

# SCIEX OS ソフトウェア

## 補足資料

QTOF システム 分析編共通  
ZenoTOF 7600+, ZenoTOF 7600, X500R, X500B

株式会社 エービー・サイエックス  
アプリケーションサポート

2026 年 01 月版



## SCIEX OS ソフトウェアについて

研究用にのみ使用できます。診断目的およびその手続き上での使用は出来ません。

この文書は、SCIEX 機器を購入した顧客が、SCIEX 機器の操作に使用するために提供されています。この文書は著作権で保護されており、SCIEX が書面で許可した場合を除き、この文書またはその一部の複製は固く禁じられています。

この文書に記載されているソフトウェアは、ライセンス契約に基づいて提供されています。ライセンス契約で明示的に許可されている場合を除き、ソフトウェアをいかなる媒体でもコピー、変更、配布することは違法です。さらに、ライセンス契約では、ソフトウェアをいかなる目的でも分解、リバース エンジニアリング、または逆コンパイルすることを禁止している場合があります。保証は、そこに記載されているとおりです。

この文書の一部には、他のメーカーやその製品への言及があり、それらには、それぞれの所有者の商標として登録されている名前や商標として機能する部分が含まれている場合があります。このような使用は、そのような製品をそれらのメーカーの製品として指定することのみを目的としており、そのようなメーカーやその製品名を商標として使用したり、他者が使用することを許可する権利やライセンスを意味するものではありません。

SCIEX の保証は、製品の販売またはライセンス供与時に提供される明示的な保証に限定され、SCIEX の唯一かつ排他的な表明、保証、および義務です。SCIEX は、法令またはその他の法律、または取引過程や商慣習に起因するかどうかにかかわらず、商品性または特定目的への適合性の保証を含むがこれに限定されない、明示的または黙示的なその他のいかなる種類の保証も行いません。これらはすべて明示的に否認され、購入者による使用またはそこから生じる不利な状況に対して、間接的または結果的な損害を含む一切の責任または偶発的責任を負わないものとします。

製品には、同梱された電源コードセットを使用して下さい。また、同梱された電源コードセットは他の製品には使用しないで下さい。

This document is provided to customers who have purchased SCIEX equipment to use in the operation of such SCIEX equipment. This document is copyright protected and any reproduction of this document or any part of this document is strictly prohibited, except as SCIEX may authorize in writing.

Software that may be described in this document is furnished under a license agreement. It is against the law to copy, modify, or distribute the software on any medium, except as specifically allowed in the license agreement. Furthermore, the license agreement may prohibit the software from being disassembled, reverse engineered, or decompiled for any purpose. Warranties are as stated therein.

Portions of this document may make reference to other manufacturers and/or their products, which may contain parts whose names are registered as trademarks and/or function as trademarks of their respective owners. Any such use is intended only to designate those manufacturers' products as supplied by SCIEX for incorporation into its equipment and does not imply any right and/or license to use or permit others to use such manufacturers' and/or their product names as trademarks.

SCIEX warranties are limited to those express warranties provided at the time of sale or license of its products and are SCIEX's sole and exclusive representations, warranties, and obligations. SCIEX makes no other warranty of any kind whatsoever, expressed or implied, including without limitation, warranties of merchantability or fitness for a particular purpose, whether arising from a statute or otherwise in law or from a course of dealing or usage of trade, all of which are expressly disclaimed, and assumes no responsibility or contingent liability, including indirect or consequential damages, for any use by the purchaser or for any adverse circumstances arising therefrom.

For Research Use Only. Not for use in Diagnostic Procedures.

Trademarks and/or registered trademarks mentioned herein are the property of AB Sciex Pte. Ltd., or their respective owners, in the United States and/or certain other countries.

AB SCIEX™ is being used under license.

c 2025 DH Tech. Dev. Pte. Ltd.

(Version 4.0)

## 目次

1	測定前の準備.....	6
1.1	使用する装置の選択 - Devices .....	6
1.1.1	LCシステム単体での動作・制御 - 「Devices Control」機能.....	7
2	イオン源各部.....	9
2.1	イオン源各部の説明と確認.....	9
2.1.1	Turbo V イオン源 .....	9
2.1.2	ESI/APCI プローブの取り付け・取り外し .....	10
2.1.3	MS 本体からイオン源の取り付け・取外し .....	10
2.2	OptiFlow イオン源 (ZenoTOF7600 のみ) .....	11
2.2.1	OptiFlow® Turbo V イオン源の概要 .....	11
2.3	OptiFlow ナノイオン源の取り付け.....	12
2.3.1	ナノフロー用プローブの準備 .....	12
2.3.2	OptiFlow nano イオン源への変更 .....	13
2.4	OptiFlow マイクロイオン源の取り付け.....	14
2.4.1	マイクロフロー用プローブの準備.....	14
2.4.2	OptiFlow マイクロイオン源への変更 .....	15
3	分析メソッドの作成とサンプル測定 .....	16
3.1	MS Method の作成方法.....	16
3.1.1	TOF MS メソッドの作成 .....	16
3.1.2	IDA メソッドの作成 .....	19
3.1.3	MS method その他の機能 .....	24
3.2	Batch の機能.....	27
3.2.1	Quick Batch を使用した Batch の入力 .....	27
3.2.2	Processing Method を追加した Batch の作成 (オプション) .....	27
3.2.3	Batch Automation - Report Generation を追加した Batch の作成 (オプション) ....	28
3.2.4	Batch Automation - Decision rule を追加した Batch の作成 (オプション) .....	31
3.2.5	その他 Batch の機能.....	32
4	SWATH メソッドの作成と解析 .....	33
4.1	MS Method の作成 .....	33
4.1.1	Fixed window SWATH (fwSWATH)メソッドの作成 .....	33
4.1.2	Variable window SWATH (vwSWATH)メソッドの作成 .....	36

4.1.3	ZT Scan メソッドの作成 (ZenoTOF 7600+のみ)	39
4.2	SWATH の解析	41
4.2.1	Analytics の解析	41
5	SCIEX OS Software のその他の機能	42
5.1	Acquisition – MS Tune	42
5.1.1	Tuning Procedures の構成	42
5.1.2	Positive/Negative Quick Status Check	43
5.1.3	Positive/Negative Detector Optimization	43
5.1.4	Positive/Negative TOF (MS) tuning	45
5.1.5	Positive/Negative Q1 Unit/high Tuning	47
5.1.6	Positive/Negative Zeno Calibration (ZenoTOF 7600 のみ)	49
5.1.7	EAD Optimization (ZenoTOF7600 のみ)	49
5.1.8	EAD EI Background Reduction (ZenoTOF7600 のみ)	51
5.1.9	EAD Diagnostics (ZenoTOF7600 のみ)	51
5.1.10	ADC Initialization (ZenoTOF7600 のみ)	52
5.1.11	Advanced Trougleshooting	52
6	Management	52
6.1	Configuration	52
6.1.1	Configuration の構成	52
6.1.2	Devices の設定	53
6.1.3	Project の設定	55
6.1.4	Queue の設定	55
6.1.5	Print Templates の設定	56
6.1.6	License の設定	56
6.1.7	General の設定	57
6.1.8	Software Updates	57
6.1.9	Service and Support	58
6.2	Event Log の保存	59
7	メンテナンス (イオンソース, インターフェース, HPLC)	60
7.1	イオン源、カーテンプレート、オリフィスプレートのメンテナンス	60
7.2	LC のメンテナンス	61
7.2.1	核酸分析終了直後ギ酸溶媒による洗浄①	61
7.2.2	分析後のギ酸溶媒による洗浄②	61

7.2.3	サクションフィルタの洗浄 .....	61
7.2.4	LCシステムのクリーニング .....	62
7.3	MSシステムの再起動、停止および起動 (Shutdown & Startup) .....	63
7.3.1	ZenoTOF7600 及び X500 シリーズの装置停止手順 .....	63
7.3.2	ZenoTOF7600 及び X500 シリーズの装置起動方法 .....	63

※ 操作方法の詳細は、SCIEX OS Software の Help メニューからご覧いただけます。

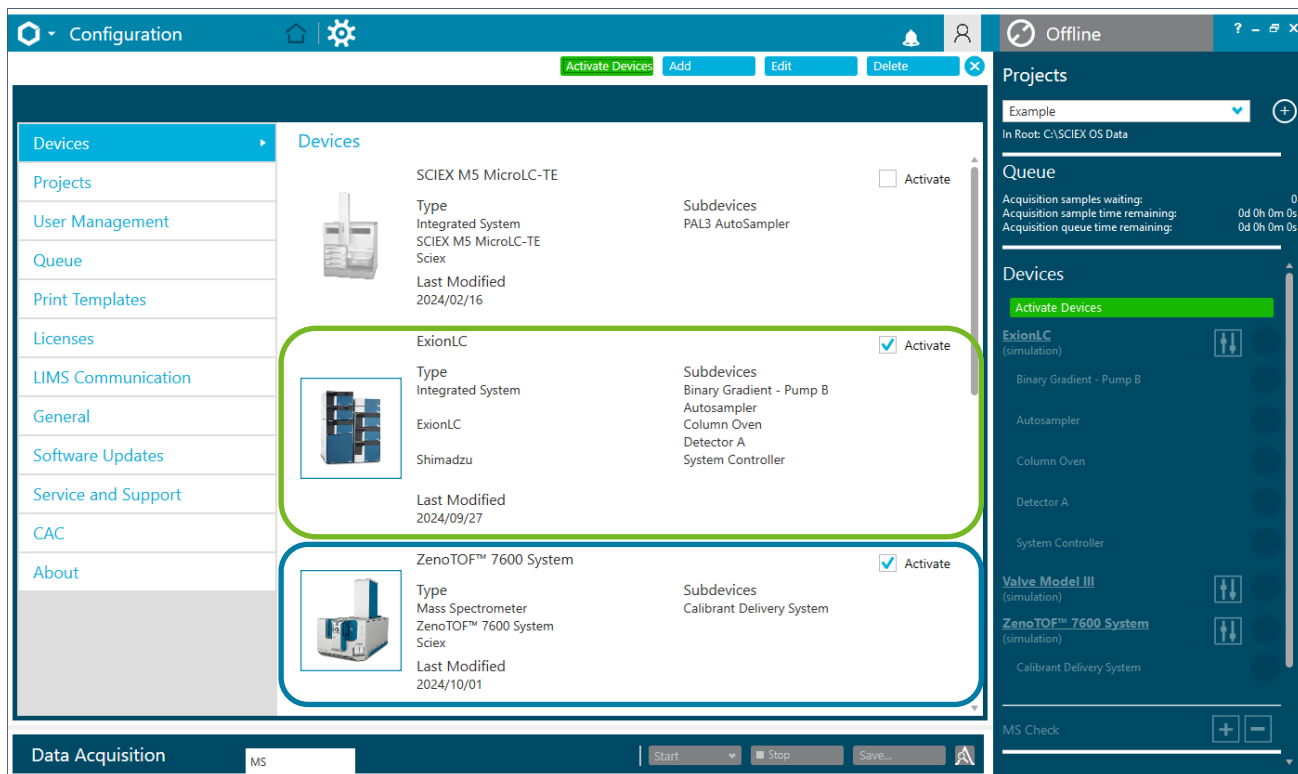
# 1 測定前の準備

分析を開始するにあたり、事前の準備を行ってください。この章では、必要な項目を順に記載します。

## 1.1 使用する装置の選択 - Devices

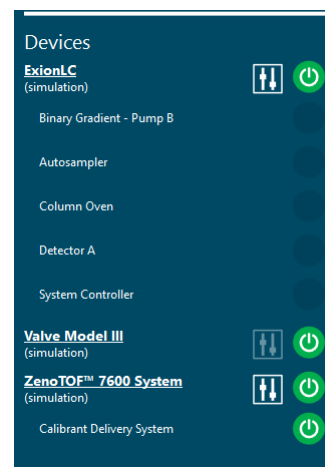
測定前の準備として、MS と LC など使用する周辺機器の選択や接続設定の確認を行います。

① Configuration を選択し、左の項目より Devices を選択します。




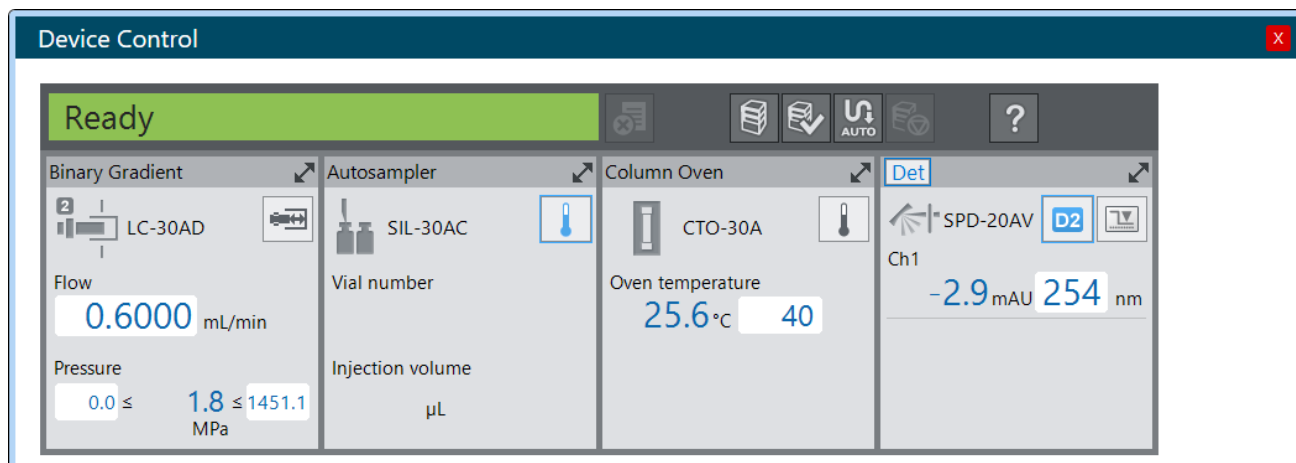
② MS システム（例：ZenoTOF 7600）と LC システム（例：Exion LC）の「Active」を選択し、画面上部またはステータスパネル内の **Activate Devices** を選択します。接続されると、**Deactivate** に変わります。接続に問題があった場合は Fail（赤）が表示されます。

- ステータスパネル内では、デバイスの各ユニット（ポンプ、オートサンプラー、カラムオープン等）について状況を確認できます。
- Configuration の画面は右上の **×** を選択して画面を閉じることができ、画面を閉じても接続は維持されます。画面は閉じず、バックグラウンドに保持しても影響はありません。
- UV の有無等、同一 LC デバイスで異なる構成や、その他の LC についても名称を変更して複数登録が可能です。
- 接続が Fail になった場合は、電源投入やシステムの通信状態を御確認頂き、再度作業をやり直してください。








### 1.1.1 LC システム単体での動作・制御 - 「Devices Control」機能

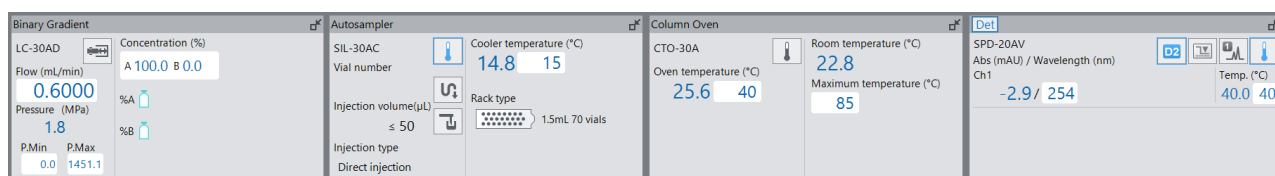
LC デバイス右の  より「Direct Device Control」を選択すると、下図画面「Device Control」が開きます。LC デバイスの構成に応じて、表示は若干異なります。(下図は Shimadzu あるいは ExionLC シリーズでの表示例です。)



ポンプ (Binary Gradient)      オートサンプラー      カラムオーブン      検出器 (UV)

- 御使用の LC メーカー、システムによって若干表示が異なります。
- 接続された LC の各ユニットがパネルで分割表示されます。
- 青字の項目は入力を変更することが可能です。また、右上のアイコン (, , , ) を選択すると各ユニットが設定値で動作、あるいは停止します。

各モジュールの右上角にあるアイコン  を選択すると右側が開きます。下図のようにより詳細に項目の変更が可能です (表示項目はシステムに含まれるオプションにより異なります)。



ポンプ (Binary Gradient)      オートサンプラー      カラムオーブン      検出器 (UV)

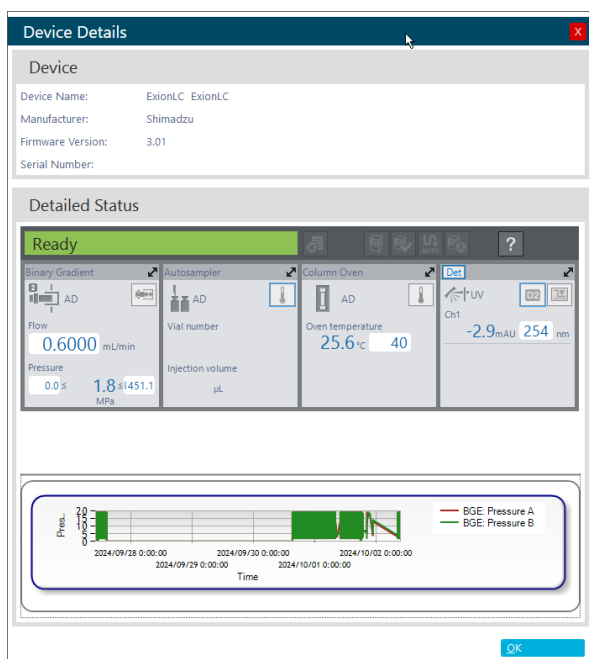
- カラム温度、オートサンプラーの温度や洗浄溶媒のパーセントなど、平衡に時間のかかる項目を事前に開始しておく便利です。
- 必要に応じて、UV ランプやオートサンプラー温度のオフも可能です。
- LC を MS へ接続している場合のポンプ送液使用にはご注意ください。MS システムの加熱前に送液を開始する場合は、配管を外す、ダイバートバルブを切り替え廃液側に流すなどを行い、待機状態の MS に移動相が大量に流れ込まないようにご注意ください。

**[Tips] 各システム名称を選択するとモニターが表示されます。**

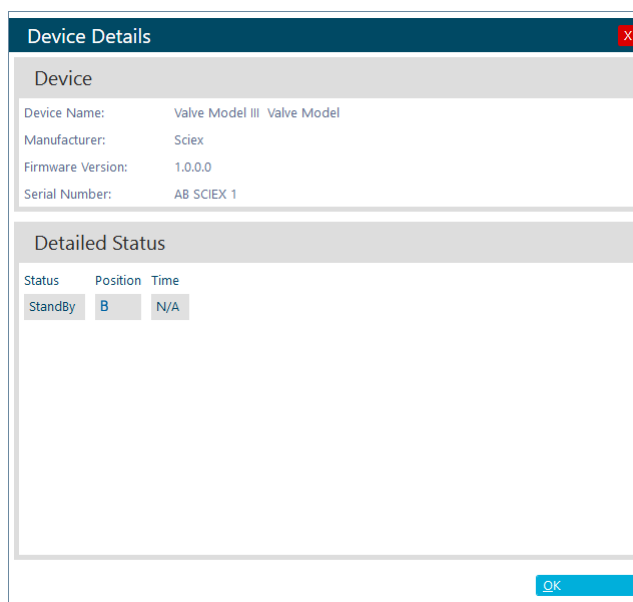
各デバイスの名称は選択が可能です。各ユニットの状況確認ができます（パラメータの変更はできません）。

- LC 名称（図中の「ExionLC」）では、LC システムの状況をモニターすることができます。
- MS 本体付属のバルブ（図中の「Valve Model」）では、バルブポジションの確認ができます。
- MS システム（図中の「ZenoTOF™ 7600 system」）では、システムの真空度や温度(Mass Spec)、ポンプ稼働状況（CDS）、フィラメントの電流 / 電圧値（EAD）のモニターができます。

LC システム (ExionLC)

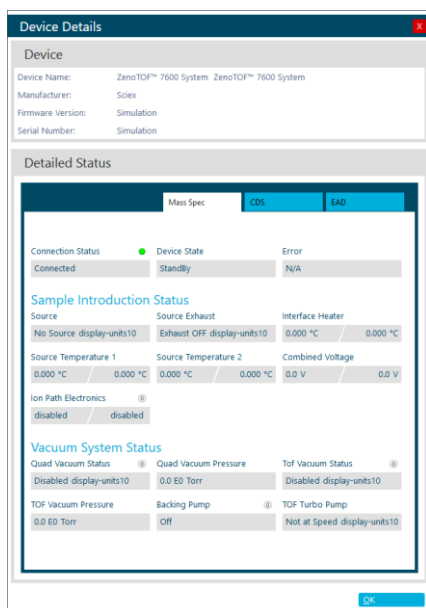


バルブ (Valve Model)

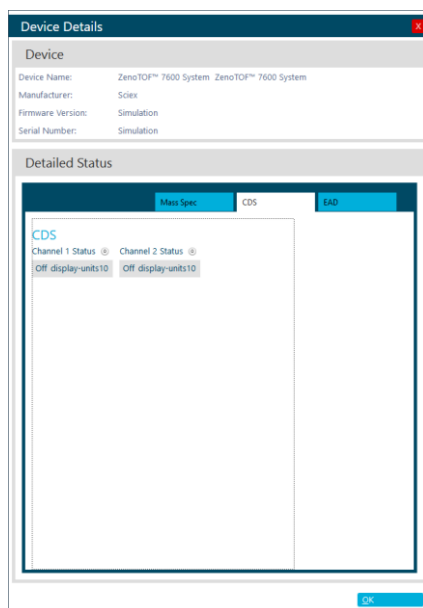


MS システム

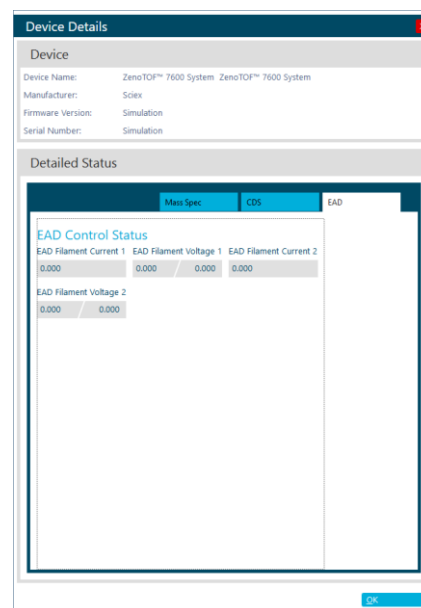
Mass Spec



CDS



EAD (ZenoTOF 7600 のみ)



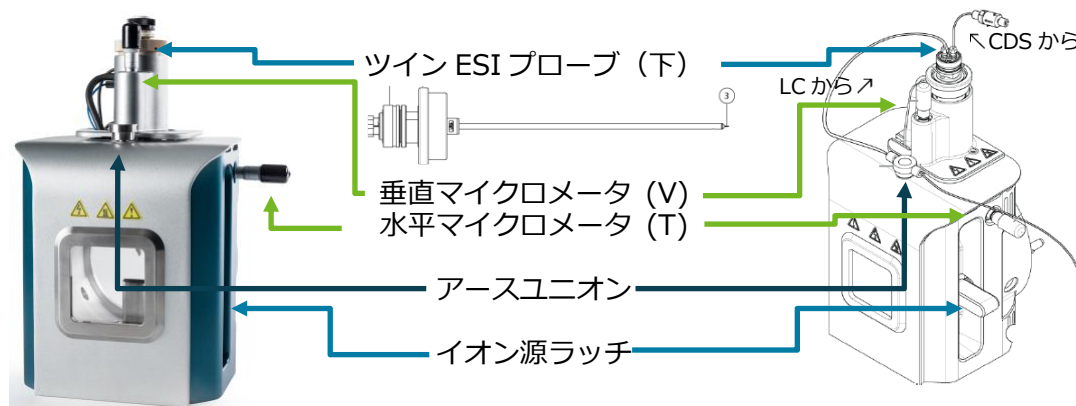
## 2 イオン源各部

### 2.1 イオン源各部の説明と確認

#### 2.1.1 Turbo V イオン源

TurboV™イオン源は X500 及び ZenoTOF 7600 で共通の標準イオン源です（下図）。

旧来からの SCIEX のイオン源デザインに加え、1つのプローブに LC 用、標準溶液用 2つの流路を備えており、流路の汚染無くサンプル分析と質量補正が可能です（TwinSpray プローブ）。



プローブは ESI（エレクトロスプレーイオン化）用と、オプションの APCI（大気圧化学イオン化）用で異なりますので、必要に応じて取り替えて使用して下さい。

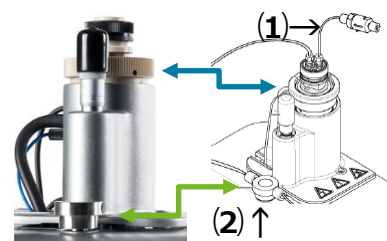
イオン源に関するパラメータは LC 条件に応じて最適な値が異なります。下図は LC 流量に対する各パラメータの標準的な値を示していますので、ご参考下さい。

パラメータ	標準値			動作範囲
	低	中	高	
LC流量	5 ~ 50 $\mu\text{L}/\text{min}$	200 $\mu\text{L}/\text{min}$	1000 $\mu\text{L}/\text{min}$	5 ~ 3,000 $\mu\text{L}/\text{min}$
Ion source gas1 (ネブライザガス)	20 ~ 40 psi	40 ~ 60 psi	40 ~ 60 psi	0 ~ 90 psi
Ion source gas 2 (ヒーターガス)	0 psi	50psi☒	50 psi	0 ~ 90 psi
Spray Voltage	5500 V	5500 V	5500 V	5500 V
Curtain Gas™ インターフェース用ガス	25 psi	30 ~ 35 psi	40 psi	25 ~ 50 psi
Temperature	周囲温度 ~ 200 °C	200 ~ 650 °C	400 ~ 750 °C	最大750 °C
垂直マイクロメータ設定 (V)	5~10	2~5	0~2	0~13
水平マイクロメータ設定 (T)	4~7	4~7	4~7	0~10

- 低分析のスプレーのポジションは Infusion および LC/MS 分析時に必要に応じて変更します。変更せずに LC/MS のポジションで使っていただいても問題ありません。
  - Infusion : 垂直(V):5mm、水平(T):5mm
  - LC/MS : 垂直(V):3mm、水平(T):7mm（実際の分析時は適宜変更することも可能です）

## 2.1.2 ESI/APCIプローブの取り付け・取り外し

TurboV™イオン源はプローブ部分を変更して、ESI と APCI イオン化に対応することができます。



① プローブに接続されている PEEK チューブ（赤色）とチェックバルブパーツ（ベージュの円筒型）の間 (1) と、アースユニオンの LC 側 (2) を外してください。

② イオン源に固定する止めリング（矢印のベージュ部分）を回して取り付け/取り外しができます。

\* プローブの付け外しの際、少し抵抗がありますのでご注意ください。

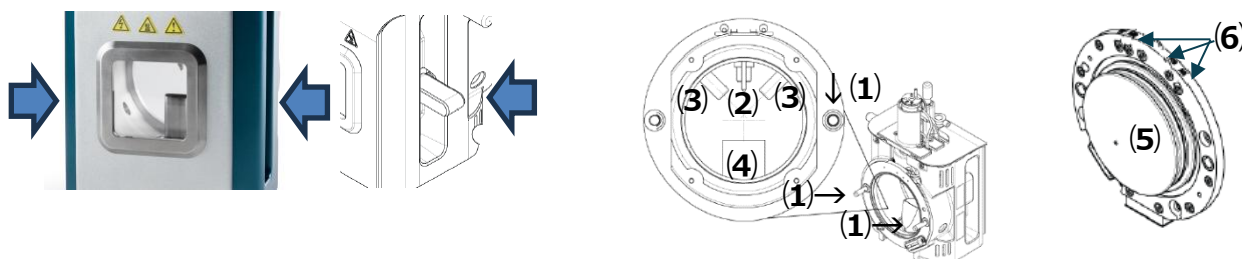
## 2.1.3 MS 本体からイオン源の取り付け・取外し

日常的なクリーニングなどの際に行います。取り外したイオン源は少し重く、使用直後はイオン源の加熱により高温になっている可能性もありますので、ご注意ください。

### イオン源の取外し

① プローブに接続されているチューブを外します。

② 下向きの両ラッチを引き上げて 180°上向きにします。



③ MS 本体から引き抜くように取り外します。2 本の (1) ガイドピンが本体より引き抜かれ、取り外されます（左図）。

➤ イオン源を取り外すと、内側は (2) ESI あるいは APCI プローブ、(3) ターボヒーター、(4) 排気チムニーが確認できます（中図）。

➤ 一方、MS 本体の真空インターフェース側には、(5) カーテンプレートと、ガス供給孔に付属する (6) O リングが確認できます（右図）。

\* O リングの脱落に注意して下さい。

### イオン源の取り付け

① (1) ガイドピンと MS 本体のソケットを合わせて押し当て、両サイドのラッチを回して下向きにしてイオン源を固定します。

➤ イオン源に接続されていた 2 本のチューブは忘れずに取り付けして下さい。

## 2.2 OptiFlow イオン源 (ZenoTOF7600 のみ)

OptiFlow®イオン源はナノフローからマイクロフローの幅広い流速に対応可能なイオン源です。イオン源の上部と前部にあるポートに対応するプローブを取り付けるだけで、対応流速を変更できます。

### 2.2.1 OptiFlow® Turbo V イオン源の概要

#### 対応する流速とプローブの種類

- MICRO 50-200 uL プローブ：流速 50 – 200 uL/min に対応
  - 対応エレクトロード：ELECTRODE 50–200 μL
- MICRO 1-50 uL プローブ：流速 1 – 50 uL/min に対応
  - 対応エレクトロード：ELECTRODE 10–50 μL
  - 対応エレクトロード：ELECTRODE 1–10 μL
- NANO <1 uL プローブ：流速 100 – 1000 nL/min に対応
  - 対応エレクトロード：Nano Electrode 100nL/min-1μL/min
- ESI Calibration プローブ：流速 1 – 2000 nL/min に対応
  - 対応エレクトロード：ESI CALELECTRODE
- その他：Probe Port Plug
  - 使用しないポートに取り付ける

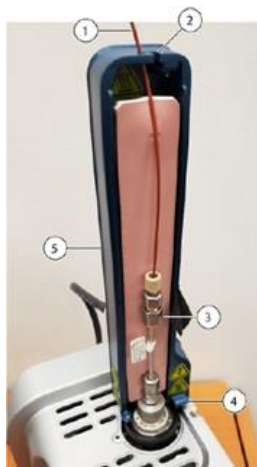


#### オプション (カラムヒーター)

MICRO 用と NANO 用に 2 種類をご用意いたしております。

##### MICRO 用カラムヒーター

OptiFlow®上部ポートに取り付け



##### Nano 用カラムヒーター

OptiFlow®前部ポートに取り付け



- Phenomenex 社製 OptiFlow nano 専用カートリッジホルダ付きカラム
- カートリッジホルダ (右) を使用して他社製カラム の取付も可能です。  
(Phenomenex 社 AL0-9255)

## 2.3 OptiFlow ナノイオン源の取り付け

### 2.3.1 ナノフロー用プローブの準備

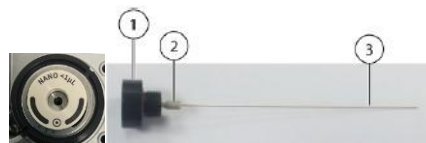
準備するもの：

- OptiFlow イオン源
- OptiFlow ナノプローブ、ナノエレクトロード



① ナノエレクトロード (No. 5070382) を用意します。右上図のようにユニオン (黒) に手締めで固定してください。

- エレクトロードとナット(右図2)はセットになっています。
- ユニオン (黒) はナノプローブに付属しています。



② OptiFlow ナノプローブ (NANO<1uL の記載をチェック)を、イオン源中央にある前部プローブポートに取り付けます。

- プローブ取付時は、プローブとイオン源のマーク(右図②と③)で位置合わせし、周囲の黒いネジを回して固定します。
- 平行に取り付けを行ってください。



③ ①のエレクトロードをナノプローブに差し込んで固定します。

\* エレクトロード先端は割れやすいので、ゆっくりとまっすぐに挿入してください

④ (ナノカラムヒーターを使用される場合) 下記手順でヒーターを準備します

- 使用しない場合は次の手順⑤に進んでください

(1) ナノカラムカートリッジに nano カラムをセットします。アーム部分にはカラム入口、反対側にカラム出口をセットしてください。(図は Phenomenex 社製 OptiFlow nano 専用カートリッジホルダ付きカラム)



(2) ヒンジにカバーをかけてふたをし、ロックしてください (III)。



(3) OptiFlow 前部ポート下にある2つの穴(IV)に、ヒーター裏の2本のロッドを差し込み、セットします。



(4) ヒーターの電源ケーブルを ZenoTOF7600 背面の“SOURCES”に取り付けます。

- ナノカラムヒーターの設定は SCIEX OS の MS method より行います (温度設定は室温~90℃まで可能)。

⑤ 上部プローブポート後ろにある穴に注入アダプタ (下) をセットします。




### 2.3.2 OptiFlow nano イオン源への変更

ナノ LC に使用するため、OptiFlow nano イオン源を装置に取り付けます。

準備するもの：

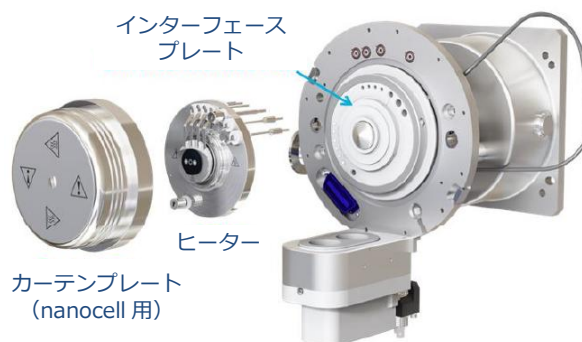
- OptiFlow イオン源 - nano エレクトロードを装着した nano プロブ、プローブポートプラグ、注入アダプタ、
- OptiFlow インターフェース (nano cell, ヒーターとカーテンプレート)

- ① Status Panel の Direct Control より、装置を Standby  にしてください。
- ② Configuration より装置を **Deactivate** してください。
- ③ 取り付けられているイオン源の両側のラッチを 12 時の方向へ持ち上げ、ガイドピンに沿って引き抜いて外します。
  - 取り付け、取り外し時に SCIEX OS 上にメッセージが表示されますが、OK を押して次へ進んでください。

- ④ カーテンプレートを取り外します。
- ⑤ OptiFlow インターフェース (nanocell、右中) のヒーターを、平行になるように 2 本のねじをゆっくり回し固定します。

\* インターフェースプレートに対して平行に取付られていることを御確認下さい。

- ⑥ Nanocell 用カーテンプレートを取り付けます
- ⑦ OptiFlow nano イオン源を取り付けてください。



- ⑧ SCIEX OS の Configuration より LC および MS を選択後、**Activate Devices** を押し、装置を接続してください。

- ⑨ フィッティング (上図②No. 5015860 : FITTING\* FOR FUSED SILICA 360UM) を使用して、カラム出口のライン (360um FS キャピラリー) をナノプローブに直接固定します。



## 2.4 OptiFlow マイクロイオン源の取り付け

### 2.4.1 マイクロフロー用プローブの準備

OptiFlow®イオン源をマイクロフロー分析用にセットアップします。分析用に3種類、キャリブレーション用に1種類のプローブがあります。接続位置が一部異なりますが、基本的準備方法は同じです。

準備するもの：

- OptiFlow イオン源
- Micro あるいは Analytical プローブ
- エレクトロード (Micro low, mid, high)
- (必要に応じて) ESI キャリブレーションプローブ
- (必要に応じて) ESI キャリブレーション用エレクトロード
- プローブポートプラグ



① 使用する流速に応じて、マイクロフロー用エレクトロードを用意します。

- 1~10 uL/min 用 – 25 um FS (オレンジ)
  - 10~50 uL/min 用 – 50 um FS (ナチュラル)
  - 50~200 uL/min 用 – 50 um ステンレス (ナチュラル)
- \* エレクトロードパックの表示や材質、色で区別して下さい。

② OptiFlow の上部ポート (右図①) に MICRO プローブをセットしてください。

- Micro 1-50 uL プローブ : LC 流量 1~50 uL/min に対応。
  - Micro 50-200 uL プローブ : LC 流量 50~200 uL/min に対応。
- \* プローブ上部の表示を御確認下さい。



③ ①のエレクトロードをマイクロプローブに差し込んでください (右図)。

- FS タイプのエレクトロードは、先端が割れやすいので注意して下さい。

④ 3/8”フィッティング (PEEK, 5060677 Fitting 3/8” bottom) でエレクトロードを固定します。



⑤ PEEK フェラルに上部フィッティング (金属, 5060978 FITTING\* COLUMN SNAP EXT) をセットし、エレクトロードに通します。

- PEEK フェラルは上部フィッティングに軽く押し込むことで固定されます。

⑥ カラムをエレクトロードの上部チューブに密着させ、⑥の上部フィッティングで固定します。

- 1/16” universal タイプフィッティングのカラムを使用します

⑦ 前部ポート (右上図②) にはプローブポートプラグ、または ESI キャリブレーションプローブをセットしてください。




- ESI キャリブレーションプローブには専用のエレクトロードを使用します。
- 上記④、⑤と同様にフィッティング類をセットし、チェックバルブ付の CDS ライン (薄紫) を取り付けます。

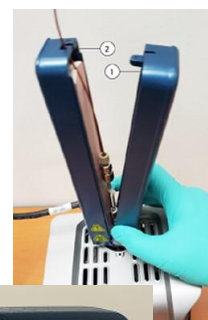
## 2.4.2 OptiFlow マイクロイオン源への変更

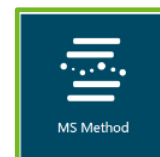
マイクロ LC に使用するため、OptiFlow マイクロイオン源を装置に取り付けます。

準備するもの：

- OptiFlow イオン源 –マイクロプローブと、プローブポートプラグまたは ESI キャリブレーションプローブを装着
- Micro カラムヒーターまたは注入アダプタ

- ① Status Panel の Direct Control より、装置を Standby  にしてください。
- ② Configuration より装置を **Deactivate** してください。
- ③ 取り付けられているイオン源の両側のラッチを 12 時の方向へ持ち上げ、ガイドピンに沿って引き抜いて外します。
  - 取り付け、取り外し時に SCIEX OS 上にメッセージが表示されますが、OK を押して次へ進んでください。
  - カーテンプレートは標準タイプを使用します。。
- ④ ZenoTOF7600 に OptiFlow マイクロイオン源を取り付けます。
- ⑤ MICRO カラムヒーターを開け、左側（ケーブルあり）下部にある金属棒を、エレクトロードの後ろにある穴に差し込みます。
- ⑥ カラムヒーター左側下部のヒンジに右側を引っ掛けて合わせます。
  - 配管が挟まらないように、配管をくぼみに合わせて閉じます。
- ⑦ カラムヒーターの電源ケーブルを ZenoTOF 7600 背面にある”SOURCES”に取り付けます。
  - MICRO カラムヒーターの設定は SCIEX OS の MS method より行います(温度設定は室温~90℃まで可能)。
- ⑧ SCIEX OS の Configuration より LC および MS を選択後、**Activate Devices** を押して 装置を接続してください。





### 3 分析メソッドの作成とサンプル測定

この章では、分析を行う際に使用する分析メソッドを作成する方法をまとめています。

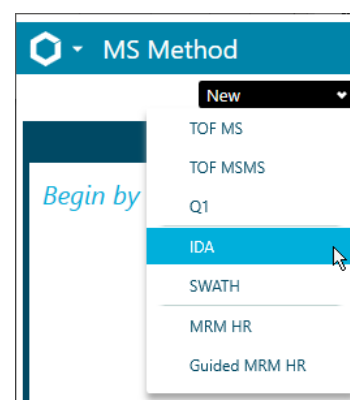
#### 3.1 MS Method の作成方法

MS Method は様々なメソッドタイプが選択できます。

##### ■ MS メソッドタイプの選択

様々な分析タイプに対応可能なメソッドを選択して、必要となる情報を設定します。メソッドタイプによって必要となる設定は異なります。

- **TOF MS** - HPLC 分離により逐次分離される成分のプリカーサーイオンの情報を高分解能 MS データで検出する。
- **TOF MSMS** - あらかじめ指定したプリカーサーイオンの  $m/z$  値を指定して、高分解能 MS/MS で連続取得する。
- **Q1** - 四重極フィルターを利用して、特定の  $m/z$  範囲内の一定幅のみを透過させた高分解能 MS データを取得する。
- **IDA** - 一定基準（クライテリア）を超えた成分を網羅的に MS/MS を行う（DDA or Data-Dependent Acquisition）
- **SWATH** - 特定の  $m/z$  範囲の TOF MS と、ある一定の幅で分離した範囲を連続的に MS/MS する手法（DIA or Data-Independent Acquisition）



上記は、MS/MS 分析の“網羅性”を基準として使用目的が異なります。Q1 と IDA のように機能が類似しているメソッドタイプでは、設定によっては同等の分析メソッドとなる場合もあります。あらかじめ設定した特定の標的成分に対して、より詳細な構造解析や定量分析を目的とした分析手法として、以下を区分けして表示しています。

以下は定量および構造解析を目的とした分析法です。

- **MRM HR** - TOF MS と TOF MSMS をあらかじめ組み込んだメソッド。プリカーサーイオンの精密質量情報と特定成分の MS/MS 情報を連続取得します。
- **Guided MRM HR** - 特定成分の高感度 MS/MS 分析条件を最適化するために、標準品を使用したメソッド作成支援機能。

※ MRMHR な設定法は別冊の基本操作マニュアルをご参照ください。

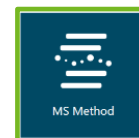
##### 3.1.1 TOF MS メソッドの作成

TOF MS メソッドでは高分解能 MS データのみを取得し、検出されたピークそのものの精密質量情報を得ることを目的とした分析方法です。

## TOF MS メソッドを作成する

新しく MS メソッドを作成する際や、既存メソッドの閲覧などを行います。

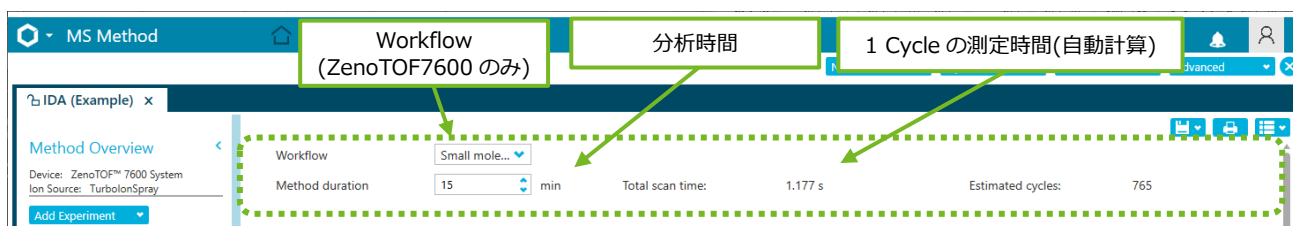
ホーム画面上の「MS Method」を選択し、右上の **New** から「TOF MS」を選択します。



### ■ 分析時間などの設定

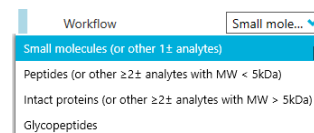
下図を参照のうえ、順に必要な項目を入力します。

- ① Duration には測定時間（例：15min）を入力します。LC グラジエント時間に合わせて入力してください。

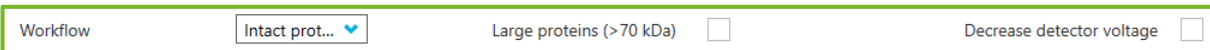


### ■ Workflow 設定 (ZenoTOF 7600 のみ)

「Workflow」は、分析対象の分子量ごとによく使用される設定を大まかに設定することができます。

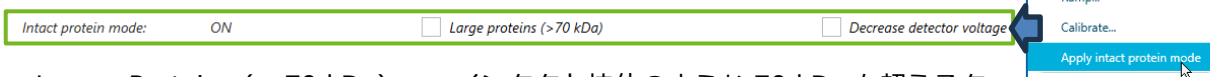


- それぞれの Work flow へ切り替える際の基準は以下になっております
  - Small Molecule (or other 1± analytes) : 低分子化合物や価数が  $z = +$  or  $-1$  で検出される成分の分析
  - Peptides (or other  $\geq 2\pm$  analytes with MW < 5kDa) : タンパク質消化物、ペプチド、核酸(negative)など、価数が  $z \geq +$  or  $-2$  で検出される成分の分析
  - Intact proteins (or other  $\geq 2\pm$  analytes with MW > 5kDa) : インタクトタンパク質、長鎖核酸 (negative) など。



- Intact Protein の設定では、タンパク質のようなさらに高分子量のサンプル (> 70 kDa) を分析するのに適したオプション設定が追加されます (下図)。

\* X500 では MS メソッド右上の Options から設定可能です (右図)。



- Larger Proteins (> 70 kDa) - インタクト抗体のような 70 kDa を超えるタンパク質の分析に使用します。
- Decrease detector voltage - タンパク質由来の多価イオンに著しい影響を与えずに 1 価イオン由来のバックグラウンドシグナルを下げる効果があります。また、多価イオンの S/N 比が改善します。
- Glycopeptides: 糖ペプチド (=高  $m/z$  で検出されるペプチド) 用に  $m/z$  範囲が拡張されま  
す。

## ■ イオン化に関わるパラメーターセットと TOF MS 分析の設定

Source and Gas Parameters の項目ではイオン化に関する設定を、TOF MS は分析対象に応じた質量範囲を、下図を参考に設定します。

② Temperature (Gas2 温度) および Declustering Potential は標準的な数値が自動的に入力されます。

- 熱に不安定な化合物やインソース CID が起きる化合物を分析される際は低い値に設定してください。(例 Temperature : 300 (最大 750°C)、Declustering Potential : 80 → 30 程度、Collision Energy : 10 → 5)

③ TOF MS の設定は対象化合物の分子量と価数を元に入力します。下図の値は低分子化合物の分析条件では標準的な値です。

- 「Experiment」は一連の分析セットを意味します。必要に応じて Experiment は追加でき、別の種類の測定を組み合わせた分析メソッドの作成も可能です。

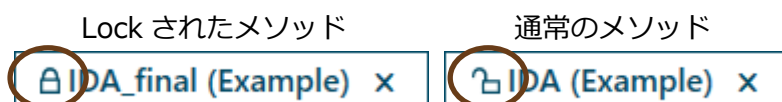
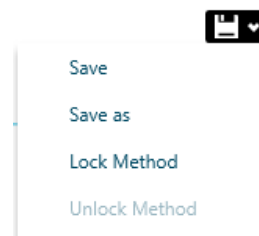
- イオン源の設定は LC 流速に依存しています。それぞれの条件は下図をご参考ください。

LC流速 (mL/min)	51-150	151-400	401-800	800以上
Curtain gas (psi)	25	30	35	40
ion Source Gas1(psi)	30-50	40-70	50-90	60-90
ion Source Gas2 (psi)	30-50	40-70	50-90	60-90
Temperature (°C)	150-250	250-500	500-650	600-750

## ■ 作成したメソッドの保存

④ 作成した MS メソッドを保存するには、右上の アイコンよりオプションを選択して保存して下さい。

- 「Save」は上書きする場合。
- 「Save As」は名前を付けて新規保存する場合。
- 「Lock Method」は保存後、メソッドを変更できない状態で保存する場合です。Lock されたメソッドのタブは、閉まった鍵のアイコンがつかます。



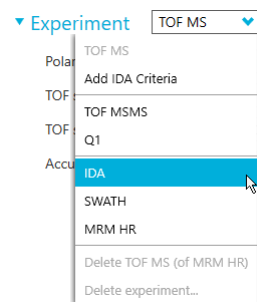
### 3.1.2 IDA メソッドの作成

IDA メソッドは MS と MS/MS の両方の情報を一度に取得します。TOF MS 分析で検出されたピークに対して、あらかじめ設定しておいた基準 (Criteria) を元に、自動的に MS/MS 分析を実施する分析方法 (Data-Dependent Acquisition) です。TOF MS データから基準を超えたピークに対して MS/MS を行う「サイクル」を繰り返しながらデータ取得し、LC 溶出成分の網羅的な MS/MS 解析に使用します。

※ IDA の一般的な設定法は別冊の基本操作マニュアルをご参照ください。

#### メソッド作成の流れ

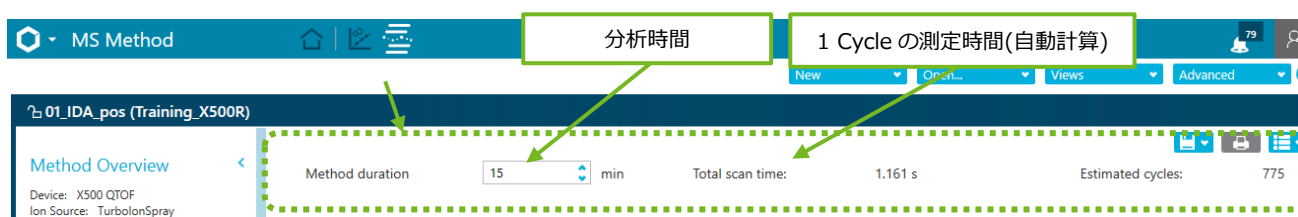
- ① ホーム画面上の「MS Method」を選択し、右上の **New** から IDA を選択します。



#### ■ 分析時間などの設定

下図を参照のうえ、順に必要な項目を入力します。

- ② Duration には測定時間 (例 : 15min) を入力します。LC グラジエント時間に合わせて入力してください。



#### ■ イオン化に関わるパラメーターと TOF MS 分析の設定

Source and Gas Parameters の項目ではイオン化に関する設定を、TOF MS は分析対象に応じた質量範囲を、下図を参考に設定します。

- ③ Temperature (Gas2 温度) および Declustering Potential は標準的な数値が自動的に入力されます。
  - 熱に不安定な化合物やインソース CID が起きる化合物を分析される際は低い値に設定してください。(例 Temperature : 300 (最大 750℃)、Declustering Potential : 80 → 30 程度、Collision Energy : 10 → 5)
- ④ TOF MS の設定は対象化合物の分子量と価数を元に入力します。下図の値は低分子化合物の分析条件では標準的な値です。

- 「Experiment」は一連の分析セットを意味します。必要に応じて Experiment は追加でき、別の種類の測定を組み合わせた分析メソッドの作成も可能です。

- イオン源の設定は LC 流速に依存しています。それぞれの条件は下図をご参考ください。

Source and Gas Parametersの参考値

LC流速 (mL/min)	51-150	151-400	401-800	800以上
Curtain gas (psi)	25	30	35	40
ion Source Gas1(psi)	30-50	40-70	50-90	60-90
ion Source Gas2 (psi)	30-50	40-70	50-90	60-90
Temperature (°C)	150-250	250-500	500-650	600-750

### 自動 MS/MS 取得の基準 (クライテリア) の設定

下図を参照のうえ、順に必要な項目を入力します。

- ⑤ IDA Criteria (自動的に MS/MS を取得するピークを選択) は、下図を参考に設定します。

**Maximum candidate ions :**  
最大 MS/MS 数  
ZenoTOF : 最大 200  
X500 : 最大 100

**Dynamic background subtraction (DBS) :**  
・ノイズピークの MS/MS 回避  
・ピークトップ付近を MS/MS する設定

**Intensity Threshold exceeds:**  
選択するプリカーサーイオン強度の最小値

**Exclude former candidate ions :**  
同じイオンを繰り返し選択させないための設定  
✓なし ⇒ 強度があれば常に取り続ける  
✓あり、For: X s, After Y occurrence(s)  
⇒ X 秒間、Y 回だけ同じプリカーサーイオンを選択

**Exclude isotope +/- :**  
選択したピークに対して同位体として除外する範囲(Da)

**Mass tolerance +/- :**  
選択したピークからの質量誤差範囲の設定 (mDa/ppm)

- 上記 IDA Criteria にある Workflow は X500, ZenoTOF7600 共通です。

- その他の IDA criteria

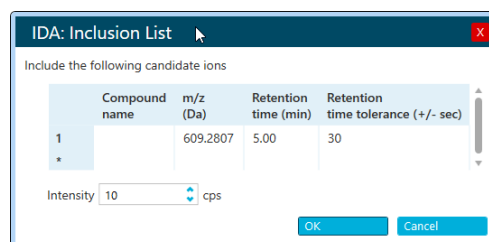
- Inclusion List と Exclusion List

 Inclusion List...

 Exclusion List...

MS/MS を取得、除外する成分の  $m/z$  が決まっている場合に使用します。

- Advanced Criteria を開き、Inclusion あるいは Exclusion List を選択すると右下のパネルが開きます (例 : inclusion List)。
- IDA: Inclusion List で、目的物の  $m/z$  値と、必要に応じて Compound Name, Retention time 及び tolerance を入力します (Retention time が不明な場合は 0 を入力 = 常に優先してとり続けます)。
- (Inclusion List のみ) Intensity (ピーク強度の閾値) を入力し OK します。
- Inclusion あるいは Exclusion List を使用する場合はチェックしてください。



以下の機能は、「IDA Criteria」を All  All  の設定追加される詳細設定です。

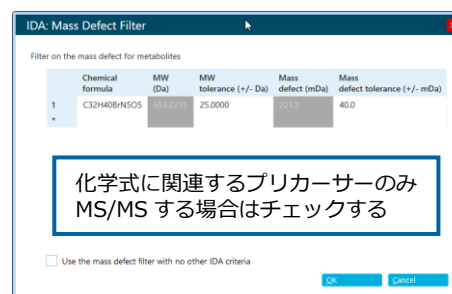
\* Training では実施しません。

- Mass Defect Filter

 Mass Defect Filter...

Mass Defect を利用するフィルタ機能で、主に薬物の代謝物同定や、類縁体の分析、低分子ペプチドの分析時に使用します。Mass defect (mDa) = ABS (モノアイソトピック質量 - 整数質量)

- 対象化合物の化学式、MW tolerance(対象化合物との質量差許容範囲), Mass defect tolerance を入力します。
- その他のクライテリアを使用せず、このフィルターを適用する場合は、Use the mass...にチェックします。

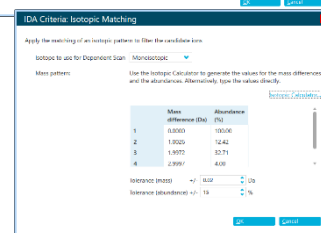
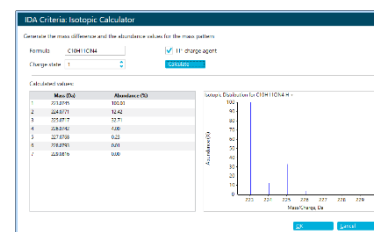


- Isotopic Matching

 Isotopic Matching...

同位体分布の類似を基準にプリカーサーを選択します。特に、特徴的な同位体分布を持つ各種 (Cl, Br 等) を含む化合物、代謝物の選択的 MS/MS 取得に有効です。

- プルダウンメニューより mono-isotopic あるいは most abundant を選択します。モノアイソトープピークの強度が低い成分では後者を選択します。
- Isotopic Calculator を選択し、組成式 (右図 : アセタミプリド C10H11ClN4)、H+ charge agents、Charge state を入力し calculate をクリックすると理論パターンが計算されます。OK すると元のパネルに計算値が自動入力されます。
  - \* モノアイソトープピークの精密質量を基準 (0 Da, 100%) として、質量差及びピーク存在比(%)が入力されます。
- Tolerance (mass) 0.01 以上、Tolerance (abundance)強度差それぞれの閾値を設定し、OK を選択します。
- Isotope Matching にチェックすると、同位体パターンフィルターが設定されます。



## ■ Neutral loss Neutral Loss...

中性イオン種の脱離したピークの質量差に基づいて、MS/MSを取得する対象を決定します。

質量差を検出するには、異なる Collision Energy で2回の TOF MS 分析を行い、それぞれの質量リストを比較します。リスト間で、指定した質量差を持つピークを選択的に MS/MS 分析します。

- Low CE は TOF MS で使用する値を設定します。
- High CE は2回目の TOF MS 分析で使用する CE 値に近い値を設定します。通常の IDA で使用している CE 値を入力してください。
- ここで設定した CE 値を TOF MS メソッドに適用するため、MS method 内の TOF MS の Collision energy は変更できなくなります。 → Collision energy 5 V
- Mass difference (Da)には、脱離する中性イオンの質量を入力します。
- Tolerance (mass) +/- には Mass difference の質量誤差許容値を入力します。デフォルト値は 0.02 Da です。
- MS/MS 分析は、low CE の TOF MS で得られた、ニュートラルロスの無いプリカーサーに対して行われます。

Mass difference (Da)
1
80.0000
*

## ■ Candidate mass range /to Candidate mass range

プリカーサーイオンの  $m/z$  範囲を指定します。

Candidate mass range	400	Da
to	1250	Da

## ■ Adjust CE when using iTRAQ reagent Adjust CE when using iTRAQ reagent

iTRAQ 試薬で標識したサンプル分析のために、適した Collision energy に調整する機能です。低分子化合物には使用しません。

### [Tips]MS Method 内その他の詳細設定

\* Training では実施しません。

Advanced

MS メソッド内にはより詳細な設定項目を追加できます。右上の **Advanced** より Show advanced parameters を選択すると表示されます。

**Time bins to sum :** MS データにおいて合算するデータポイント数。低分子からペプチドでは4から6の間で、インタクトタンパク質分析ではスタート値を40より検討して下さい。

**Channel (1 - 4) :** 分析に使用する ADC コンバータのチャンネル1 - 4を選択できます。通常はすべて選択されており、これら4チャンネルのシグナルのトータルイオンカウントを合算します。

**Manual QJet RF amplitude :** QJet RF amplitude の値を任意に変更できるようにするオプション。通常条件では使用しないが、MS メソッドで指定された  $m/z$  範囲で自動的に変更される。自動設定された amplitude ではフラグメンテーションを生じるような成分 (例えば核酸などの解離しやすいイオン) の場合には、この設定を選択使用し、値を変更します。

**QJet RF amplitude :** QJet の RF 値を任意の値に変更します。変更例 : 核酸 → 190V

■ **自動取得する MS/MS の詳細設定**

⑥ TOF MSMS は下図を参考に設定します。

➤ ZenoTOF7600 と X500 では表示が若干異なります。

MS/MS の設定 (ZenoTOF7600) - Fragmentation mode, Q1 resolution, Zeno Pulsing の追加


TOF MSMS			
Fragmentation mode	CID	Precursor ion	829.5 Da
TOF start mass	80 Da	Declustering potential	80 V
TOF stop mass	1000 Da	DP spread	0 V
Accumulation time	0.03 s	Zeno Pulsing	<input checked="" type="checkbox"/>
		Q1 resolution	Unit
		Collision energy	35 V
		CE spread	15 V

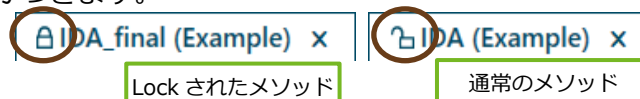
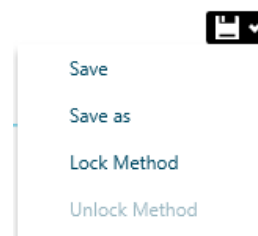
MS/MS の設定 (X500)	MS/MS 測定範囲	MS/MS 1 回あたりの積算時間	Declustering potential	Collision Energy と CE Spread
TOF MSMS				
Precursor ion	829.5 Da		Declustering potential	80 V
TOF start mass	50 Da		DP spread	0 V
TOF stop mass	1000 Da		Accumulation time	0.03 s
			Collision energy	35 V
			CE spread	15 V

- 「Total Scan Time」がメソッド最上段に表示されます。Candidate Ions 数や積算時間などに応じて変わりますので実際のピーク幅を考慮してこれらの値を設定してください。
- Total scan time : 1 サイクルに必要な時間。1 サイクルは MS と MS/MS の全測定と切り替え時間等が含まれます。上記の例 : TOF MS + TOF MS/MS = 0.1 秒 + 0.6 秒 (0.03 \* 最大 20 ピーク) + a = 約 0.8 秒 / 1cycle
- CE Spread : Collision Energy の入力値に対して、CE Spread 入力値を引いた値から、足した値をランプしながら MS/MS を取得します。例) CE 35, CES 15 の場合 : CE 20-50V をランプし、これらの平均スペクトルが各 MS/MS データとして取得されます。
- 低分子化合物では上図の固定値 (CE 35, CES 15) を主に使用していますが、異なる値を使用しているケースもございます。必要に応じて変更も可能です。
- IDA や SWATH など、低～高分子が混在するサンプル (例えばタンパク質消化物) の網羅的な MS/MS 測定に有効です。
- 化合物ごとに最適な CE 値がある場合は使用しません [CES = 0]。
- CES を使用する場合、Accumulation time は 25ms 以上に設定してください。
- 得られる MS/MS データは積算した 1 つの MS/MS スペクトルとなるため、各 CE 個別でのスペクトルの閲覧はできません。

■ **作成したメソッドの保存**

⑦ 作成した MS メソッドを保存するには、右上の  アイコンよりオプションを選択して保存して下さい。

- 「Save」は上書きする場合。
- 「Save As」は名前を付けて新規保存する場合。
- 「Lock Method」は保存後、メソッドを変更できない状態で保存する場合です。Lock されたメソッドのタブは、閉まった鍵のアイコンが付きまます。



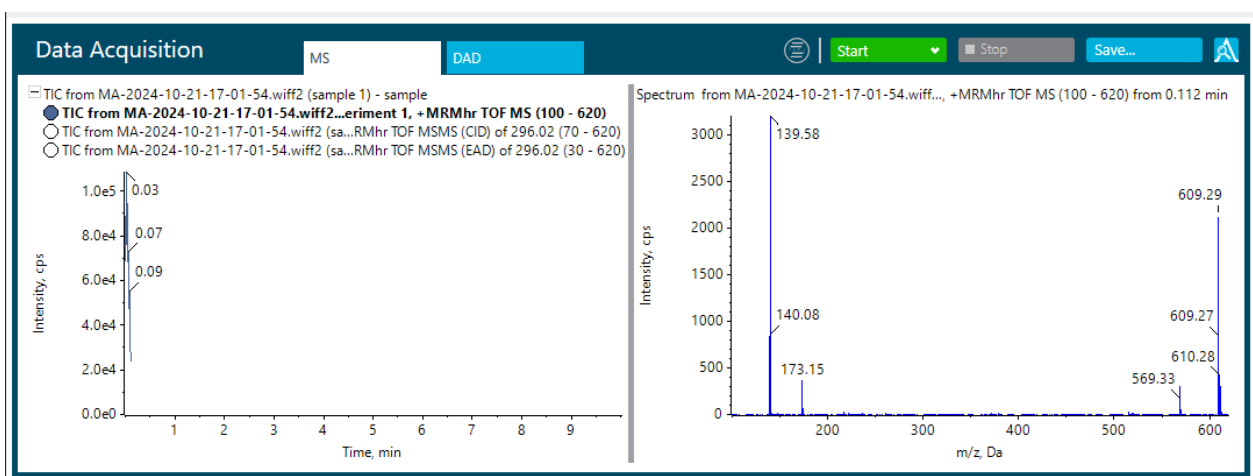
### 3.1.3 MS method その他の機能

#### ■ Data Acquisition パネルを使ったマニュアル分析

SCIEX OS 画面の下に表示されている「Data Acquisition」(下図)は、分析中のデータをリアルタイムで表示します。また、MS method 画面でメソッド編集を行う際に、シリンジポンプ等で標準品を送液しながらメソッドの調整等に使用頂くことも可能です。Data Acquisition パネルは上記帯内側をクリックすることで開きます。



- MS タブは MS 側の情報、TIC 及び MS, MS/MS スペクトルを表示します。
- DAD タブは DAD の TWC (Total Wavelength Chromatogram) 及び、LC メソッドで指定された固定波長の UV クロマトグラムが表示されます。固定波長の UV 検出器の場合、TWC は表示されません。また、MS のマニュアル分析ではクロマトグラムは表示されません。
- IDA や MRM HR 等のメソッドで分析している際は、左側にクロマトグラム画面の左上にある **+** で、設定されたそれぞれの MS や MS/MS のクロマトグラムを表示します。選択したクロマトグラムに属する MS スペクトルが右側に表示されます。
- Data Acquisition パネルで作業する場合は、**Start** **Stop** **Save...** ボタンよりデータ取得開始と停止、取得したデータの保存が保存できます。
- **A** ボタンをクリックすると、Data Acquisition で表示されているデータを「Explorer」上でリアルタイム表示、解析ができます。

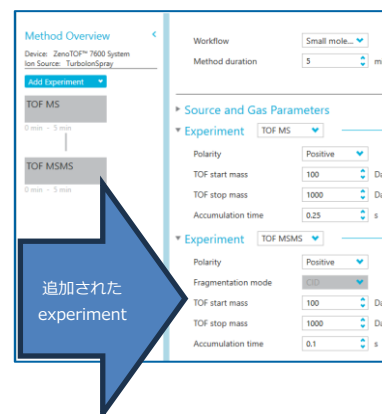


#### ■ Add Experiment (MS method 内)

左上「Method Overview」 **Add Experiment** より、既存の分析メソッドに Experiment を追加できます。

① あらかじめ作成した MS メソッドを開き、**Add Experiment** より追加したい分析方法の種類を選択します。

- TOF MS, TOF MSMS, Q1, IDA, SWATH, MRM HR から選択します。
- 選択可能な項目は、メソッドの種類によって異なります。
- 追加した Experiment を削除したい場合は、プルダウンより「Delete Experiment...」を選択します。



■ **各メソッドにおけるオプション設定 (Options)**

➤ **Apply scan schedule :**

選択すると「Ionization start time」と「Ionization stop time」が追加され（下図）、設定した時間の間だけイオン源に電圧が印可されます。

Ionization start time	0	min	Ionization stop time	5	min
-----------------------	---	-----	----------------------	---	-----

➤ **Apply experiment schedule :**

複数の Experiment が設定されたメソッドでのみ選択できます。選択すると、各 Experiment に「Start/Stop run time」が追加されます。

Start run time	0	min	Stop run time	5	min
----------------	---	-----	---------------	---	-----

➤ **Show EAD parameters (ZenoTOF 7600 のみ) :** EAD 用のパラメータを表示します。

- IDA、TOF MSMS メソッドでは以下の機能が追加されます。

<b>TOF MSMS</b>	Electron KE	10	eV	ETC	100
Fragmentation mode	EAD	Electron beam current	3500	nA	Dynamic ETC for MS/MS

: CID/EAD の切り替え、KE, current 設定、ETC, Dynamic ETC (IDA のみ) の設定

- MRMHR では以下の項目が追加されます。

Electron beam current	3500	nA
-----------------------	------	----

上 : current 設定

Fragmentation mode	Electron KE (eV)	ETC (%)
EAD	10.000	100.0
CID	10.000	100.0

右 : CID/EAD の切り替え、KE、ETC の設定 (Mass Table 内)

➤ **Ramp... :**

インフュージョン分析を用いたパラメータの最適化に使用できます。TOF MS Experiment では Declustering potential が、TOF MSMS Experiment では Collision energy の電圧を変化させながら連続してデータ取得できるようになります。

- Start / Stop at で電圧の上下限を設定し、Step size で変更する幅を設定します。Applies ramping to the compound parameter.を選択すると適用されます（下図）。

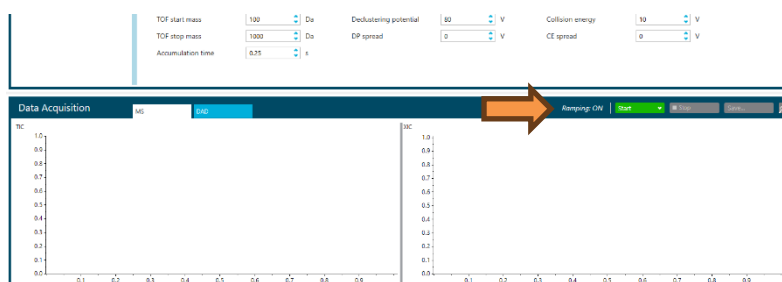
Ramp Compound Parameters dialog showing: Parameter: Declustering potential, Start at: 100 V, Stop at: 300 V, Step size: 5 V. The checkbox 'Apply ramping to the compound parameter.' is checked.

Declustering Potential (TOF MS)

Ramp Compound Parameters dialog showing: Parameter: Collision energy, Start at: 0 V, Stop at: 150 V, Step size: 1 V. The checkbox 'Apply ramping to the compound parameter.' is checked.

Collision energy (TOF MSMS)

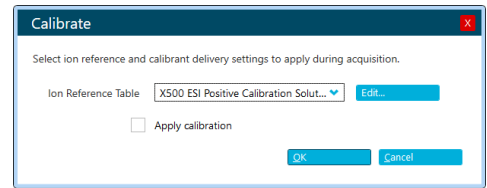
- Ramp 機能を使用している際は、Data Acquisition パネルの帯に「Ramping: ON」のメッセージが現れます（図矢印）。サンプルの強度変化などを確認しながらパラメータを変更できます。



➤ **Calibrate... :**

Data Acquisition 画面で CDS を使用した質量校正を行う際に使用できます。

- 適切な Ion Reference Table を選択し Apply calibration を選択します。Data Acquisition パネルの帯に「Calibration: ON」のメッセージが現れます。



- CDS からの標準溶液を使った自動質量校正が行われます (約 1.25 分)。校正結果を確認するには、Queue を開き、✔ をダブルクリックします。

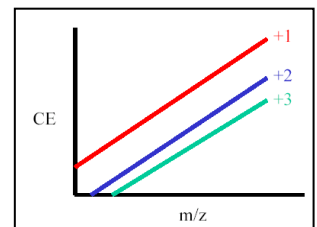
\* Data Acquisition パネルで作業する場合は、Start (緑) Stop (赤) Save... (青) ボタンを使用します。🔍 ボタンをクリックすると、Data Acquisition で表示されているデータを「Explorer」でリアルタイム表示できます。

➤ **Dynamic collision energy :**

低分子化合物の分析とは異なり、タンパク消化物や核酸では、分子量や価数の異なる成分が混在しています。IDA 分析を行う際に、それぞれの成分に適した Collision energy を自動的に割り当てることで同定に適した MS/MS スペクトルが得られます。

この為の情報を提供する Dynamic collision energy はサンプル種によって若干異なります。下記例はペプチド (水色) と核酸 (緑) の例です。必要に応じて変更して下さい。

charge	Slope	Intercept	charge	Slope	Intercept
Unknown	0.049	-1	Unknown	0.043	-2
1	0.05	5	1	0.043	-2
2	0.049	-1	2	0.043	-2
3	0.048	-2	3	0.043	-2
4	0.05	-2	4	0.043	-2
5	0.05	-2	5	0.043	-2

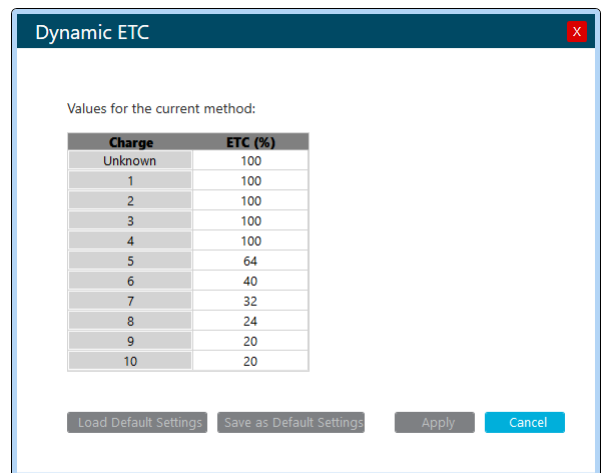


Dynamic collision Energy のイメージ

➤ **Dynamic ETC :**

EAD を用いた IDA 分析において、分子量や価数の異なる成分が混在したサンプルに対して、プリカーサーイオンの価数に応じた電子量を自動調整する機能。

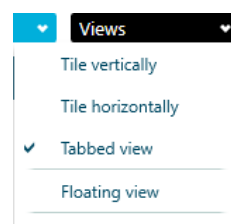
\* サンプルによって最適値が異なる可能性があります。



■ **Views – MS method の表示方法の変更**

MS method 画面では複数のメソッドを同時に開くことができます。複数メソッドの比較等を行うために、表示方法の切り替えができます。MS method 画面右上の Views により選択してください。

- Tile vertically : 縦並びでタイル表示します。
- Tile horizontally : 横並びでタイル表示します。
- Tabbed View : タブ表示 (デフォルト表示)
- Floating view : フローとウィンドウで表示します。



## 3.2 Batch の機能

### 3.2.1 Quick Batch を使用した Batch の入力

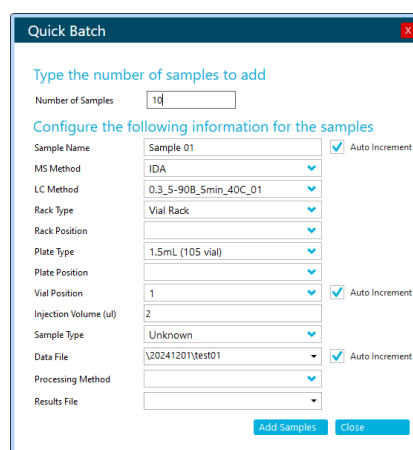
一連のサンプル分析をまとめて入力するには、Quick Batch の機能を使用すると便利です。全サンプルで共通する接頭辞 (Prefix) を設定し、後ろに変数を追加するように取得データを別名で保存するように設定します。


① Batch を開き、右上の  を選択して「Quick Batch」パネルを開きます。

② 「Type the number of samples to add」に分析するサンプル数や分析回数を入力します。

③ 「Configure the following information for the samples」以下に入力します。

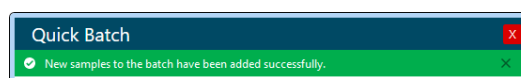
- 「Sample Name」, 「Vial Position」, 「Data File」では接頭辞と数字 (01 や 001 など) を入力し、右の「Auto Increment」をチェックしておく、数字のみ変更された分析情報が追加されます。
- 設定不要な項目は空欄のままにしておきます。
- 「MS method」, 「LC method」, 「Rack Type」, 「Rack Position」, 「Plate Type」, 「Plate Position」, 「Sample Type」, 「Processing Method」はプルダウンメニューから選択します。



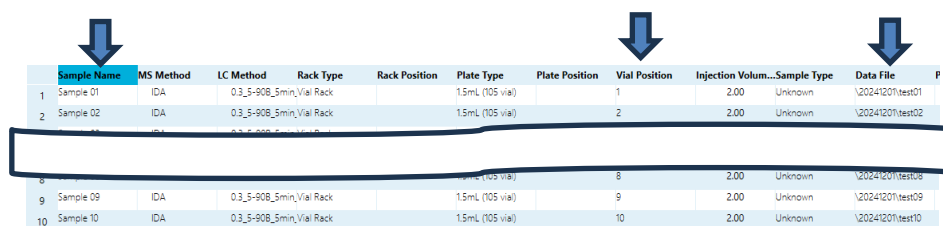
④ 入力終了後  を選択すると、Batch が追加されます。

- ウィンドウには右のメッセージが表示されます。


⑤ 追加された Batch は、必要に応じて情報を追加・編集して下さい。



- Auto Increment を使用した項目では、自動的に数字が変更されます。その他の項目は入力項目がそのまま追加されます (下図矢印)。





	Sample Name	MS Method	LC Method	Rack Type	Rack Position	Plate Type	Plate Position	Vial Position	Injection Volum...	Sample Type	Data File	P
1	Sample 01	IDA	0.3_5-90B_5min_Vial Rack			1.5mL (105 vial)		1	2.00	Unknown	\\20241201\test01	
2	Sample 02	IDA	0.3_5-90B_5min_Vial Rack			1.5mL (105 vial)		2	2.00	Unknown	\\20241201\test02	
3	Sample 03	IDA	0.3_5-90B_5min_Vial Rack			1.5mL (105 vial)		3	2.00	Unknown	\\20241201\test03	
4	Sample 04	IDA	0.3_5-90B_5min_Vial Rack			1.5mL (105 vial)		4	2.00	Unknown	\\20241201\test04	
5	Sample 05	IDA	0.3_5-90B_5min_Vial Rack			1.5mL (105 vial)		5	2.00	Unknown	\\20241201\test05	
6	Sample 06	IDA	0.3_5-90B_5min_Vial Rack			1.5mL (105 vial)		6	2.00	Unknown	\\20241201\test06	
7	Sample 07	IDA	0.3_5-90B_5min_Vial Rack			1.5mL (105 vial)		7	2.00	Unknown	\\20241201\test07	
8	Sample 08	IDA	0.3_5-90B_5min_Vial Rack			1.5mL (105 vial)		8	2.00	Unknown	\\20241201\test08	
9	Sample 09	IDA	0.3_5-90B_5min_Vial Rack			1.5mL (105 vial)		9	2.00	Unknown	\\20241201\test09	
10	Sample 10	IDA	0.3_5-90B_5min_Vial Rack			1.5mL (105 vial)		10	2.00	Unknown	\\20241201\test10	

⑥ 作成した Batch を保存する場合は、右上の  より保存して下さい。

### 3.2.2 Processing Method を追加した Batch の作成 (オプション)

前項までを参考に、Batch を作成して下さい。

① Batch 後半の項目にある Processing Method に Analytics の Processing Method を設定して下さい。

- Processing Method は同一名のプロジェクトにある「Processing Method」フォルダ内に作成、保存して下さい。
- 分析終了直後データ解析が開始され、解析が終了した場合は 、うまく解析できなかった場合は  が Queue 上に表示されます。(解析結果の評価とは関係ありません)

Data File	Processing Method
\\20241201\wash01	
\\20241201\Sample_10x_01	Test_LowRes_01
\\20241201\Sample_100x_01	Test_LowRes_01

### 3.2.3 Batch Automation - Report Generation を追加した Batch の作成 (オプション)

前項で設定した Processing Method で自動解析された分析結果に対してレポート出力まで自動で行うことができます。

- ① 「Processing Method」を設定した「Batch」を作成します (前項まで参照)。
- ② Result Files には解析後のファイル名 (同一名、別名両方可) を入力します。

※ 図のようにサンプルごとに Data file は別名保存しますと、レポートはデータごとに作成されます。

Sample Name	MS Method	LC Method	Rack Type	Plate Type	Vial Position	Injection Volum...	Sample Type	Report File Name	Result File Name	
BK1	TL_10IDA_2min	01_FIA_2min	Vial Rack	1.5mL (105 vial)	1	5.00	Unknown	20240621_BK1	001_Fos_all_1054.list	20240621_20IDA_Sample1_3
Sample1	TL_10IDA_2min	01_FIA_2min	Vial Rack	1.5mL (105 vial)	2	5.00	Unknown	20240621_Sample1	001_Fos_all_1054.list	20240621_20IDA_Sample1_3
BK2	TL_10IDA_2min	01_FIA_2min	Vial Rack	1.5mL (105 vial)	3	5.00	Unknown	20240621_BK2	001_Fos_all_1054.list	20240621_20IDA_Sample1_3
Sample2	TL_10IDA_2min	01_FIA_2min	Vial Rack	1.5mL (105 vial)	4	5.00	Unknown	20240621_Sample2	001_Fos_all_1054.list	20240621_20IDA_Sample1_3
BK3	TL_10IDA_2min	01_FIA_2min	Vial Rack	1.5mL (105 vial)	5	5.00	Unknown	20240621_BK3	001_Fos_all_1054.list	20240621_20IDA_Sample1_3
Sample3	TL_10IDA_2min	01_FIA_2min	Vial Rack	1.5mL (105 vial)	6	5.00	Unknown	20240621_Sample3	001_Fos_all_1054.list	20240621_20IDA_Sample1_3

- ③ **Batch Automation** を選択して、「Report Generation」にチェックを入れて、「Report Generation」を開きます。
  - 下図を参考に設定します。
- ④ Template name には使用するレポートテンプレート (例: All Peaks Qual) を選択します。
  - 【参考】テンプレートの保存先 C:\ProgramData\SCIEX\Analytics\Reporter
  - Report format では出力するレポートの形式 (Word または PDF) を選択します。

Batch Automation

Enable  Decision Rules  Report Generation

**Decision Rules** | **Report Generation**

Queue Display  Responses

Generate a report using a predefined template and specified logo

④ Template name: Positive Hits Qual\_Hkd\_TMO [Browse]

⑤ Report format:  Word  PDF  Text  HTML  
 Secure PDF  Remove Tabs

⑦ Report title:  Default  Custom [Customize Report]

⑥  Create an individual report for each sample  
*(Recommended for large reports; Report titles will be appended with sample reference)*

Save Results Table  Export results

[Save] [Close]

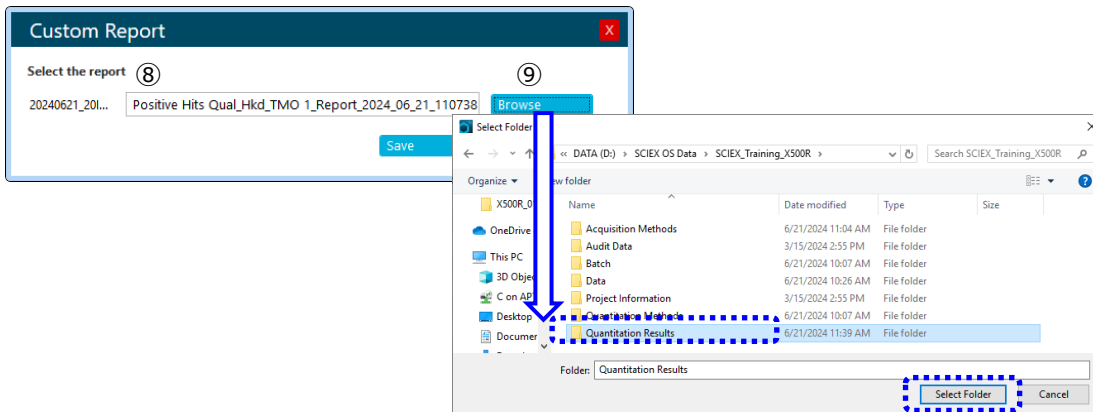
- ⑤ Create an individual report for each sample にチェックを入れます。サンプル毎にレポートを作成します。
- ⑥ Report title では Custom を選択し、**Customize Report** をクリックします。
  - Custom : レポートのタイトル及び保存先を任意に設定することが可能です。

- Default : レポートの出力場所は以下になり、自動でタイトルがつきます。  
C:¥ProgramData¥SCIEX¥Analytics¥Reporter¥Reports

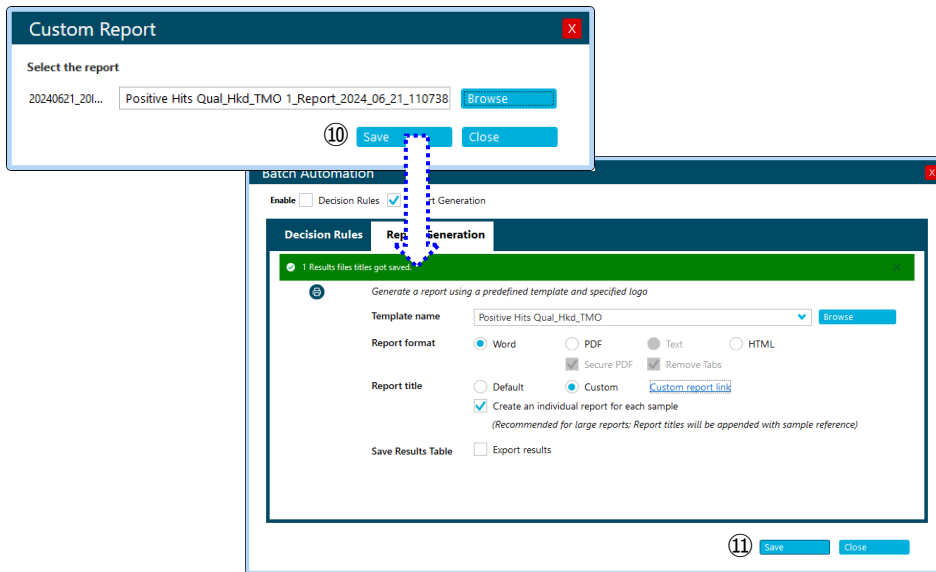
⑦ Custom report 画面ではフォルダ名が自動設定されますので、必要に応じて名称を変更します。Training では変更せずそのまま使います。

⑧ Browse ボタンをクリックして保存先を設定します。Training では現在の Project 下の Quantitation Results フォルダを選択して Select Folder をクリックします。

- 例 D:¥SCIEX OS Data¥Training\_X500ZT76¥Quantitation Results



⑨ Custom report の画面で Save をクリックしますと、Batch Automation 画面では保存できたことを示すメッセージが緑色のポップアップで一瞬表示されます。



⑩ Batch Automation 画面で Save をクリックします。

⑪ Batch 画面に戻り、通常の測定と同様に Auto-Calibration にチェックを入れて設定を確認し Submit します。



Acquisition Status	Sample Name	Est. Start Time	Vial Position	MS Method	LC Method	Data File	Project	Processing Method	Results File	Auto Processing Status	Batch Automation Status
Equilibration - 1 samples	Cal	6/21/2024 11:12:42 AM		11_10IDA_2min		Cal	SCIE_X_Training_X500R				
20240621 - 7 samples	BK1	6/21/2024 11:13:58 AM	1	11_10IDA_2min	01_FIA_2min	20240621\BK1	SCIE_X_Training_X500R	001_Pos_all_1054List	20240621_20IDA_Sample1_3		
	Sample1	6/21/2024 11:17:01 AM	2	11_10IDA_2min	01_FIA_2min	20240621\Sample1	SCIE_X_Training_X500R	001_Pos_all_1054List	20240621_20IDA_Sample1_3		
	BK2	6/21/2024 11:20:04 AM	1	11_10IDA_2min	01_FIA_2min	20240621\BK2	SCIE_X_Training_X500R	001_Pos_all_1054List	20240621_20IDA_Sample1_3		
	Sample2	6/21/2024 11:23:07 AM	2	11_10IDA_2min	01_FIA_2min	20240621\Sample2	SCIE_X_Training_X500R	001_Pos_all_1054List	20240621_20IDA_Sample1_3		
	BK3	6/21/2024 11:26:10 AM	1	11_10IDA_2min	01_FIA_2min	20240621\BK3	SCIE_X_Training_X500R	001_Pos_all_1054List	20240621_20IDA_Sample1_3		
	Sample3	6/21/2024 11:29:13 AM	2	11_10IDA_2min	01_FIA_2min	20240621\Sample3	SCIE_X_Training_X500R	001_Pos_all_1054List	20240621_20IDA_Sample1_3		

⑫ 測定を開始すると、Queue 画面にて アイコンが表示されます。このアイコンは Batch Automation が有効になっている事を示しています。

⑬ 測定終了～解析～レポート出力まで完了すると、Auto Processing Status および Batch Automation Status の両方に緑色のチェックマークが表示されます。

⑭ レポート結果を確認するには、先述の⑧⑨で設定したフォルダ下に レポート名.docx フォルダ

Acquisition Status	Sample Name	Est. Start Time	Vial Position	MS Method	LC Method	Data File	Project	Processing Method	Results File	Auto Processing Status	Batch Automation Status
Equilibration - 1 samples	Cal	6/21/2024 11:12:42 AM		11_10IDA_2min		Cal-2024-06-21-11-12-42	SCIE_X_Training_X500R				
	BK1	6/21/2024 11:13:59 AM	1	11_10IDA_2min	01_FIA_2min	20240621\BK1	SCIE_X_Training_X500R	001_Pos_all_1054List	20240621_20IDA_Sample1_3	✓	✓
	Sample1	6/21/2024 11:16:34 AM	2	11_10IDA_2min	01_FIA_2min	20240621\Sample1	SCIE_X_Training_X500R	001_Pos_all_1054List	20240621_20IDA_Sample1_3	✓	✓
	BK2	6/21/2024 11:19:08 AM	1	11_10IDA_2min	01_FIA_2min	20240621\BK2	SCIE_X_Training_X500R	001_Pos_all_1054List	20240621_20IDA_Sample1_3	✓	✓
	Sample2	6/21/2024 11:21:44 AM	2	11_10IDA_2min	01_FIA_2min	20240621\Sample2	SCIE_X_Training_X500R	001_Pos_all_1054List	20240621_20IDA_Sample1_3	✓	✓
	BK3	6/21/2024 11:24:19 AM	1	11_10IDA_2min	01_FIA_2min	20240621\BK3	SCIE_X_Training_X500R	001_Pos_all_1054List	20240621_20IDA_Sample1_3	✓	✓
	Sample3	6/21/2024 11:26:54 AM	2	11_10IDA_2min	01_FIA_2min	20240621\Sample3	SCIE_X_Training_X500R	001_Pos_all_1054List	20240621_20IDA_Sample1_3	✓	✓

が保存されているので各レポートファイルを確認します。

\* D:\%SCIE\_X OS Data%お使いのプロジェクト (例 : Training\_X500ZT76) %Quantitation Results に保存されています。

⑮ 結果ファイルの確認および再解析は【5 Analytics によるデータ解析】をご参照ください。

← 自動保存されたレポートファイル

← 自動保存された結果ファイル

Name	Date modified
Positive Hits Qual_Hkd_TMO 1_Report_2024_06_21_110738_20240621_20IDA_Sample1_3 (1_BK1).docx	2024/06/21 11:30
Positive Hits Qual_Hkd_TMO 1_Report_2024_06_21_110738_20240621_20IDA_Sample1_3 (2_Sample1).docx	2024/06/21 11:31
Positive Hits Qual_Hkd_TMO 1_Report_2024_06_21_110738_20240621_20IDA_Sample1_3 (3_BK2).docx	2024/06/21 11:32
Positive Hits Qual_Hkd_TMO 1_Report_2024_06_21_110738_20240621_20IDA_Sample1_3 (4_Sample2).docx	2024/06/21 11:33
Positive Hits Qual_Hkd_TMO 1_Report_2024_06_21_110738_20240621_20IDA_Sample1_3 (5_BK3).docx	2024/06/21 11:34
Positive Hits Qual_Hkd_TMO 1_Report_2024_06_21_110738_20240621_20IDA_Sample1_3 (6_Sample3).docx	2024/06/21 11:35

### 3.2.4 Batch Automation - Decision rule を追加した Batch の作成 (オプション)

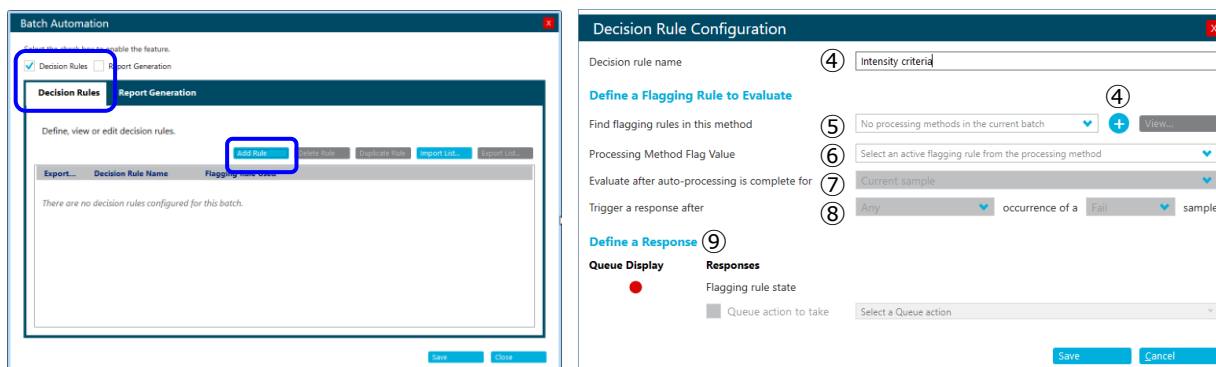
前項で設定した Processing Method で自動解析された分析結果に応じて、連続分析の継続または停止を設定したい場合は、Batch に追加した Processing Method (SCIEX OS Analytics のメソッド) に設定した閾値に対応したルール (Decision rules) の項目を設定します。

以下の例は、Processing Method を直接読み込むことで、ルールを読み込む方法です。

- ① 「Processing Method」を設定した「Batch」を作成します (前項までを参照)。
- ② **Batch Automation** を選択して、「Decision rules」にチェックを入れて、「Decision rules」を開きます (下左図)。
- ③ 「Add rules」を選択して、「Decision rule Configuration」を開きます (下右図)。
- ④ 「Decision rule name」を任意で入力し、**+** より「Add a Processing method」より同じ解析メソッドを追加して下さい。
  - Processing Method に Define rules をあらかじめ設定しておく必要があります。

#### ▪ Define a Flagging Rule to Evaluate

- ⑤ 「Decision rules」に戻るとルールが追加されます。「Find flagging rules in this method」に読み込まれたルールがプルダウンから選択できます。
- ⑥ 選択したルールで指定された閾値を「Processing Method Flag Value」より選択します。
- ⑦ 「Evaluate after auto-processing is complete for」より、評価方法を選択します。
  - 「Current sample」は各サンプルの分析終了後の結果で評価します。
  - 「All standards」は sample type が「Standard」に設定されたサンプルの分析がすべて終了してから評価します。



- ⑧ 「Trigger a response after」では、Occurrence (回数) と評価結果 (pass, fail, Marginal) を設定してルール発動条件を設定します。

#### ▪ Define a Response

- ⑨ 上記の Evaluate を満たした場合、次の中から対応を設定します。
  - 1) **Stop Queue** : Queue の完全停止
  - 2) **Abort the current batch and continue to the next batch** : 分析中の Batch は停止し、次の Batch に進む
  - 3) **inject a defferent sample before the next waiting sample** : 同一サンプルの連続分析

をやめ、次のサンプルに移る

4) **Reinject the flagged sample at the end of batch** : 分析中の Batch が最後まで終わったら、フラッグのついたサンプルをもう一度分析する。

⑩ 全て設定が終わったら **Save** して Decision Rules 画面に戻り、表示内容を確認した後 **Save** して Batch に戻ります。

⑪ 上記で設定した「Decision rule」適用する場合は、 **Decision Rules...** にチェックし、分析するサンプルを Submit して下さい。

### ■ **Sample type**

分析するサンプルの用途に応じてあらかじめ Sample type を指定しておくことで、Analytics の定量分析実施時にソフトウェア上でデータの種類を区別して読み込むことができます。Batch 内のカラムではプルダウンで選択することができます。項目が表示されていない場合は、**View...** から Sample Type を選択してください。

- Blank (ブランク), DoubleBlank (ダブルブランク), Quality Control (QC サンプル), solvent (溶媒のみ), standard (既知濃度サンプル、検量線作成用), unknown (未知サンプル、初期値) から選択します。

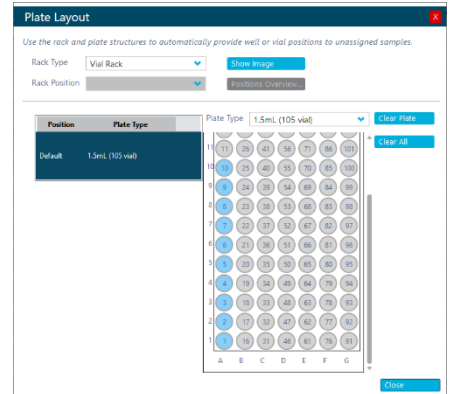
### 3.2.5 その他 Batch の機能

#### **Plate Layout の表示** **Plate Layout...**

使用中の LC システムで使用しているサンプルトレイの表示と、Vial Position に入力された位置の確認ができます。

Batch で選択されたプレートタイプで表示され、選択したポジションは水色で表示され、分析サンプルの位置を示してくれます。

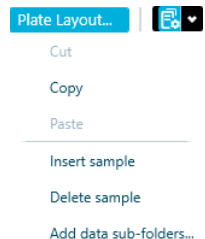
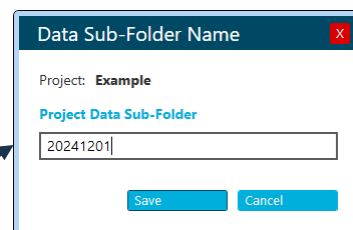
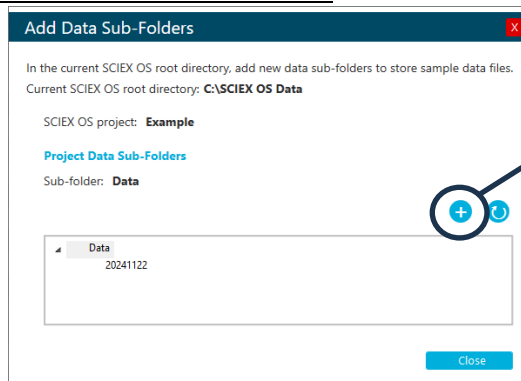
複数プレートのオートサンプラーやプレートチェンジャーを組み合わせた HPLC の場合、左下に表示される各プレートを選択すると各プレートの表示も確認できます。



#### **入力の調整 (Manage Samples)**

マウス入力で表の切り取り、コピー、ペースト、行の挿入、削除を選択できます。

- **Add data sub-folder** : 選択しているプロジェクトフォルダにある Data フォルダの下にフォルダを作成します。**+** を選択し、Data Sub Folder Name に入力した名称でサブフォルダを作成します。



#### **Batch の印刷**

Batch を印刷します。PDF や紙での印刷に使用して下さい。

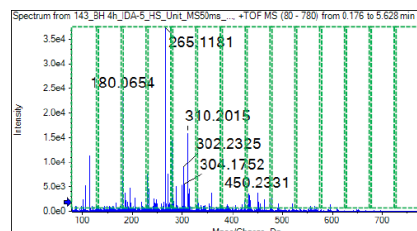
## 4 SWATH メソッドの作成と解析

### 4.1 MS Method の作成

#### 4.1.1 Fixed window SWATH (fwSWATH)メソッドの作成

SWATH (Sequential Window acquisition of All Theoretical mass spectra) は幅広い質量範囲にわたるすべてのプリカーサーイオンの MS/MS 分析を可能にします。

IDA と比べて幅広い、通常 10 ~ 50 Da に設定した Q1 ウィンドウ ( ) に設定し、一定の  $m/z$  幅を連続的に選択して MS/MS を取得します。その結果、SWATH データには Q1 ウィンドウを通過した全てのプリカーサーイオンのフラグメントを含みます。すなわち、サンプル中のすべての成分に対して、ノンターゲット MS/MS 分析を実施できます。

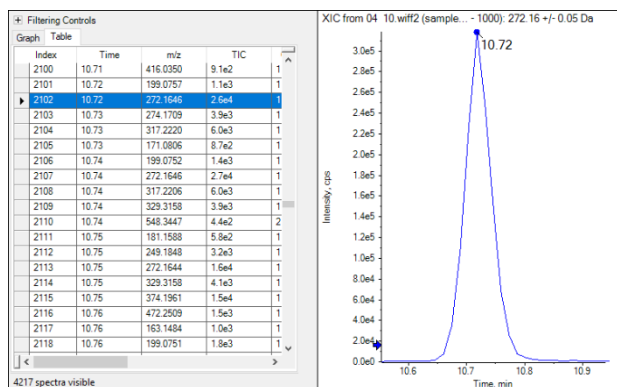


等間隔に設定された Fixed Window のイメージ

ここでは、Q1 ウィンドウを固定幅で設定する「Fixed Window」の SWATH メソッドの作り方について記載します。

#### ■ SWATH メソッドの作成前の確認

測定条件に応じてクロマトグラムの条件が変わる可能性があります。同様のサンプルあるいは実際のサンプルの分析データから、分離状況を確認します (右図：約 0.15 分)。



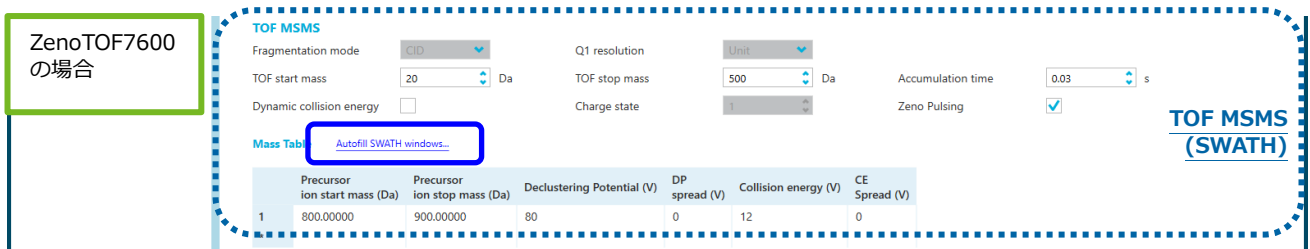
#### ■ Fixed window SWATH メソッドの作成

「MS method」に戻り、メソッド作成を行います。

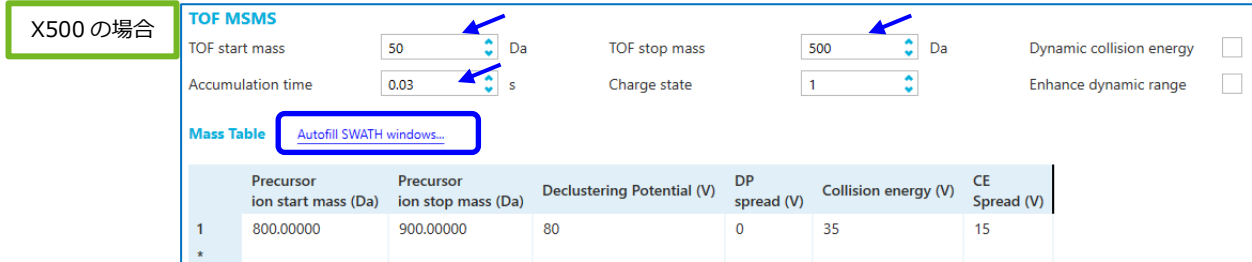
- ① MS method 画面の New より「SWATH」を選択してください。
- ② 前項を参照の上、「Source and Gas Parameters」と「TOF MS」を設定してください。

- ③ 「TOF MS/MS」では、MS/MS の測定範囲や MS/MS 1 回あたりの積算時間を設定します。

- ④ Mass Table 右にある [Autofill SWATH windows...](#) を選択すると Autofill SWATH Windows が表示されます。

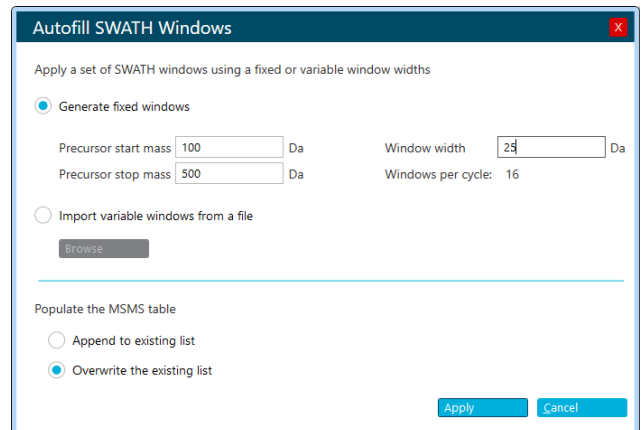


\* Zeno SWATH (SWATH メソッドで Zeno Pulsing を使用) には別途ライセンスが必要です。



- ⑤ Autofill SWATH Windows パネルを使用して、Q1 ウィンドウの分割設定を行います。

- TOF MS 設定と同じ範囲で Precursor start/stop mass を設定し、Window width は 25Da に設定します。
- Populate the MSMS table (MSMS テーブルへの追加方法のオプション)
  - Append to existing list : 既存リストに追加する。
  - Overwrite the existing list : 既存リストを削除して上書きする。



- ⑥ 「Overwrite the existing list」のオプションを選択の上 Apply すると、Mass Table が設定されます (下図)。(ZenoTOF7600, X500 共通)

- Q1 window 間は 1Da の重複領域を含みます。

Mass Table    Autofill SWATH windows...

	Precursor ion start mass (Da)	Precursor ion stop mass (Da)	Declustering Potential (V)	DP spread (V)	Collision energy (V)	CE Spread (V)
1	100.00000	125.00000	80	0	35	15
2	124.00000	150.00000	80	0	35	15
3	149.00000	175.00000	80	0	35	15
4	174.00000	200.00000	80	0	35	15
5	199.00000	225.00000	80	0	35	15
6	224.00000	250.00000	80	0	35	15
7	249.00000	275.00000	80	0	35	15
8	274.00000	300.00000	80	0	35	15
9	299.00000	325.00000	80	0	35	15
10	324.00000	350.00000	80	0	35	15
11	349.00000	375.00000	80	0	35	15
12	374.00000	400.00000	80	0	35	15
13	399.00000	425.00000	80	0	35	15
14	424.00000	450.00000	80	0	35	15
15	449.00000	475.00000	80	0	35	15
16	474.00000	500.00000	80	0	35	15
*						

⑦ 必要に応じて、DP、CE、CE Spread を変更して下さい。

- MS/MS フラグメント同定にライブラリーを使用します。ライブラリデータ取得時の設定と合わせるようにします。
- Metabolite Library は CE = ±35V, CES = 20V にて取得されています。その他のライブラリーは CE = ±35V, CES = 15V となりますが、分析対象により異なる可能性が御座います。

⑧ Total Scan time がメソッド上部に表示されます。これはメソッド中の TOF MS と TOF MSMS それぞれの Accumulation time と各スキャン間でのクーリングタイムを含みます。

ZenoTOF7600 の場合

Workflow: Small mole...  
 Method duration: 15 min    Total scan time: 0.693 s    Estimated cycles: 1298

X500 の場合

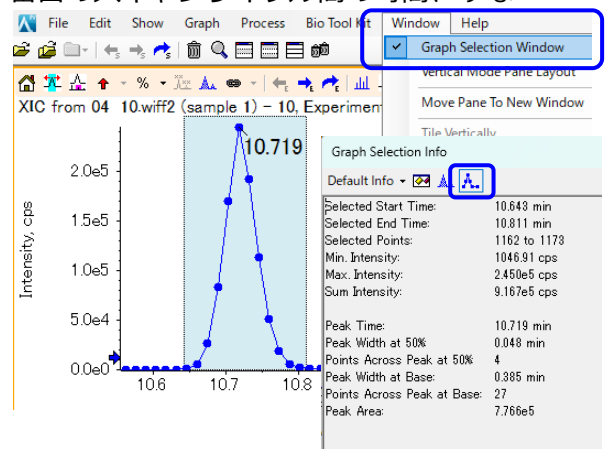
Method duration: 15 min    Total scan time: 0.687 s    Estimated cycles: 1310

- Total scan time (= Cycle time) は N 番目と N+1 番目のスキャンサイクル間の時間、すなわち右図の●になります。

※ 表示法 : XIC などを開き、Window メニューから Graph Selection Window を選択。🔍アイコンをクリック

- 右図で定量性の良いクロマトピークを再現するには、スキャンサイクル (=データポイント) がピーク全体に対して >10 であることが望ましいです。

※ (右の例の場合) 9 秒 (ピーク全幅 0.15 分) ÷ 0.7 秒 (Total scan time) = 12.9 (データポイント数) となり、十分なデータポイント数が得られていると言えます。



⑨ 上述のような点を考慮し、必要に応じて各 Accumulation time や SWATH の Window width など調整して下さい。

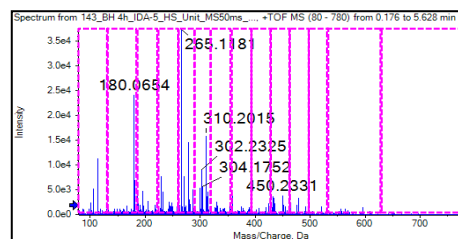
⑩ 右上の 📄 アイコンよりメソッドに名前をつけて保存します (例 : fwSWATH)。

## 4.1.2 Variable window SWATH (vwSWATH)メソッドの作成

ここでは、Q1 ウィンドウ幅をサンプルの溶出状況に応じて設定する「Variable Window」の SWATH メソッドの作り方について記載します。

Variable window は、サンプル中の溶出成分の  $m/z$  値の「偏り」を考慮してウィンドウの分割幅を変更するように設定します。溶出数の多い  $m/z$  値付近はピーク重複が懸念されますので、選択性を確保するためにウィンドウ幅を狭め、溶出数が少ない  $m/z$  値付近は幅を広げた設定にします。

この幅を判断するためには実際のサンプルで事前に分析を行い、TOF MS  $m/z$  値の偏りを判断する必要があります。また、そこからウィンドウを分割するために必要となる「SWATH variable window calculator」を入手する必要があります。



溶出ピークの“密度”により  
Q1 ウィンドウ幅を変更した  
Variable Window のイメージ

SCIEX ホームページ (日本語) より、「サービス」 > 「ソフトウェアのサポート」 > 「ソフトウェアのダウンロード」 ページを選択後、「Additional downloads(英語サイト)」の「SWATH acquisition software downloads」内より、「SWATH® Variable Window Calculator 1.2」をダウンロードして下さい。

\* Training では以下に保存したファイルを使用します。

D:\¥SCIEX OS Data¥Training\_X500ZT76 中の SWATH Variable Window Calculator\_V1.2.xlsx

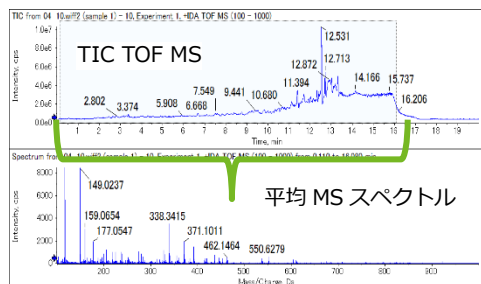
## Variable window の作成

同一条件で分析したサンプル（または類似サンプル）のデータを開き、サンプル中の一つの成分のピーク幅を使用して確認しておきます。ここでは前項と同じデータを用いて、「Explorer」にて作業します。

① 前項の TOF MS データから、グラジエント溶出時間すべての MS スペクトル得ます。

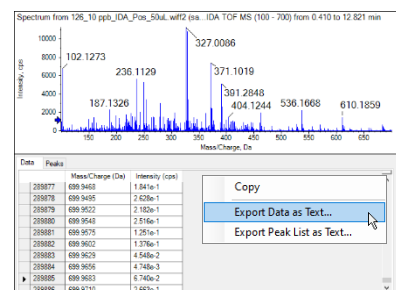
\* Training では IDA のデータ (04\_10.wiff2) を選びます。

- IDA などの MS/MS を含むデータの場合は、TOF MS の Total Ion Chromatogram を抽出してから作業します。
- Explorer で Show>Total Ion Chromatogram (TIC)を選択し、「TOF MS」の Experiment を選択して TIC をクロマトグラムに表示します。
- TIC 上のピークが検出されている時間を選択します。(右上, 0.1 – 16min くらい)
- 青枠の内側をダブルクリックすると、下に TOF MS の平均スペクトルが表示されます。



② ①で得た MS スペクトルのピーク情報をコピーします。

- MS スペクトルを選択して Show>Data and Peaks table を選択します。
- Data タブを開き、右クリックより「Export Data as Text...」を選択してテキストファイルに変換します。
- 上のテキストファイルを excel で開き、Mass/charge, Intensity をすべてコピーします。



③ 「SWATH variable window calculator\_1.2.xlsx」を開き、上で得た値をペーストします

- データは「INPUT-PeakView ave spectrum」にペーストします。

④ 「Instructions and Controls」タブに戻り、右側の灰色のセルに設定値を入力します (下図)。

Mass/Charge	Intensity
1.00000583	0.025802426
1.000010773	0.005916753
1.000020663	0.147716469
1.000031152	0.121028273
1.000041342	0.059263638
1.000051332	0.041399463
1.000061722	0.007497577
1.000071912	0.050072989
1.000082282	0.000209675
1.000102482	0.037253002
1.000112672	0.062779043
1.000122862	0.118418459
1.000133053	0.053469079
1.000143243	0.002484363
1.000153433	0.002281114

### SWATH DIA Variable Window Assay Calculator

Version 1.2 April 12, 2022

**Instructions:**

The Variable Window Calculator tool enables you to build an optimized variable window SWATH DIA method specifically for your proteome of interest. The sheet scales the window size across the m/z range depending on the number of precursors found in that m/z range. That is, Q1 window widths are varied over the m/z range so that each window contains a constant density from an intensity weighted histogram of the survey scan data vs. m/z.

**In PeakView software:**

(1) To use the tool, first open an IDA method in PeakView software that was collected on your target proteome with a gradient length similar to what you will be using in your SWATH DIA study. Ensure that this file has a TOF MS scan that encompasses the mass range that will be built in the SWATH DIA variable window experiment.

(2) Open the TOF MS TIC and then select the time range in which the target analytes elute. Double click on the selection to extract a single TOF MS spectrum of all precursors within that time range.

(3) Next, select the Data and Peaks Table option under the Show menu. This will open a list of the TOF MS m/z values and their intensities. This is basically an intensity histogram of all precursors in the LC-MS run.

(4) Right click, select 'Export Data as Text' and save this file.

#### SWATH DIA Variable Window Assay Controls

**Target number of windows:**  (actual # may be less depending on min window width setting; Max setting is 200 windows, note instrument specific limits in instructions)

**Lower m/z limit:**

**Upper m/z limit:**  (note the m/z limit ranges for your instrument in the instructions)

**Round bin edges to x figures:**  (figure post decimal recommended)

**Window overlap (Da):**  (Da overlap recommended)

**Minimum window width (Da):**

**CES:**

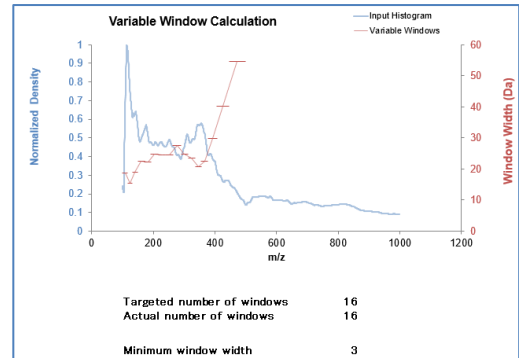
- Target number of windows (SWATH ウィンドウの分割数) : ここでは、16 を設定します。
- Lower/upper m/z limit (分割する m/z 範囲) : TOF MS の範囲を入力します。
- Round bin edges to x figures : INPUT の Mass/charge 値を四捨五入する桁数。
- Window overlap (Da) : ウィンドウを重複させる幅の設定。
- Minimum window width (Da) : ウィンドウ幅の最小値
- CES : CE spread の設定 (SCIEX OS では必要ありません)

⑤ 入力値で Excel のマクロを再計算させます。キーボードの F9 を押してください。

- Excel の表右下にメッセージ **計算中 (8 スレッド):9%** が表示されます。
- 計算にはある程度時間がかかります。この間ほかの作業は極力避けて下さい。

⑥ 計算が終了すると、各タブに更新された計算結果が表示されます (右図)。

- Visualization of Var Win Assay : INPUT の数値をもとに MS 強度のプロット (青線) と分布から計算された Variable window の幅 (赤線) が表示されます。



⑦ Output for SCIEX OS のタブを開き、サンプルに合わせて作成された variable window のリストをコピーします。(右表)

- 必要に応じて、別の Excel ファイル等にコピーしておくとも便利です。

	A	B
1	99.5	118.1
2	117.1	132.5
3	131.5	150.5
4	149.5	172
5	171	193.2
6	192.2	217
7	216	240.4
8	239.4	263.8
9	262.8	290.4
10	289.4	314.2
11	313.2	336.7
12	335.7	356.5
13	355.5	378.1
14	377.1	406.9
15	405.9	446.1
16	445.1	499.6

### Variable window SWATH メソッドの作成

MS method に戻り、vwSWATH メソッドの作成を行います。

⑧ 「MS method」画面の New より「SWATH」を選択してください。

- 既存の SWATH メソッドから編集することもできます。

⑨ 前項を参照の上、Source and Gas Parameters と TOF MS を設定してください。

⑩ TOF MSMS 設定の Mass Table に、前項でコピーした variable window リストをペーストして下さい。

Precursor ion start mass (Da)	Precursor ion stop mass (Da)	Declustering Potential (V)	DP spread (V)	Collision energy (V)	CE Spread (V)	
1	800.00000	900.00000	80	0	35	15

	Precursor ion start mass (Da)	Precursor ion stop mass (Da)	Declustering Potential (V)	DP spread (V)	Collision energy (V)	CE Spread (V)
1	99.50000	118.10000	80	0	35	15
2	117.10000	132.50000	80	0	35	15
3	131.50000	150.50000	80	0	35	15
4	149.50000	172.00000	80	0	35	15
5	171.00000	193.20000	80	0	35	15
6	192.20000	217.00000	80	0	35	15
7	216.00000	240.40000	80	0	35	15
8	239.40000	263.80000	80	0	35	15
9	262.80000	290.40000	80	0	35	15
10	289.40000	314.20000	80	0	35	15
11	313.20000	336.70000	80	0	35	15
12	335.70000	356.50000	80	0	35	15
13	355.50000	378.10000	80	0	35	15
14	377.10000	406.90000	80	0	35	15
15	405.90000	446.10000	80	0	35	15
16	445.10000	499.60000	80	0	35	15

⑪ 必要に応じて、DP、CE、CE Spread および Accumulation time などを調整して下さい。

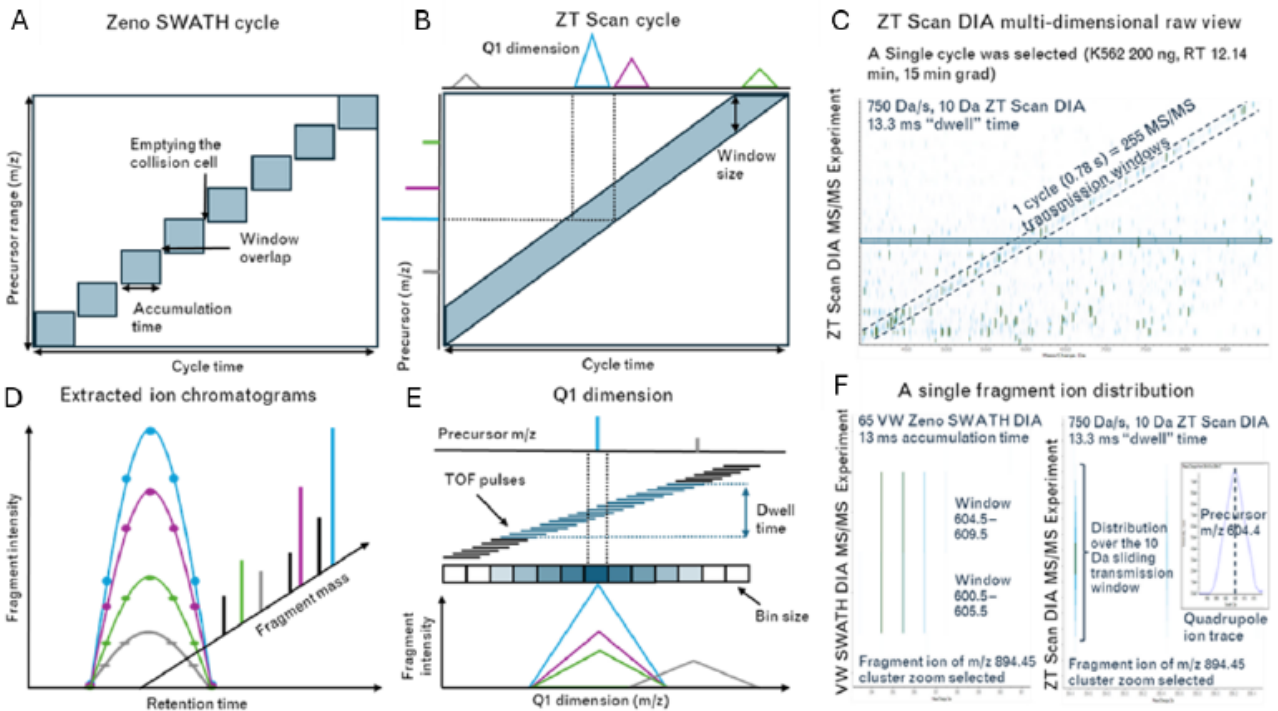
⑫ 右上の アイコンよりメソッドに名前をつけて保存します (例: vwSWATH)。

### 4.1.3 ZT Scan メソッドの作成 (ZenoTOF 7600+のみ)

#### ■ ZT Scan DIA の概要

ZT Scan は SWATH メソッドの一つで、よりシームレスな Q1 スキャンにより分離されたウィンドウ内のペプチドを、さらに高速な MS/MS 分析を実施する **ハイスループットプロテオミクス分析用メソッド** です。Large cohort の一連のサンプル群を高速なグラジエント分離を組み合わせた高スループット分析を行うような場合でもタンパク質同定数が確保され、かつ高い定量性を保つことができます。

\* ZT Scan DIA は ZenoTOF 7600+システムにて利用できます。また、この機能には別途ライセンスが必要です。



上図は ZT Scan DIA と DIA 分析への Q1 次元の追加の概要を示しています。

A) 従来の SWATH (Zeno SWATH DIA) でのデータ取得サイクルが段階的に取得されていることを示しています。一方、B) では ZT Scan DIA における Q1 スキャンサイクルを示します。C) は K562 200ng 15 分グラジエントでの分離データの中の 12.14 分における 1 サイクルの ZT Scan DIA データを示しています。各スキャンの dwell time は 13.3 ms で、1 サイクルあたり 255 MS/MS を 0.78 秒で取得しています (横軸は  $m/z$ )。

下段の D) は図中のフラグメントピークの XIC を各溶出時間でプロットしたイメージです。ZT Scan では十分なデータポイントを保ったクロマトグラムが得られます。E) は TOF パルスで取得された MS/MS データが、プリカーサーの  $m/z$  ごとに分類されることを示しています。各 MS/MS データがキメラスペクトルである DIA では、フラグメントピークをプリカーサーと紐づける必要がありますが、ZT Scan では Q1 dimension を用いてアライメントできます。

F) は C) の一部を拡大して Zeno SWATH DIA (左) と ZT Scan DIA (右) を比較しています。前者は各 SWATH ウィンドウあたり 13 ミリ秒で、65 の variable window に分割した Zeno SWATH DIA の条件でデータ取得しています。後者は上述の設定です。プリカーサー ( $m/z$  604.4) 由来のフラグメントピーク ( $m/z$  894.45) を比較すると、Zeno SWATH のサイクルでは 2 つのウィンドウでのみ検出しているため矩形ピークとなりますが、ZT Scan では 10Da 幅のウィンドウをスライドさせながら同じフラグメントが検出されるため Q1 次元でのデータ分離が可能となり、右のようなベル型でプロファイルの良い XIC が得られています。定量性を担保した高速な DIA 分析に有効な分析メソッドです。

## ■ ZT Scan DIA メソッドの作成

MS method にて ZT Scan メソッドの作成を行います。

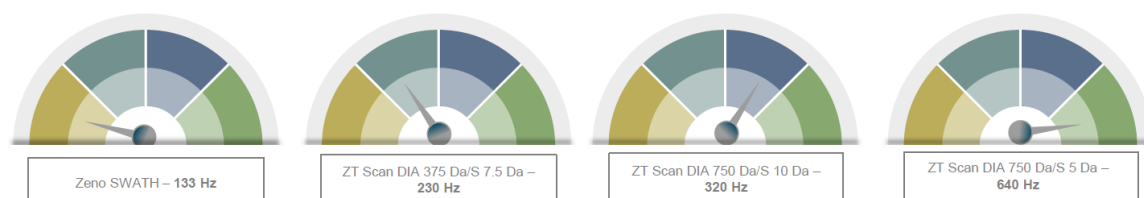
① MS method 画面の New より「ZT Scan」を選択してください。

➤ 下図のように、設定項目が表示されます。

- ZT Scan メソッドでは、MS や MS/MS の設定を変更する必要がありません。
- 必要な設定は LC メソッドと一致する Method duration (分析時間)、Estimated LC PWHH (Peak Width at Half Height、クロマトグラムピークの半値幅を元にした分析メソッドの選択項目)、Source and Gas Parameters (イオン源や分析条件に応じた設定) を設定します。

② 「Estimated LC PWHH」のプルダウンより、ZT Scan の分析条件を選択します。

- ≤ 1、≤ 4.5、≥ 4.5 より選択します。各設定の詳細は左側の「Method Overview」に表示されます。
  - m/z 範囲はすべてのメソッドで固定です。プリカーサー : m/z 400 – 900、フラグメント : m/z 140-1750
  - ≤ 1 : precursor dwell time 6.7 ms, Total Scan time 0.782s (5Da, 750Da/s, 640Hz)
  - ≤ 4.5 : precursor dwell time 13.3 ms, Total Scan time 0.789s (10Da, 750Da/s, 320Hz)
  - ≥ 4.5 : precursor dwell time 20 ms, Total Scan time 1.462s (7.5Da, 375Da/s, 230Hz)



③ 「Source and Gas Parameters」は使用するイオン源によって変更して下さい。

- Turbo V の例 :
  - GS1 / 2 : 60 psi, Curtain Gas : 30 – 35, Temperature : 550°C, Spray Voltage : 5000V
- OptiFlow Micro の例 (microflow probe; 1 – 10 uL/min electrode) :
  - GS1 / 2 : 12/60 psi, Curtain Gas : 30 – 35, Temperature : 150°C, Spray Voltage : 4500V、必要に応じて Column temperature 35-40°C
- OptiFlow nano の例 (nanoflow probe; <1 uL/min electrode) :
  - GS1 / 2 : 10/無 psi, Curtain Gas : 25, Nano cell temperature : 200°C, Spray Voltage : 3000V、必要に応じて Column temperature 35-40°C

\* Column temperature は OptiFlow micro / nano イオン源付属のカラムヒーター使用時のみ設定して下さい。

OptiFlow イオン源の詳細は「OptiFlow TurboV イオン源オペレータガイド」を参照下さい。

## 4.2 SWATH の解析

### 4.2.1 Analytics の解析

※ 基本的な操作方法は別冊の基本操作マニュアルをご参照ください。

➤ TOFMS の XIC と、SWATH による TOFMSMS (プロダクトイオンスペクトル) の XIC による定量ができます。

#### ■ 解析メソッドの作成例

➤ Fragment mass に m/z を入力すると、Experiment Index に TOFMSMS の Experiment が自動で入力されます。

[MQ4] Modify Method

Workflow Select or verify the analyte and internal standard names and masses.

Components Import Export... Options

Row	IS	Group	Name	Chemical Formula	Isotope	Adduct/Ch...	Precursor (Q1) Mass (Da)	Fragment (Q3) Mass (Da)	XIC Width (Da)	Retention Time Mode	Retention Time (min)	IS Name	Experiment Index
1	<input type="checkbox"/>		Acetamidiprid	C10H11CN4	1	[M+H] <sup>+</sup>	223.0745	126.0092	0.02	RT value	4.150		4 +TOF MSMS (50 - 1000)
2	<input type="checkbox"/>		Acibenzolar-S-methyl	C8H6N2O5	1	[M+H] <sup>+</sup>	210.99943	136.0091	0.02	RT value	9.230		4 +TOF MSMS (50 - 1000)
3	<input type="checkbox"/>		Bromuconazole	C13H12Cl2N...	1	[M+H] <sup>+</sup>	375.96136	158.9769	0.02	RT value	11.180		12 +TOF MSMS (50 - 1000)
4	<input type="checkbox"/>		Clothianidin	C6H8CN5O2S	1	[M+H] <sup>+</sup>	250.016	131.9657	0.02	RT value	2.190		5 +TOF MSMS (50 - 1000)
5	<input type="checkbox"/>		Cyproconazole	C15H18CFN3O	1	[M+H] <sup>+</sup>	292.12112	125.0138	0.02	RT value	9.400		7 +TOF MSMS (50 - 1000)
6	<input type="checkbox"/>		Epoxiconazole	C17H13CFN3O	1	[M+H] <sup>+</sup>	330.08039	121.0441	0.02	RT value	10.710		9 +TOF MSMS (50 - 1000)
7	<input type="checkbox"/>		Etaconazole	C14H15O2N...	1	[M+H] <sup>+</sup>	328.06141	158.975	0.02	RT value	10.560		9 +TOF MSMS (50 - 1000)
8	<input type="checkbox"/>		Fenarimol	C17H12O2N2O	1	[M+H] <sup>+</sup>	331.03994	268.0526	0.02	RT value	9.870		9 +TOF MSMS (50 - 1000)
9	<input type="checkbox"/>		Flutriafol	C16H13F2N3O	1	[M+H] <sup>+</sup>	302.10994	302.11	0.02	RT value	7.000		7 +TOF MSMS (50 - 1000)
10	<input type="checkbox"/>		Imazalil	C14H14O2N2O	1	[M+H] <sup>+</sup>	297.05559	158.977	0.02	RT value	11.140		7 +TOF MSMS (50 - 1000)
11	<input type="checkbox"/>		Imidacloprid	C9H10CN5O2	1	[M+H] <sup>+</sup>	256.05958	209.0582	0.02	RT value	3.480		6 +TOF MSMS (50 - 1000)
12	<input type="checkbox"/>		Metribuzin	C8H14N4OS	1	[M+H] <sup>+</sup>	215.09611	187.1022	0.02	RT value	4.490		4 +TOF MSMS (50 - 1000)
13	<input type="checkbox"/>		Myclobutanil	C15H17CN4	1	[M+H] <sup>+</sup>	289.12145	70.0402	0.02	RT value	9.400		7 +TOF MSMS (50 - 1000)
14	<input type="checkbox"/>		Nitenpyram	C11H15CN4O2	1	[M+H] <sup>+</sup>	271.09563	126.0111	0.02	RT value	5.410		6 +TOF MSMS (50 - 1000)
15	<input type="checkbox"/>		Nuarimol	C17H12CFN2O	1	[M+H] <sup>+</sup>	315.0695	81.0598	0.02	RT value	8.650		8 +TOF MSMS (50 - 1000)
16	<input type="checkbox"/>		Paclobutrazol	C15H20CN3O	1	[M+H] <sup>+</sup>	294.13677	70.0414	0.02	RT value	8.090		7 +TOF MSMS (50 - 1000)
17	<input type="checkbox"/>		Pyrimethanil	C12H13N3	1	[M+H] <sup>+</sup>	200.11822	183.0921	0.02	RT value	7.690		4 +TOF MSMS (50 - 1000)
18	<input type="checkbox"/>		Thiacloprid	C10H9CN4S	1	[M+H] <sup>+</sup>	253.03092	126.0095	0.02	RT value	5.510		6 +TOF MSMS (50 - 1000)
19	<input type="checkbox"/>		Thiamethoxam	C8H10CN5O3S	1	[M+H] <sup>+</sup>	292.02656	131.9661	0.02	RT value	2.550		7 +TOF MSMS (50 - 1000)
20	<input type="checkbox"/>		Triticonazole	C17H20CN3O	1	[M+H] <sup>+</sup>	318.13677	70.0414	0.02	RT value	7.000		8 +TOF MSMS (50 - 1000)
21	<input type="checkbox"/>									RT value			

Process & Close Print Close Help

#### ■ 結果の表示例

[MQ4] Results Table (Example SWATH Quant Qual. qsession)

5 rows Filters: 0 Qualify for Rules Filters

Index	Component Name	Component Type	Mass Error...	Isotope Conf...	Found At Mass	Retenti... Time	Library Hit	Library Score	Area	Height	Calculated Concentrati...	Accuracy	Adduct / Charge	Formula Finder...	Formul. Finder.
1	Acetamidiprid	Quantifiers			N/A	N/A		N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	[M+H] <sup>+</sup>		N/A
21	Acetamidiprid	Quantifiers			N/A	N/A		N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	[M+H] <sup>+</sup>		N/A
41	Acetamidiprid	Quantifiers	✓	✓	223.0745	4.16	Acetamidiprid	85.1	3.017e5	4.833e4	<2 points	N/A	[M+H] <sup>+</sup>		N/A
61	Acetamidiprid	Quantifiers	✓	▲	223.0745	4.17	Acetamidiprid	85.8	5.477e5	9.017e4	<2 points	N/A	[M+H] <sup>+</sup>		N/A
81	Acetamidiprid	Quantifiers	✓	✓	223.0747	4.17	Acetamidiprid	87.9	1.248e6	1.931e5	<2 points	N/A	[M+H] <sup>+</sup>		N/A

Manual Integration View Options

Retention Time (RT) Expected RT: 4.150 min, RT Half Window: 30.0 sec, Update Expected RT: No

Integration Minimum Peak Width: 3 points, Minimum Peak Height: 100.00, S/N Integration Threshold: 0, Gaussian Smooth Width: 0.0 points, Noise Percentage: 40.0 %, Baseline Subtract Window: 2.00 min

SWATH BLK-1 - Acetamidiprid Area: N/A, He... RE: N/A min  
 SWATH BLK-2... Acetamidiprid Area: N/A, He... RE: N/A min  
 STD 1uL - Acetamidiprid Area: 3.017e5... RE: 4.16 min  
 STD 2uL - Acetamidiprid Area: 5.477e5... RE: 4.17 min  
 STD 5uL - Acetamidiprid Area: 1.248e6... RE: 4.17 min

## 5 SCIEX OS Software のその他の機能

### 5.1 Acquisition – MS Tune

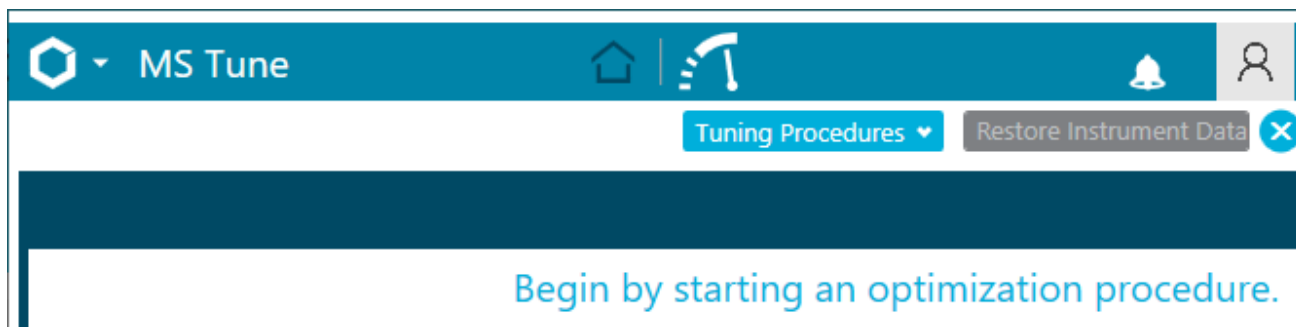
MS Tune では基準値を元にした質量分析装置の評価と調整を行うための機能をまとめています。各システムに応じた調整メソッドがあらかじめ用意されており、「Tuning Procedures」から確認することができます。

システムの評価と調整は弊社標準品にて実施頂く必要があります。下記より御確認下さい。

CDS channel	試薬名称	部品番号
1 (左) Positive	X500 ESI Positive Calibration Solution	5049910 (1x100mL) 5032735 (5x100mL)
2 (右) Negative	X500 ESI Negative Calibration Solution	5042913 (1x100mL) 5042917 (5x100mL)

#### 5.1.1 Tuning Procedures の構成

ホーム画面より「MS Tune」を起動します。右上の **Tuning Procedures** から内容を御確認頂けます。



#### X500, ZenoTOF7600 共通

- Positive Quick Status Check : 質量校正と感度、分解能のチェック
- Negative Quick Status Check : 質量校正と感度、分解能のチェック
- Positive Detector Optimization : 検出器の電圧調整 (ZenoTOF7600)
- Negative Detector Optimization : 検出器の電圧調整 (ZenoTOF7600)
- Detector Optimization : 検出器の電圧調整 (X500)
- Positive TOF (MS) Tuning : TOF 各部の電圧調整、最適化
- Negative TOF (MS) Tuning : TOF 各部の電圧調整、最適化
- Positive Q1 Unit Tuning : Q1 resolution (Unit) の調整
- Negative Q1 Unit Tuning : Q1 resolution (Unit) の調整
- Positive Q1 High Tuning : Q1 resolution (High) の調整
- Negative Q1 High Tuning : Q1 resolution (High) の調整

## ZenoTOF 7600 のみ

- Positive Zeno Calibration : Zeno トラップの調整
- Negative Zeno Calibration : Zeno トラップの調整
- EAD Optimization : EAD の最適化
- EAD EI Background Reduction : EAD 使用時のバックグラウンド低減
- EAD Diagnostics : EAD ユニットの診断
- ADC initialization : ADC の初期化

## システム調整用 (SCIEX スタッフ向け)

- Advanced troubleshooting

### 5.1.2 Positive/Negative Quick Status Check

別冊の基本操作マニュアルをご参照ください。


### 5.1.3 Positive/Negative Detector Optimization

本機能では、極性毎に検出器の最適化を行います。装置感度の低下時に検出器電圧の最適化を行うための機能です。標準品中の特定ピークを使用して最適な電圧値を設定してくれます。

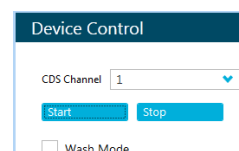
検出器の最適化は月 1 回を目安に実施して下さい。また、感度低下時や真空を解除したシステム全体の洗浄を実施した後なども実施します。

ZenoTOF7600 システムにおいては、Positive と Negative を個別に調整する必要があります。標準溶液はどちらの極性においても、「X500 ESI **Positive** Calibration Solution」を使用します。劣化した標準溶液の使用を避けるため、Channel 1 のボトルに調整した時期を御確認下さい。

#### ■ ZenoTOF7600 の場合 (Positive/Negative 共通)

- ① Direct CDS Control アイコンをクリックし、Positive Mode の場合は CDS channel 1 を選んで送液します。

➤ Negative Mode の場合は CDS channel を 2 に設定して下さい。



**Positive Detector Optimization**

✓ 1. Introduction

- ✓ 1. Introduction
- 2. Signal Optimization
  - 1. Achieve Stable Spray
  - 2. Spray Stability Check
  - 3. TOF MS/MS Mass Calibration
- 3. Detector Optimization
  - 1. Adjust ITC for Coarse Tuning
  - 2. Detector Coarse Tuning
  - 3. Adjust ITC for Fine Tuning
  - 4. Detector Fine Tuning
  - 5. Detector Response Calibration
  - 6. Signal Accuracy (TDC)
  - 7. Signal Accuracy (ADC)
  - 8. Detector Response Accuracy
- 4. Save Settings
  - 1. Report
  - 2. Save Tuning Settings

**Introduction**

**Purpose:**

- Adjust the detector voltage to optimize performance.

**Instructions:**

- Ensure there is positive tuning solution in CDS channel.
- The CDS pump will start automatically.

**Note:** For correct results, complete all the steps in the Detector Optimization procedure in sequence.

Tuning Process  Automated  Manual

Next ->

- ② Tuning Procedures より Positive(または Negative) Detector Optimization を起動します。
- ③ 「1.Introduction」の内容を確認の上、**Next ->** を選択します。

➤ 記載内容の日本語訳

目的：パフォーマンスを最適化するため検出器の電圧を調整します。

指示：CDS channel に positive(または Negative) calibration solution があるか確認する。

CDS ポンプが自動的にスタートしている。

注意：正しい結果の為、Detector Optimization の全ステップを一連の流れで完了させる。

調整過程：●自動 ○手動


- ④ 「2. Achieve Stable Spray」では、標準溶液が CDS より安定に送液されているかを確認し、**Next ->** を選択します。

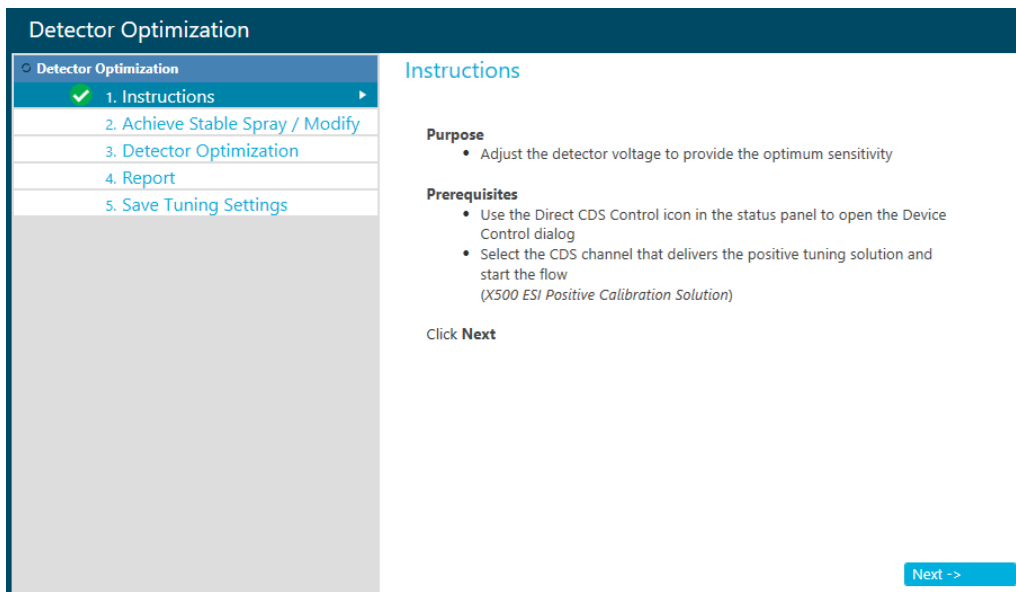
- 左下の TIC のトレースで強度変動を %RSD と Average Intensity の閾値で評価します。両方が pass になったら次に進みます。
- Source and Gas Parameters はデフォルト設定で開始して下さい。

**これ以降は自動的に進行します。**

- ⑤ TOF MS/MS Mass Calibration で MS/MS の質量校正を行います。
- ⑥ 3. Detector Optimization の各ステップが進行します。
- ⑦ 4. Save Settings の 1. report で結果の報告書が表示されます。結果を確認頂き、問題が無ければ **Save report as** より保存し、**Next ->** で次に進んで下さい。
- ⑧ Save Tuning Settings の **Save Settings** で結果を保存します。

▪ **X500 の場合**

- ① Direct CDS Control アイコンをクリックし、CDS channel 1 を選んで溶液を送液します。
- ② Tuning Procedures より Positive Detector Optimization を起動します。(下図)



③ 「1.Introduction」の内容を確認の上、**Next ->** を選択します。

➤ 記載内容の日本語訳

目的：

- ・ 感度を最適化するため検出器の電圧を調整します。

前提条件：

- ・ ステータスパネルの Direct CDS アイコンより、Device control ダイアログを使用。
- ・ Positive calibration solution の用意された CDS channel を選択し、送液を開始する

④ 「2. Achive Stable Spray」では、標準溶液が CDS より安定に送液されているかを確認し、**Next ->** を選択します。

- 左下の TIC のトレースで強度変動を %RSD と Average Intensity の閾値で評価します。両方が pass になったら次に進みます。
- Source and Gas Parameters、TOFMS はデフォルト設定で開始して下さい。

⑤ 「3. Detector Optimization」が進行します。

⑥ 「4. Report」で結果の報告書が表示されます。結果を確認頂き、問題が無ければ **Save report as** より保存し、**Next ->** で次に進んで下さい。

⑦ Save Tuning Settings の **Save Settings** で結果を保存します。


- \* X500, ZenoTOF7600 いずれのシステムでも検出器は徐々に劣化し、電圧最適値は大きくなっていきます。この検出器は 2700V が上限値になりますので、交換が必要となります。最適化後検出器電圧が 2650V を超えた際は弊社までご連絡ください。

## 5.1.4 Positive/Negative TOF (MS) tuning

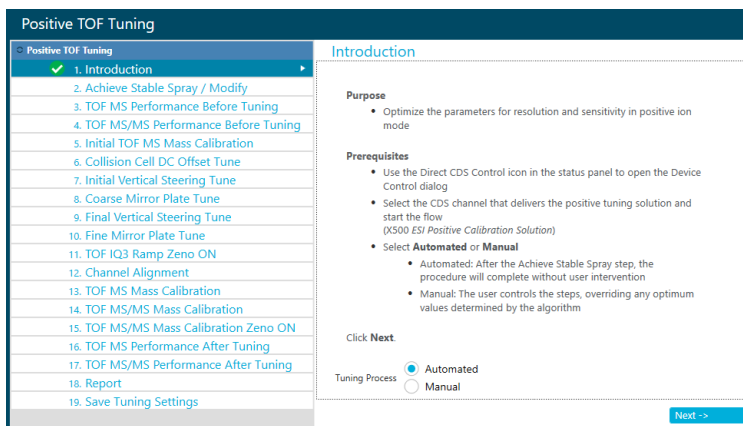
本機能では TOF MS と TOF MS/MS の分解能と感度に関わるパラメータの最適化を行います。弊社標準溶液を使用して実施します。

TOF (MS) tuning は MS check と同様に positive と Negative で分けられており、標準溶液もそれぞれの極性のものを使用します。

### ■ ZenoTOF7600 の場合 (Positive/Negative 共通)

⑧ Direct CDS Control アイコン  をクリックし、Positive Mode の場合は CDS channel 1 を選んで OK します。

- Negative Mode の場合は CDS channel を 2 に設定して下さい。



- ⑨ Tuning Procedures より Positive(または Negative) TOF tuning を起動します。
- ⑩ 「1.Introduction」の内容を確認して Automated を選択の上、**Next ->** を選択します。

➤ 記載内容の日本語訳

目的：

- ・ ポジティブ（ネガティブ）イオンモードの分解能と感度に関するパラメータを最適化。

前提条件：

- ・ ステータスパネル Direct CDS アイコンより、Device control ダイアログを使用。
- ・ Positive (Negative) calibration solution の用意された CDS channel を選択し、送液を開始する。
- ・ Automated か Manual を選択する。
  - ・ Automated : Achieve Stable Spray ステップの後、ユーザーの介在無しに全手順が完了。
  - ・ Manual : ユーザーが各ステップを制御し、アルゴリズムによって決定される最適値を上書きすることができる。

- ⑪ 「2. Achive Stable Spray / Modify」では、標準溶液が CDS より安定に送液されているかを確認します。シグナルの安定化後 **Stop** で停止し、**Next ->** を選択します。

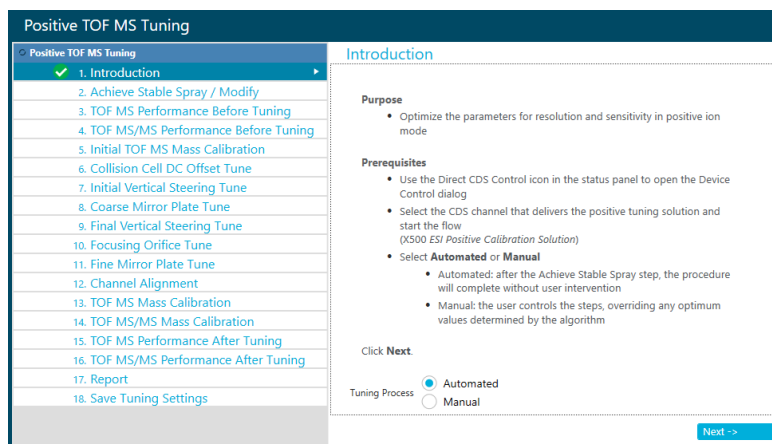
- Source and Gas Parameters、TOFMS はデフォルト設定で開始して下さい。

これ以降は自動的に進行します。

- ⑫ 「18. Report」で結果の報告書が表示されます。結果を確認頂き、問題が無ければ **Save report as** より保存し、**Next ->** で次に進んで下さい。
- ⑬ 「19.Save Tuning Settings」の **Save Settings** で結果を保存します。

▪ X500 の場合 (Positive/Negative 共通)

ステップ数は異なりますが、ZenoTOF7600 と同じです。前項をご参照下さい。



### 5.1.5 Positive/Negative Q1 Unit/high Tuning

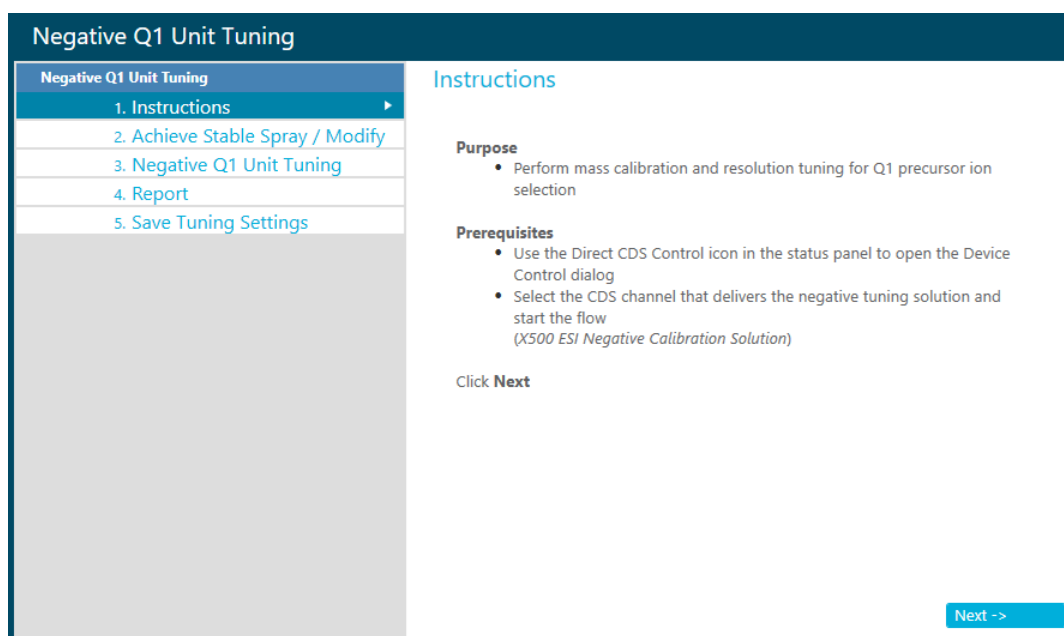
MS/MSの際にプリカーサーイオンを選択するQ1のチューニングを行います。これを実施することで、Q1の質量補正と分離能を調整しますので、イオンの透過性を向上させMS/MSの感度向上にも効果があります。

MSメソッドでは複数の設定から選択可能ですが、調整はUnitとHighのみになります。ここではUnitでの調整について記載し、Highにつきましては弊社までお問い合わせください。

#### ▪ ZenoTOF7600/X500 及び Positive/Negative 共通

以下はネガティブ極性での実施例です。調整する極性毎に標準溶液を変更して下さい。装置、極性共に操作は共通です。

- ① CDS channel 2 より、Negative calibration solution を送液します。
  - ポジティブ極性ではCDS channel を 1 に設定して下さい。
- ② Tuning Procedures より Negative Q1 Unit Tuning を起動します。(下図)



- ③ 「1 Introduction」の内容を確認して Automated を選択の上、 を選択します。

➢ 記載内容の日本語訳

目的：

- ・ Q1でのプリカーサーイオン選択時の質量校正と分解能を調整

前提条件：

- ・ ステータスパネル Direct CDS アイコンより、Device control ダイアログを使用。
- ・ Positive (Negative) calibration solution の用意された CDS channel を選択し、送液を開始する。

- ④ 「2. Achieve Stable Spray / Modify」では、標準溶液がCDSより安定に送液されているかを確認します。シグナルの安定化後  で停止し、 を選択します。

➤ Source and Gas Parameters、TOFMS はデフォルト設定で開始して下さい。

⑤ 「3.Negative Q1 Unit Tuning」では、指定された複数のピークを指定して質量精度とピーク幅を調整します。

**Negative Q1 Unit Tuning**

Run Again Confirm Edit Method Calibration Details Stop

Purpose: Optimize Q1 Unit calibration and resolution.

Instructions: Adjust calibration or resolution as required. Spectrum accumulation (Sum of spectra) will reset accordingly.

- To adjust the mass calibration, manually select a peak in the graph
- To adjust Q1 resolution, click the **Offset** arrows (Up arrows to increase, Down arrows to decrease)
- If necessary, adjust the scan time and ITC with **Edit Method**
- Optional: Clear the check box for ions to be excluded from quick calibration

When calibration and resolution are acceptable, click **Confirm** to run a confirmation acquisition.

Note: All ions in the method, including unselected ions, will be used for calibration.

Sum of 3 spectra

Item	Min	Max	Actual	Status
Mass (Da)	111.9856	113.9856	381.986	Fail
Width (Da)	0.60	0.80	272.05	Fail
Intensity (cps)	1.00e6	1.00e8	2.00e2	Fail

Item	Min	Max	Actual	Status
Mass (Da)	247.9604	249.9604	381.986	Fail
Width (Da)	0.60	0.80	272.05	Fail
Intensity (cps)	5.00e5	1.00e8	2.00e2	Fail

Item	Min	Max	Actual	Status
Mass (Da)	383.9352	385.9352	381.986	Fail
Width (Da)	0.60	0.80	544.00	Fail
Intensity (cps)	5.00e5	1.00e8	2.00e2	Fail

➤ 記載内容の日本語訳

目的 : Zeno と non Zeno データをそれぞれ取得し、定量的な一致度を維持するために必要になる Zeno gain factor を決定します。この手順は TOF tuning 後実施すべきです。

指示 : 必要なピークの質量校正または分解能を調整するとスペクトルの積算がリセットされます。

- 質量校正するには、ピークをグラフ内で手動指定する。(グラフ内の青枠に頂点が入るように、ピークを指定します。)
- Q1 resolution を調整するには Offset 矢印を使用する (上向き:分解能上がる、下向き:分解能下がる)。(width (Da) に指定された範囲になるよう、少しずつ調整して下さい。)
- 必要に応じて **Edit Method** を使用してスキャン時間や ITC を調整します。
- オプション : 特定のイオンを除外して校正したい場合はチェックを外す。

質量校正と分解能が問題なければ、**Confirm** より確認するための分析に移ります



注意 : チェックを外しても、メソッド内のすべてのイオンを使って質量校正を行います。

⑥ 「4. Report」で結果の報告書が表示されます。結果を確認頂き、問題が無ければ **Save report as** より保存し、**Next ->** で次に進んで下さい。

⑦ 5.Save Tuning Settings の **Save Settings** で結果を保存します。

### 5.1.6 Positive/Negative Zeno Calibration (ZenoTOF 7600のみ)

Zeno Calibration は、Zeno Trap 周辺の校正を行います。この操作は TOF tuning 後には必ず実施して下さい。

- ① Direct CDS Control アイコンをクリックし、Positive Mode の場合は CDS channel 1 を選んで送液します。
  - Negative Mode の場合は CDS channel を 2 に設定して下さい。
- ② Tuning Procedures より Positive(または Negative) Zeno Calibration を選択します。
- ③ 「1 Introduction」の内容を確認して Automated を選択の上、 を選択します。



#### ➤ 記載内容の日本語訳

目的：Zeno Trap が on/off での分析で定量的な一致度を維持するために Zeno Trap におけるゲインファクターを決定します。




前提条件：

- ・ CDS をスタートします。
- ・ ステータスパネル Direct CDS アイコンより、Device control ダイアログを使用。
- ・ X500 ESI Positive (Negative) calibration solution の用意された CDS channel を選択し、送液を開始する。

注意：この手順は自動的に進みます。

- ④ 「2. Achive Stable Spray / Modify」では、標準溶液が CDS より安定に送液されているかを確認します。シグナルの安定化後  で停止し、 を選択します。
  - Source and Gas Parameters、TOFMS はデフォルト設定で開始して下さい。


#### これ以降は自動的に進行します。

- ⑤ 4. report で結果の報告書が表示されます。結果を確認頂き、問題が無ければ  より保存し、 で次に進んで下さい。
- ⑥ 5. Save Tuning Settings の  で結果を保存します。

### 5.1.7 EAD Optimization (ZenoTOF7600のみ)

EAD のフィラメントの補正、パラメータ最適化、EAD のパフォーマンスの評価を行います。月に 1 回を目安に実施して下さい。

ここではポジティブのイオンを使用します。標準溶液を変更して下さい。

- ① CDS channel 1 より、X500 ESI Positive calibration solution を送液します。
- ② Tuning Procedures より EAD Optimizations を起動します。(下図)
- ③ 「1. Introduction」の内容を確認して Automated を選択の上、 を選択します。

#### ➤ 記載内容の日本語訳

目的：EAD のフィラメントの補正、パラメータ最適化、EAD パフォーマンスの評価を行います。

前提条件：

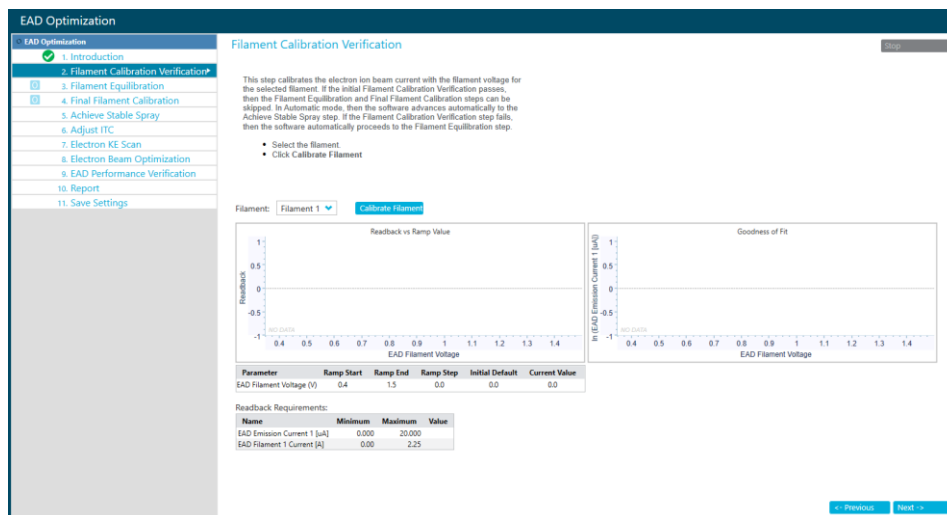
- ・ ステータスパネル Direct CDS アイコンより、Device control ダイアログを使用。
- ・ Automated か Manual を選択する。
  - ・ Automated : Achieve Stable Spray ステップの後、ユーザーの介在無しに全手順が完了。
  - ・ Manual : ユーザーが各ステップを制御し、アルゴリズムによって決定される最適値を上書きすることができる。

注意：

- ・ 自動モードでは、評価ステップがパスしていれば、EAD フィラメント平衡化と最後の評価ステップでの評価がスキップされます。
- ・ Achieve Stable Spray の間、CDS は自動的にスタートします。CDS がスタートしなかったら Direct CDS Control でスタートさせて下さい。
- ・ CDS は X500 ESI Positive calibration solution を使用して最適化します。

④ 4. Filament Calibration Verification では使用するフィラメントを選び、**Calibrate Filament** を選択します。

- フィラメントは 1 から選択し、pass する場合はそのまま御使用下さい。



- 記載内容の日本語訳

このステップでは選択したフィラメントにおいて、フィラメント電圧と electron beam current を補正します。このステップがパスした場合、次の Filament Equilibration と Final Filament Calibration のステップはスキップします。Automatic mode の場合、ソフトウェアが自動的に Achieve Stable Spray に進みます。このステップが fail の場合は、filament Equilibration ステップに進みます。

⑤ 前のステップが「pass」の場合は「5.Achieve Stable Spray」へ、「Fail」の場合は「3. Filament Equilibration」へ自動的に進みます。

⑥ 以降の項目も問題が無ければ、10. report で結果の報告書が表示されます。結果を確認頂き、問題が無ければ **Save report as** より保存し、**Next ->** で次に進んで下さい。

⑦ 11.Save Tuning Settings の **Save Settings** で結果を保存します。

### 5.1.8 EAD EI Background Reduction (ZenoTOF7600 のみ)

EAD フィラメント由来のノイズを除去するための操作を行います。この操作は低分子化合物の分析や低分子フラグメントの検出が必要である場合に有効です。

この操作は分析前に必ず実施するようにすると、ノイズの無い再現性の良い結果を得られます。

ここでは標準溶液を使用しません。

① Tuning Procedures より EAD EI Background Reduction を起動します。

② 「1 Introduction」の内容を確認し、[Next ->](#) を選択します。

➤ 記載内容の日本語訳

目的：

- ・ 電子衝撃 (EI) でのバックグラウンド強度とバックグラウンドを減少させるプロセスを評価します。低分子化合物の EAD 分析のような、EI のバックグラウンドに敏感な分析アプリケーションの為にこのステップを実施します。

注意：EI バックグラウンドの必要性は電子の運動エネルギー (KE) の設定やデータ取得方法 (Zeno Trapping の有無) によって異なるため、必要とされる結果を得るのに必要な設定が異なります。

前提条件：

- ・ EAD Optimization を実施しておきます。
- ・ CDS やその他 MS へのサンプル導入は行わないで下さい。

注意：EI Background Reduction と「Final EI Background level Verification」ステップは、「initial EI Background level」がパスした場合はスキップします。

③ 2. initial EI Background level では、使用する分析メソッドの条件を反映して設定して下さい。設定後は [Next ->](#) を選択します。

➤ 設定値は初期値をそのまま使用して評価して下さい。

④ ③が fail の場合は、「3. EI Background Reduction Scan」に移ります。通常は 10~30 分程度このステップで放置すると TIC 及び Spectrum の Intensity の減少からバックグラウンドが下がっていくことが確認できます。ノイズが検出されなくなったら、[Next ->](#) で次に移ります。

⑤ 「4. Final EI Background level Verification」では、④で下がったバックグラウンドの状況を、一定時間の測定後確認します。終了後自動的に次に移ります。

➤ 設定値は初期値をそのまま使用して評価して下さい。

⑥ 5. report で結果の報告書が表示されます。結果を確認頂き、問題が無ければ [Save report as](#) より保存して下さい。設定を保存する必要はありません。

### 5.1.9 EAD Diagnostics (ZenoTOF7600 のみ)

ここでは EAD ユニットの電流値と問題点を調べます。前の項目までの操作で問題がある場合は、この操作を行ってください。EAD ユニットの正しく電流が流れているかどうかを確認できます。

ここでは標準溶液を使用しません。

① Tuning Procedures より EAD Diagnostics を起動します。

- ② 「1 Introduction」の **Next ->** を選択します。
- ③ 「2. Emission Gate Electron Current Monitor」では、選択したフィラメントで 2000nA における emission Gate の電流値をモニターします。
- ④ 「3. Emission Pole Electron Current Monitor」では、選択したフィラメントで 2000nA における emission Pole の電流値をモニターします。
- ⑤ 「4. Collection Gate Electron Current Monitor」では、選択したフィラメントで 2000nA における emission Gate の電流値をモニターします。
- ⑥ 「5. Collection Pole Electron Current Monitor」では、選択したフィラメントで 2000nA における emission Pole の電流値をモニターします。

### 5.1.10 ADC Initialization (ZenoTOF7600 のみ)

ADC の初期化を行います。

ここでは標準溶液を使用しません。

- ① Tuning Procedures より ADC Initialization を起動します。「1 Introduction」の内容を確認し、**Next ->** を選択します。

➤ 記載内容の日本語訳

目的：

- ・ アナログ-デジタル コンバータ (ADC) モジュールのベースライン設定を行い、最適な感度とダイナミックレンジを提供します。
- ・ この手順は ADC モジュールを別の PC へ載せ替えたり、検出器やシグナルハンドリングシステムを置き換えたような場合にのみ必要な操作です。

注意：CDS やその他 MS へのサンプル導入は行わないで下さい。

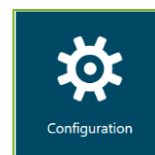
- ② 「ADC Initialization」で自動的に初期化が行われます。終了後はそのまま次の作業に移ってください。

### 5.1.11 Advanced Trouleshooting

この機能は使用しません。

## 6 Management

### 6.1 Configuration



「Configuration」では、様々な装置、ソフトウェアに関する設定や、装置状況の確認やログファイルの抽出など様々な設定が含まれます。

#### 6.1.1 Configuration の構成

Configuration に含まれる内容は以下になります。

- Devices : LC、MS の各システムのハードウェア情報を含みます。
  - Project : SCIEX OS の各情報を保存するプロジェクトフォルダに関する設定を含みます。
  - User Management : 使用者によって機能の制限を設けるためのユーザー登録やアクセスに関する情報を登録します。
  - Queue : 分析キューの処理等を設定します。
  - Print Templates : 印刷時のヘッダーやフッターを設定します。
  - Licenses : 導入されたソフトウェアライセンスの情報と、新規インストール場所。
  - LIMS Communication : LIMS サーバーとの通信設定。
  - General : 一般設定
  - Software Updates : SCIEX OS のアップデートを確認します。
  - Service and Support : システムログを抽出するための設定 (サポートパッケージの作成)。
  - CAC : CAC サーバーへの接続設定
  - About : SCIEX OS のバージョンを表示します。
- 次項から下線の機能について説明します。

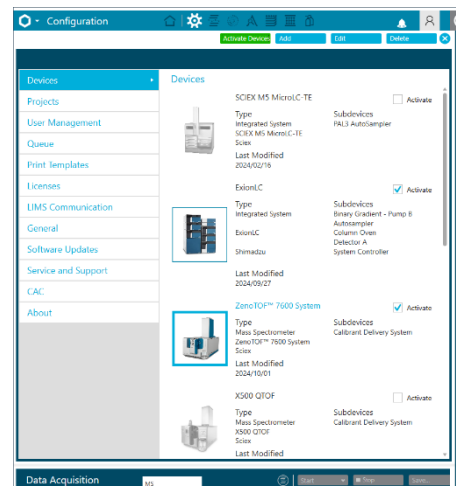
### 6.1.2 Devices の設定

LC-MS 分析に使用する機器を制御するために、HPLC システム、MS システムを登録しています。

登録された機器は画像と名称、デバイスに組み込まれたモジュールの名称、及び使用する機器を選択する  **Activate** チェックボックスが表示されます。

選択した機器はステータスパネルにも表示され、**Activate Devices** を選択すると制御 PC からの制御が可能になります。左の例では ExionAD LC と ZenoTOF7600 システムを選択しています。

納入時のシステムにつきましては、弊社スタッフによってあらかじめ登録させて頂いておりますが、システムの追加や編集などを実施する際に必要な作業になります。

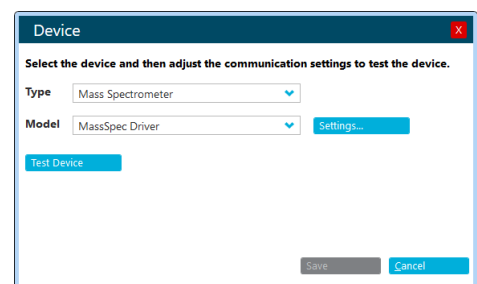


#### ■ システムの新規登録

新たに制御システムを追加する場合は、**Add** より作業します。Device パネルでは装置の Type と Model が選択できます。

- 新規登録する前にシステムの電源が投入されているか、LAN ケーブルで接続され、通信が可能であるか御確認ください。

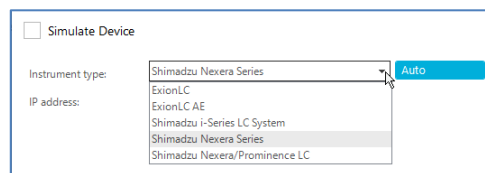
- ① Type では「Integrated System」 (=HPLC)、「Mass Spectrometer」、「Syringe Pump」から選択します。
- ② 下の「Model」より、「Agilent Integrated System」, 「ExionLC 2.0」, 「M5 microLC」, 「Shimadzu Integrated System」より選択します。(UPLC 等の Waters システムは追加ソフトが必要で



す。)

- ③ **Settings...** : Type と Model を選択したあとは、システムに応じた設定項目が必要です。Settings よりモジュールやドライバの選択を行います。

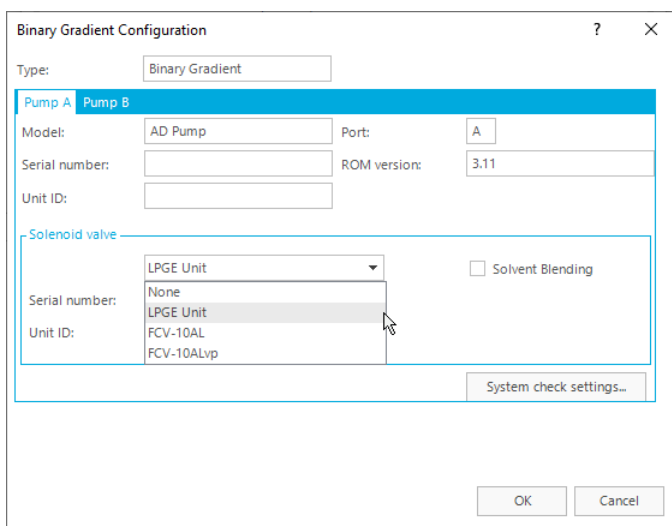
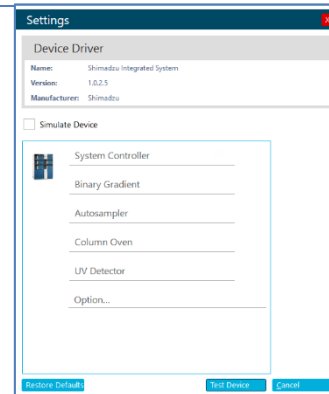
- ④ Shimadzu Integrated System の場合 (右図) : ExionLC シリーズ、Shimadzu の各種シリーズを選択し、IP address を 192.168.200.99 (初期値) で設定し、**Auto** で接続を確認します。



- ⑤ LC の構成が自動で読み込まれます (右図 Settings)。

- ⑥ LPGE unit やオートサンプラーの洗浄ユニット等のオプションが含まれているか確認します。

- Settings パネルより Binary Gradient 等の行をクリックすると、下図のようなパネルが開きます (Binary Gradient のソレノイドバルブオプション)。

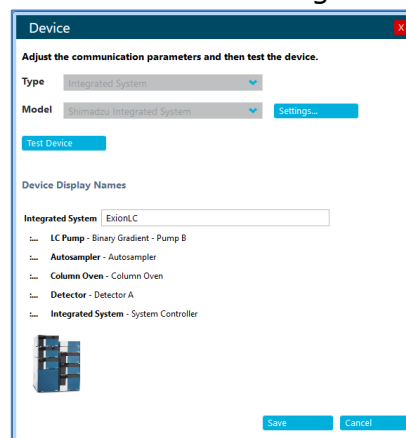


- ⑦ 全てのモジュール、及びオプションが選択できたら、下の **Test Device** を選択し、Settings を閉じます。

- ⑧ Device (右図) に、登録されたモジュールの情報が表示されます。

- Integrated System の名称は、必要に応じて変更できます。  
➤ 再度接続確認を行う場合は **Test Device** で実施します。

- ⑨ **Save** すると、保存されたシステムのアイコンが「Devices」画面に表示されます。



## Mass Spectrometer

導入時に弊社スタッフにより設定されておりますので、設定する必要はありません。

## Syringe Pump

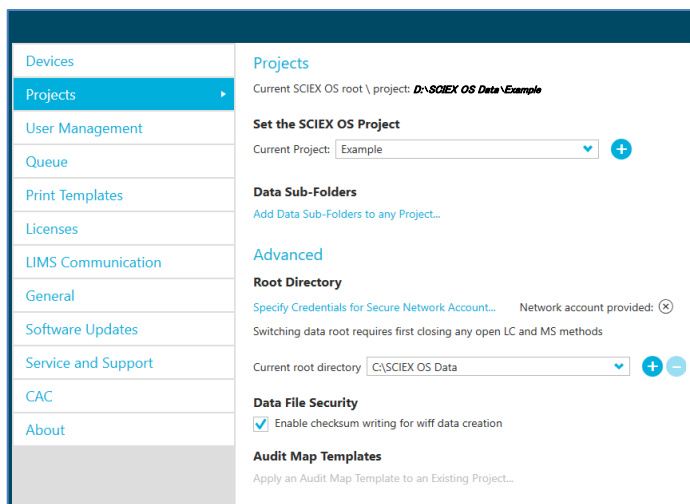
Harvard Apparatus 社製の RS-232C 接続が可能なシリンジポンプを接続可能です。

### 6.1.3 Project の設定

取得した LC-MS データや分析メソッドを保存するフォルダをまとめる上位フォルダを Project と呼びます。ここでは Project に関する設定を行うことができます。

データ保存先は通常 SCIEX OS インストール時に指定されます。

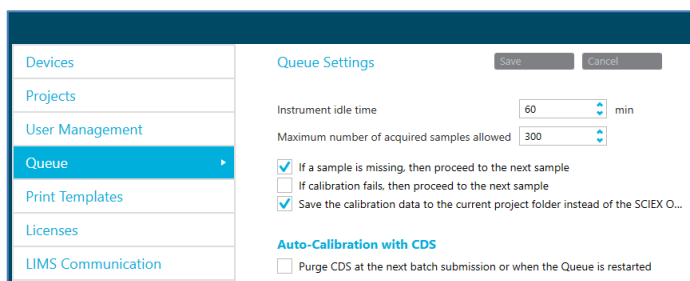
- Project
  - Set the SCIEX OS Project : 選択中のプロジェクトの確認や新規作成ができます。
  - Data Sub-Folders: Data フォルダ内のサブフォルダを作成することができます。
- Advanced
  - 以下はネットワークドライブ、データセキュリティ関連の設定を行うために使用します。データセキュリティ関連の設定につきましては、「SCIEX OS Software Laboratory Director Guide.pdf」をご参照下さい。



### 6.1.4 Queue の設定

Queue では連続分析に関わる設定を行います。

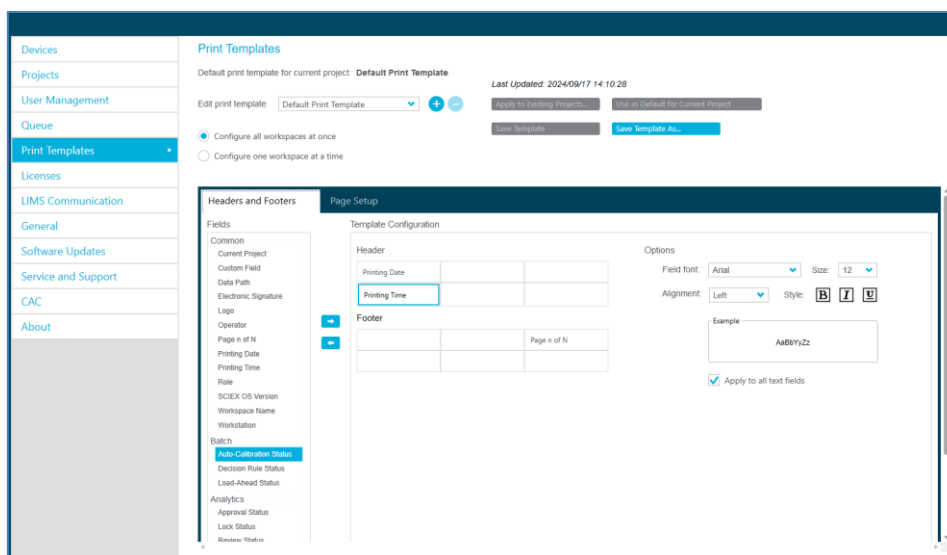
- Queue settings : 内容を変更した際には **Save** より保存して下さい。
- Instrument idle time : 一連の分析が終了したあと、LC 送液や MS の加熱・ガスフローを維持する時間 (idle time) を設定・変更できます。
- Maximum number of acquired samples allowed : 一度に取得できるサンプル数の上限値を設定・変更できます。



- If a sample is missing, then proceed to the next sample : オートサンプラーにバイアルを置き忘れた場合でも、次のサンプル分析に進むように設定する場合は、チェックします。
- If calibration fails, then proceed to the next sample : Auto Calibrate 設定時、キャリブレーションが通らなくても連続分析を続行する場合はチェックします。
- Save the calibration data to the current project folder instead of the SCIEX OS/TempData folder : Auto Calibrate 設定時、キャリブレーションデータを指定しているプロジェクト内の Data フォルダに保存する際はチェックします。
- Auto-Calibration with CDS  Purge CDS at the next batch submission or when the Queue is restarted : バッチ追加時、あるいは Queue を再起動した際に CDS を自動的にページする際はチェックして下さい。

## 6.1.5 Print Templates の設定

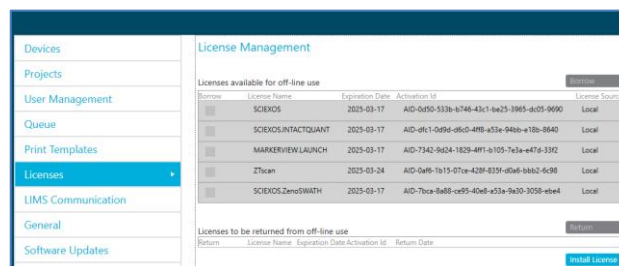
SCIEX OS からファイルを書き出す際のフォーマットを編集できます。



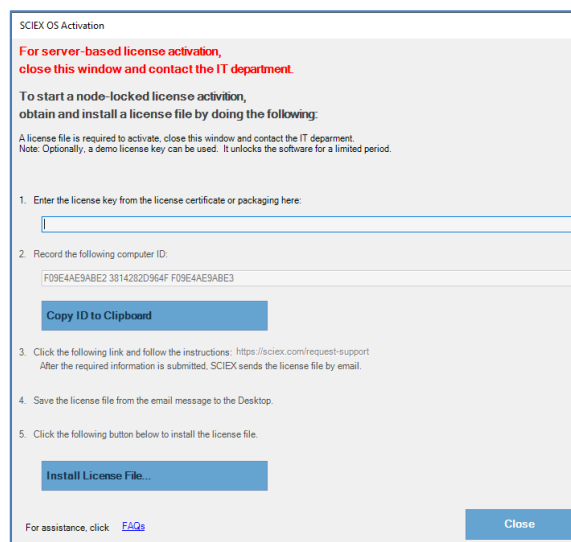
## 6.1.6 License の設定

ライセンスの導入状況が確認できます。

新たにライセンスを導入する場合は、AID 番号記載のリーフレットの情報を入力する必要があります。また、ソフトウェアによってはメール等にて AID 番号をお知らせする場合がございますので、弊社スタッフまでご確認ください。



- ① **Install License** を選択し、「SCIEX OS Activation」のパネルを開きます。
- ② リーフレットに記載の AID 番号を 1 に入力します。
- ③ 2 の **Copy ID to Clipboard** を選択し、Computer ID をコピーします。
- ④ インターネットに接続可能な PC で次の弊社サイトにアクセスして下さい。  
<https://sciex.com/request-support> サイトの指示に従って Computer ID を送付します。
- ⑤ 入力したメールにライセンスファイルが送付されます。
- ⑥ ライセンスを導入する PC に届いたライセンスファイルをコピーし、**Install License File...** よりライセンスを選択してください。
- ⑦ SCIEX OS を再起動し、機能が追加されているか御確認下さい。



## 6.1.7 General の設定

表示や Windows update 等の設定に関する設定を行います。

Devices	<b>General</b> Full Screen Mode <input type="checkbox"/> Enabled
Projects	
User Management	<b>Windows Settings</b> During acquisition, stop resource-intensive Windows services, such as Windows Defender, Windows Update, and anti-virus software <input checked="" type="checkbox"/> Enabled
Queue	
Print Templates	
Licenses	<b>Regional Settings</b> Apply current system regional settings? <b>Apply</b>
LIMS Communication	Languages <input type="text" value="English"/> <input checked="" type="checkbox"/> Retain audit trail in English
<b>General</b>	
Software Updates	
Service and Support	<b>Save</b> <b>Cancel</b>

- General : SCIEX OS 起動時はフルスクリーンで表示する場合は選択します。
- Windows Settings : 分析時、Windows Update やアンチウイルスソフトを停止したい場合は選択します。
- Regional Settings : SCIEX OS の言語表示を変更することができます。Languages から日本語を選択することもできます。この時、弊社サポートの為 Audit Trail を英語のまま維持するため、 Retain audit trail in English を選択します。この設定は **Apply** 選択後、SCIEX OS を再起動すると表示が変更されます。
- 全ての変更を保存する場合は **Save** を選択してください。

## 6.1.8 Software Updates

インターネット接続時、Check for updates より SCIEX OS アップデートを確認できます。(インストールなどは行いません)

## 6.1.9 Service and Support

SCIEX OS では使用中の状況を確認するシステムログを取得しています。システムにトラブルが生じた際に弊社より「サポートパッケージ」の送付をお願いする場合がございます。作成方法は以下を御確認下さい。

**Service and Support**

Select a date range for the log files to be included in the support package.  
(Recommendation: Select a period from one week before, to one week after, the issue occurred.)

From: 2024/09/18 To: 2024/09/25

Select the date and time when the issue occurred:

Select a date: [ ] Hour: 0 Minute: 0 Note: [ ]

[Generate a Support Package](#)

**Notes:**

- For issues that are not related to acquisition, repeat the steps that caused the issue, and then generate a support package for the date and time when the issue occurred.
- Save the files in the following paths to a zip file:
  - C:\ProgramData\SCIEX\SCIEX OS\mongodb.
  - C:\Program Files\SCIEX\SCIEX OS\Bundles\Prognostics.SBC.Bundle\PrognosticsConfiguration\Rules.jsonx.
- Send the support package and the zip files to SCIEX support.

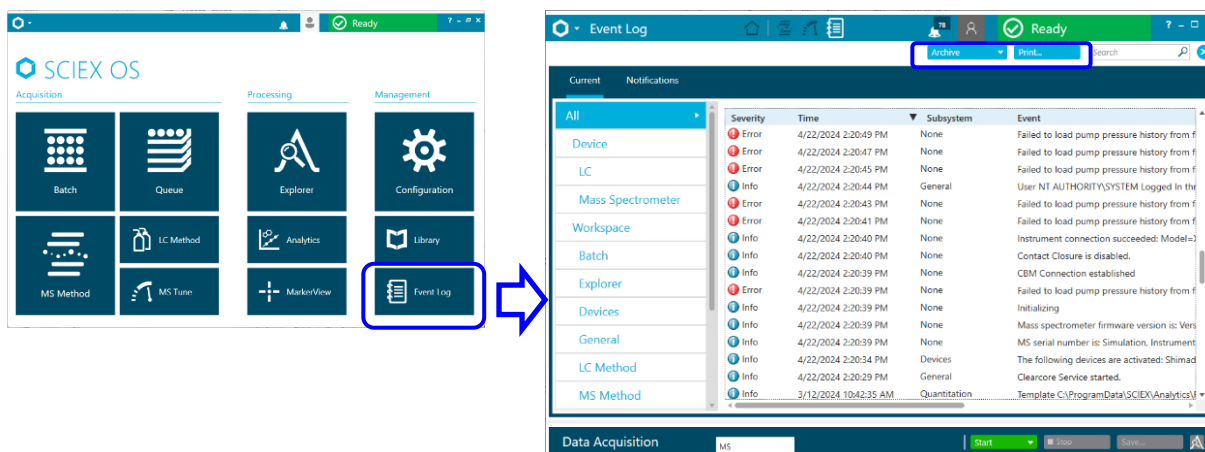
- ① 「Service and Support」を開きます。
- ② トラブルが生じたタイミングから1週間程度の日付を上記の From/To で選択します。
- ③ トラブルが生じた日付と時間をおおよそ入力頂き、可能であれば Note に入力してください。  
[Generate a Support Package](#) を選択するとパッケージの作成が開始されます Generating the support package....。
  - 終了すると右のメッセージが表示されます。 ✔ The support package has been successfully generated. Location: C:\ServicePackages  
Location のリンクをクリックするとパッケージのフォルダを開きます。
- ④ メール等に添付頂き、弊社まで送付して下さい。送付先は最終項をご覧ください。

## 6.2 Event Log の保存

装置がエラーなどで停止した場合時など、イベントログを確認することにより、その不具合の原因究明の手助けとなることがあります。システムにトラブルが生じた際に弊社より「イベントログ」の送付をお願いする場合がございます。作成方法は以下を御確認下さい。

① Home 画面の Event Log より確認することができます。

- ※ SCIEX に原因照会する際には、Event Log を画面キャプチャ、もしくは Print > Microsoft Print to PDF(A3 サイズ/印刷向き:横)などで Log を保存してメールにて送付をお願いします。
- ※ Log が大量にたまっている場合 Archive > Archive Log で、ログをアーカイブに保存することができます。
- ※ (※アーカイブされたログは C:\ProgramData\SCIEX\Clearcore2.Acquisition に保存されます。)



## 7 メンテナンス（イオンソース、インターフェース、HPLC）

※ MS 本体に関する詳細は別冊のメンテナンスマニュアルをご参照ください。

### 7.1 イオン源、カーテンプレート、オリフィスプレートのメンテナンス

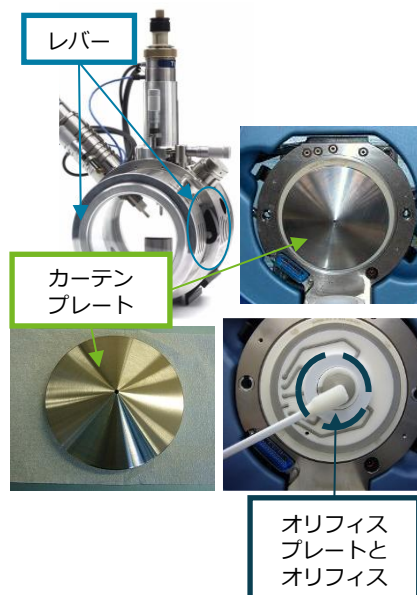
- standby 状態で行うことができます。真空解除の必要はありません。
- 作業は、パウダーフリーのノンラテックス製の手袋を着用してください。

ステータスパネルを開き、Direct Control の Standby を選択します。

**測定を行っている時は、測定を中止するか終了するまでお待ちください。**

**standby 直後はイオン源が高温になっている場合がございます。取扱いにご注意ください。**

- ① イオン源両側のレバーを上げて、イオン源の固定を解除します。
- ② イオン源を軽く持ち上げながら手前に引いてはずします。
- ③ カーテンプレートをまっすぐ手前に引いてオリフィスプレートから取り外します。
- ④ 取り外したカーテンプレートをアルコール系溶媒で拭きます。
- ⑤ オリフィスプレートのオリフィス孔の周辺を、スワブを使用して、アルコール系溶媒で拭きます。



**キムワイプなどは細かい屑が出ますので、オリフィスプレートには使わないで下さい。**

**オリフィス孔は薄いので変形させないように注意してください。**

**エレクトロード先端をアルコール系溶媒でふき取ると、さらに効果的です。**

- ⑥ カーテンプレートを戻します。
- ⑦ イオンソースを本体へ戻します。

#### [メンテナンスに使用する備品について]

- スワブ：精密機器の清掃に使用する綿棒状の清掃用具です
- Chemtronics 社製の Foamtips が推奨です。
- 大：Cat.No.CF2050（オリフィス表面の清掃用など）
- 中：CF3050（スキマーや QJet® ion guide の清掃用など）
- 小：CF4050（オリフィス孔の清掃用など）
- ノンラテックス製手袋：MICRO FLEX 「ネオプロ」など

## 7.2 LCのメンテナンス

核酸分析では分析後に LC やイオン源に残留する塩が感度悪化を引き起こします。定期的にギ酸系溶媒などで流路洗浄を行うと、安定して使用することができます

### 7.2.1 核酸分析終了直後ギ酸溶媒による洗浄①

#### 用意するもの

- LCの溶媒瓶 2本: 使用前に中性洗剤にて瓶の内外を十分に洗浄し、水で3回以上すすいだ後、内部を少量アセトンで3回すすいでください。
- 移動相 A : 0.1%ギ酸水
- 移動相 B : メタノール

- ① 事前に使用していた溶媒を上記溶媒に変更します。
- ② Positive ion mode にて MS メソッドを作成してください (TOF MS)。LC メソッドは下記の例のように作成します。(右 Shimadzu/Exion の例)
- ③ 分析バッチを用意します。注入サンプルとして、超純水等、イソプロパノール、1%ギ酸水を用意し、1回あたり 20uL 程度、各 2 回以上分析してください。
- ④ 分析終了後も 1~3 時間程度初期条件にて送液を続けておくと効果的です。

0	Pumps	Pump B conc	2
1	Pumps	Pump B conc	90
2	Pumps	Pump B conc	2
3	Pumps	Pump B conc	90
4	Pumps	Pump B conc	2
5	Pumps	Pump B conc	90
6	Pumps	Pump B conc	2
10	Controler	Stop	

### 7.2.2 分析後のギ酸溶媒による洗浄②

- 溶媒切り替えバルブ付属の LC の場合は、別配管に上記移動相を常備しておくとう便利です (バルブ例: 島津 FCV-11AL)。
- 一連の核酸分析終了後、ギ酸系溶媒による洗浄バッチを追加しておくとう便利です。

- ① 前項と同じ溶媒を、溶媒切り替えバルブの別ラインのチューブに用意し、前項のようにメソッドを用意してください。
- ② LC メソッドは前項と同様で、かつ溶媒ラインの設定変更を行ってください。(FCV-11AL の場合、A-A-A → B-B-A など)
- ③ 前項同様に、③~④を行ってください。

### 7.2.3 サクションフィルタの洗浄

- LC 導入当初やサクションフィルタを交換した際は必ず実施します。定期的にも実施して下さい。
- シリンジを併用して超音波洗浄を行うとう効果的です。

- ① サクションフィルターを溶媒チューブより外してください
- ② LC に塩を含むような緩衝液等を流していた場合は、水あるいは 0.1% ギ酸水入りのビーカーに入れ、超音波洗浄を行ってください
- ③ イソプロパノール入りのビーカーに入れ、超音波洗浄を行ってください

\* 必要に応じて、シリンジを接続して洗浄溶媒の吸引、吐出を行うことで、効率よくフィルターのクリーニングが可能です。

## 7.2.4 LCシステムのクリーニング

別用途で使用されていた LC や新しく導入された LC を核酸分析で使用される場合は、必ず行ってください。核酸分析のみに使用されていた LC でも、前項で感度が改善しない場合に実施して下さい

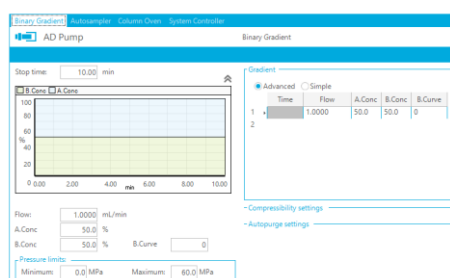
**下の手順で使用する溶媒を PP バイアルにてオートサンプラーに用意し、バッチを組むと便利です (例 10uL 注入、10 min, 50%B, 1mL/min, 6 回分析)**

- **実施前に必ずカラムは外しユニオンに接続してください。また MS、UV、PDA などの外部機器も接続せず、溶出液は廃液等に捨てて下さい**

- ① SCIEX OS の LC method にて、流速 1.0mL/min、50%B、分析時間 10 分、注入量 50uL のメソッドを作成してください。
- ② 溶媒チューブ全てを超純水に置き換え、①で 6 回分析。
- ③ 溶媒チューブ全てを水：リン酸=90：10 に置き換え、①で 6 回分析。
- ④ ②を再度実施します
- ⑤ 溶媒チューブ全てを 10% 酢酸水に置き換え、①で 6 回分析。
- ⑥ ②を再度実施します
- ⑦ 溶媒チューブ全てを 50%メタノール、1%アンモニアに置き換え、①で 6 回分析。
- ⑧ ②を再度実施します
- ⑨ 溶媒チューブ全てを水：メタノール：アセトニトリル：イソプロパノール=25：25：25：25 (v:v:v:v) + 0.2% ギ酸に置き換え、①で 6 回分析。
- ⑩ ②を再度実施します

- **使用する試薬は可能な限り高純度の試薬をしてください。**
- **超純水はガラス容器入りの市販品を避けて下さい**
- **使用する洗浄溶媒によっては臭気が充満しますので、換気にご注意ください。**
- **できる限り密栓できるように対策してください。**
- 
- 
- **メソッド例：SCIEX OS の場合**

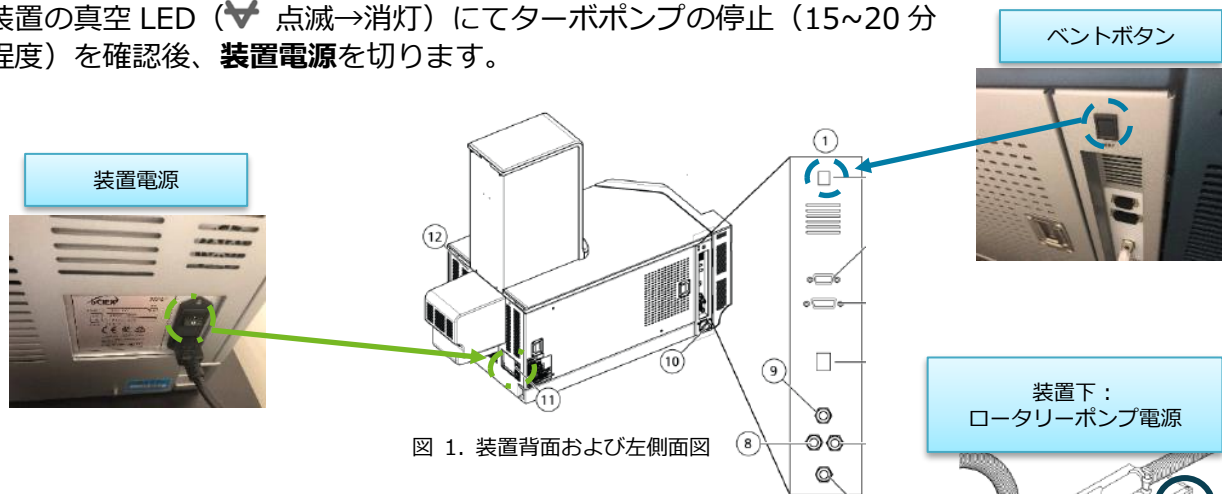
Injection Volume 50.0  $\mu$ L  
↑ Injection Volume はあらかじめ設定しておくとう便利です



## 7.3 MSシステムの再起動、停止および起動 (Shutdown & Startup)

### 7.3.1 ZenoTOF7600 及び X500 シリーズの装置停止手順

- ① 装置との通信が切断されていることを確認します。必要に応じて PC をシャットダウンして下さい。
- ② 装置正面から見て左側面の**ベントボタン** 3 秒程度を押して真空を解除します。
- ③ 装置の真空 LED (▼ 点滅→消灯) にてターボポンプの停止 (15~20 分程度) を確認後、**装置電源**を切ります。



- ④ 装置下の**ロータリーポンプ**の電源を切ります。
- ⑤ N2 や ZeroAir などの**ガス供給**を停止します。

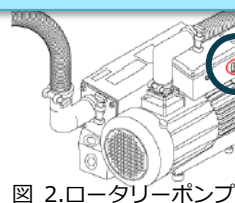
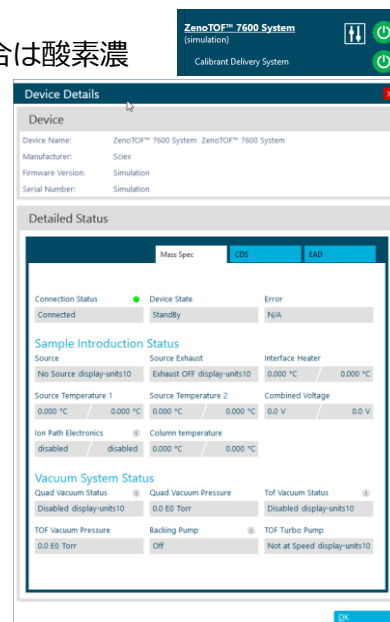


図 2.ロータリーポンプ

### 7.3.2 ZenoTOF7600 及び X500 シリーズの装置起動方法

- ① N2 ガスや Zero Air などを**供給**します。(N2 ジェネレータの場合は酸素濃度が安定するまで 約 10 分 お待ちください。)
- ② **ロータリーポンプ**を立ち上げ、15 分程度荒引してください (電源位置は形式により異なります)。
- ③ PC を立ち上げ、Log in してください。
- ④ MS 本体の装置電源を入れて下さい。ターボポンプが起動を始め、装置本体の真空 LED が ▼ 既定の真空度に到達すると点滅から点灯に変わります。
- ⑤ SCIEX OS software を起動し装置の状態を確認してください。ステータスパネルから ZenoTOF7600 system または X500 system を選択すると、TOF Vacuum Pressure にて真空度を確認してください。

\* 装置/機種などによって真空度は異なります。



◆SCIEX OS 各種マニュアルのご案内◆

以下サイトよりダウンロードできます。是非ご活用ください。

[https://sciex.jp/form-pages/manual\\_dl](https://sciex.jp/form-pages/manual_dl)

◆製品サポートのご案内◆

株式会社エービー・サイエックス / アプリケーションサポート部

- ご使用の装置名とシリアル番号をお伝えください。

Tel: 0120-318-551 Fax: 0120-318-040

E-mail: [jp\\_support@sciex.com](mailto:jp_support@sciex.com)

◆オンライントレーニング動画のご案内◆

弊社ホームページの下記サイトから、メンテナンス、ソフトウェアの使用法など、各種トレーニング動画を視聴できます。是非ご活用ください。(ユーザー登録無料)

- SCIEX Now™ホーム画面  
SCIEX ホームページ > support > SCIEX Now Dashboard  
<https://sciex.com/support#>
- SCIEX Now™ My Learning Hub  
SCIEX ホームページ > support > SCIEX Now Dashboard > My Learning Hub  
<https://training.sciex.com/#/dashboard>
- SCIEX Now™ コースカタログ  
SCIEX ホームページ > support > SCIEX Now Dashboard > My Learning Hub > カタログ