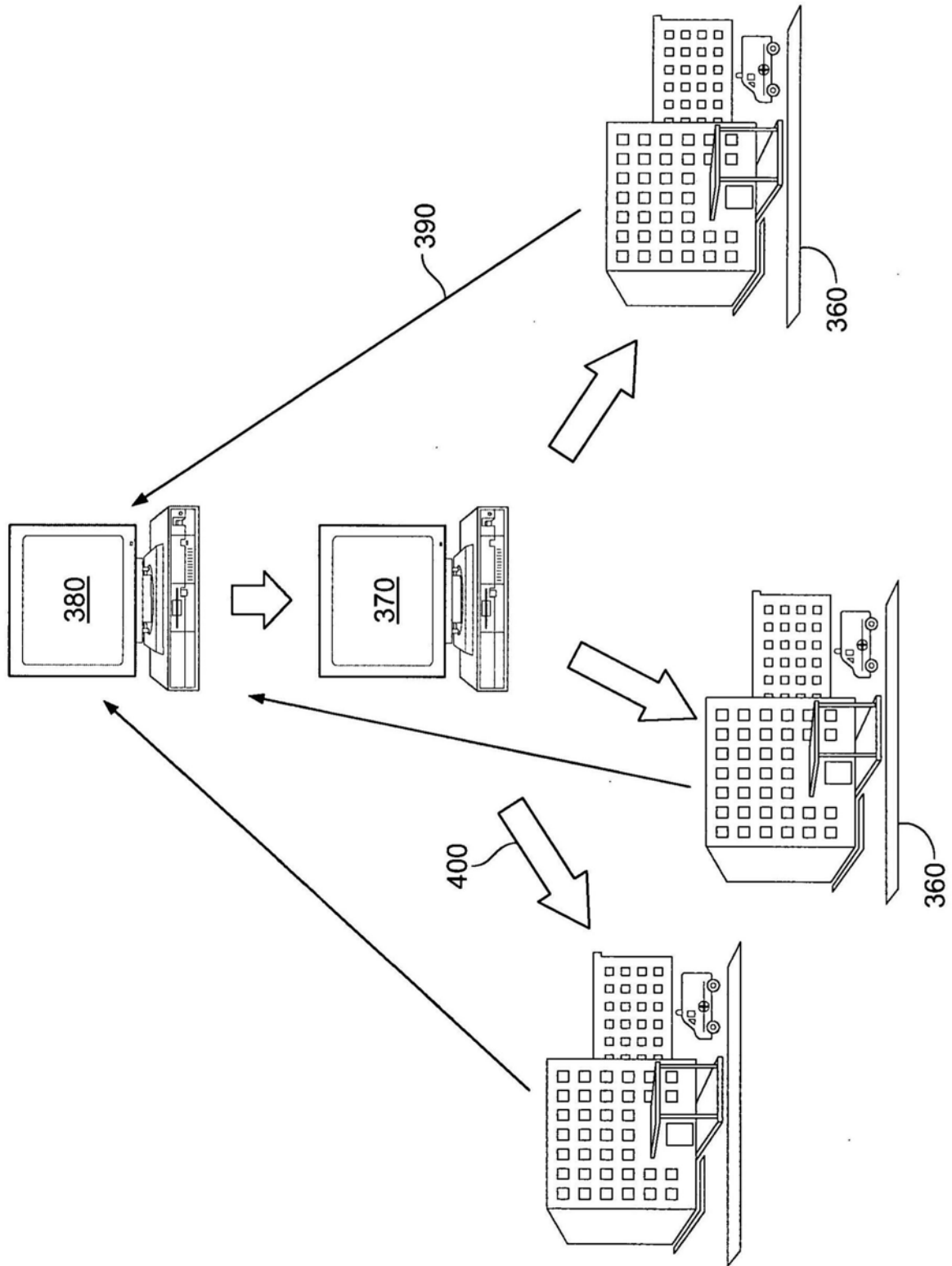


图12

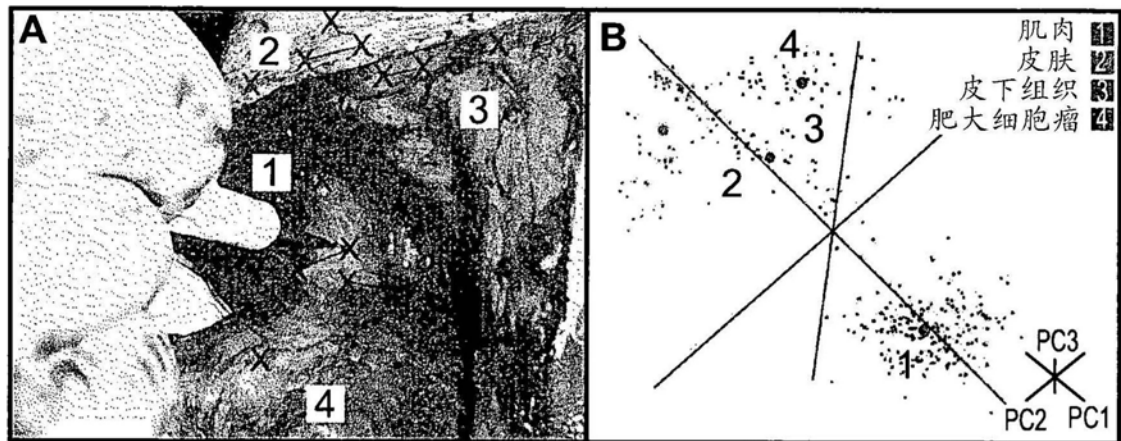


图13