

SCIEX OS ソフトウェア

基本操作マニュアル

X500
QTOF システム

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	SCIEX OS Software の概要	6
1.1	SCIEX OS Software の起動、デザイン	6
1.2	SCIEX OS Software での分析 (Acquisition) ワークフロー	7
2	測定前の準備	8
2.1	使用する装置の選択 - Devices	8
2.2	質量分析装置の状況確認	9
2.3	キャリブレーション溶液の確認	9
2.4	システム確認の流れ	10
2.5	プロジェクトの作成	10
2.6	MS Check の実施	11
2.6.1	Positive Mode での MS check の実施	11
2.6.2	Negative Mode での MS check の実施	13
3	分析メソッドの作成とサンプル測定の開始	14
3.1	MS Method の作成方法	14
3.1.1	IDA メソッドの作成	15
3.2	LC Method の作成	18
3.3	流路切り替えバルブの設定 (オプション)	20
3.4	システムの平衡化	21
3.5	Batch - 連続分析のための情報入力	21
3.5.1	Batch の起動と入力	21
3.5.2	CDS を使用した自動補正の追加	22
3.6	LC-MS 分析の開始	23
3.7	Queue の確認	23
4	Explorer によるデータ解析	26
4.1	はじめに	26
4.2	クロマトグラムからの解析	27
4.2.1	Standard TIC を用いた解析 (IDA)	27
4.2.2	UV 等の解析	28
4.2.3	TIC の表示と Background の減算、スペクトルの平均	30
4.2.4	BPC および XIC クロマトグラムの解析、その他の機能	31
4.3	IDA Explorer からの解析	34

4.3.1	縦軸の切り替え、リスト表示	35
4.3.2	Table 表示.....	35
4.3.3	スペクトルの統合 (Merge)	36
4.3.4	Filtering	37
4.3.5	IDA Explorer を用いた目的物質の MS, MS/MS, XIC の表示	38
4.3.6	Fragment Matching (共通のフラグメントを持つプリカーサーイオンの検索)	39
4.4	組成分析 (Formula Finder).....	40
4.5	フラグメントの帰属 (Fragments Pane)	46
4.6	Mass Calculators について.....	49
5	Analytics によるデータ解析	50
5.1	検索に使用する Library の準備	50
5.2	はじめに	50
5.2.1	初期設定の変更	50
5.3	定量解析とターゲットスクリーニング.....	52
5.3.1	解析メソッドの作成.....	52
5.3.2	結果の確認	58
5.3.3	スクリーニング結果の確認	63
5.4	ノンターゲットスクリーニング	69
5.4.1	解析メソッドの作成.....	69
5.4.2	結果の確認	71
5.5	ライブラリー追加方法	74
5.5.1	ライブラリーファイルの新規登録.....	74
5.5.2	MS/MS の登録	74
6	MS Tune の実施.....	76
6.1	準備	76
6.2	Tuning Procedures の構成	76
6.3	Positive/Negative Quick Status Check	77
6.4	Detector Optimization.....	77
6.5	Positive/Negative TOF MS Tuning	78
7	その他 - MRM HR メソッドの作成と解析	80
7.1	MS Method の作成	80
7.1.1	MRM HR メソッドの作成.....	80
7.1.2	sMRM HR (scheduled MRM HR) メソッドの作成	82

7.1.3	Guided MRM HR を使用したトランジションの作成	83
7.2	MRM HR の定量解析	85
7.2.1	初期設定の変更	85
7.2.2	解析メソッドの作成-1 Fragment Mass 固定	85
7.2.3	結果の確認	86
7.2.4	解析メソッドの作成-2 Fragment Mass の自動選択	87

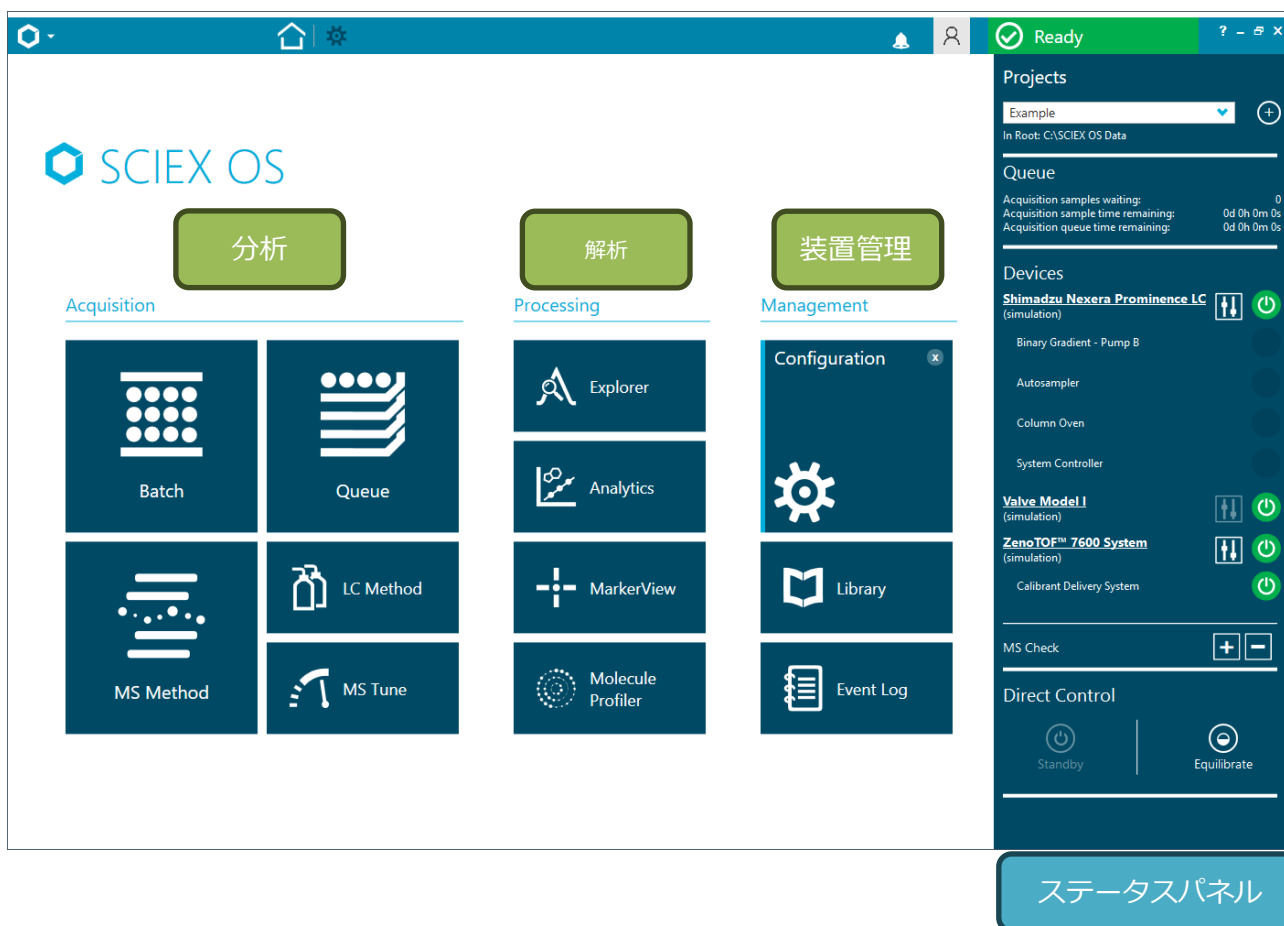
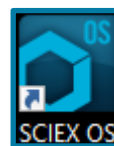
※ 操作方法の詳細は、SCIEX OS Software の Help メニューからご覧いただけます。

1 SCIEX OS Software の概要


1.1 SCIEX OS Software の起動、デザイン

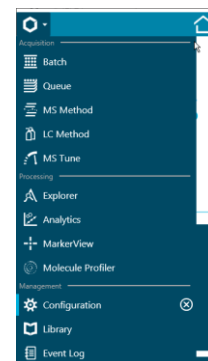
SCIEX OS Software ホーム画面は、右図アイコンより SCIEX OS を起動すると、下図左のような画面構成で表示されます。

接続中のハードウェアの情報を表示する「ステータスパネル(右)」は右上のステータス(図中の  Ready の部分)を選択すると開きます。



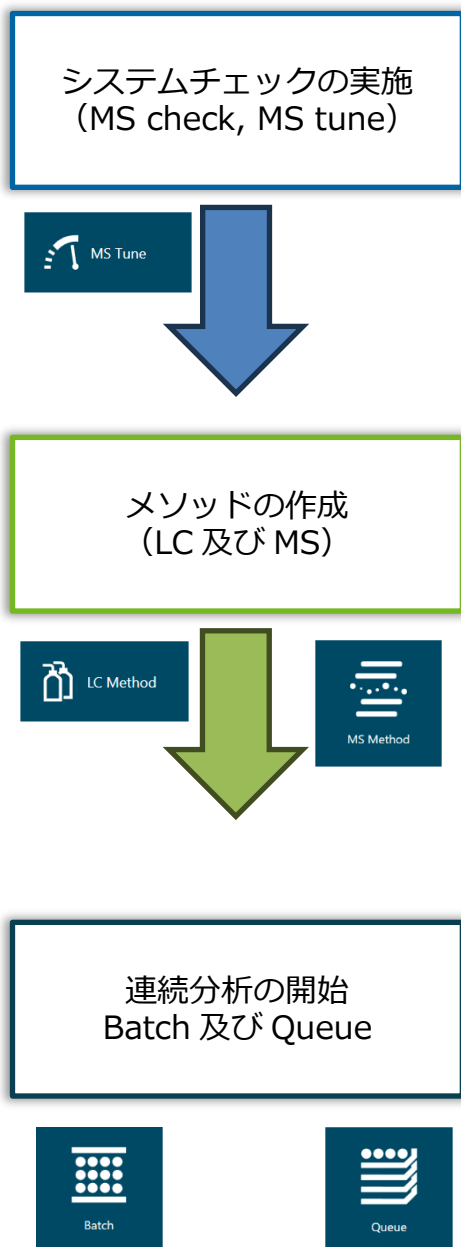
SCIEX OS Software ホーム画面の構成

- Acquisition : 装置調整、測定メソッド、バッチを作成等、データ取得に関する機能。
 - Processing : 定性、定量解析、ライブラリー検索に関わる解析に関するデータ解析機能。(MarkerView, Molecule Profiler はオプション機能です)
 - Management : 機器ログやライブラリー管理、ユーザー登録等を行うマネージメント機能。
 - ステータスパネル (Status Panel) : システム制御や確認、その他ショートカット機能を含みます。
- ホームボタンアイコン () は各機能へ直接切り替えるためのショートカットとして使用できます (右図)。
- * ライセンスの導入状況で、表示が異なります。(左図 : MarkerView, Molecule Profiler など)



1.2 SCIEX OS Softwareでの分析 (Acquisition) ワークフロー

SCIEX OS を用いた分析では、前項の分析 (Acquisition) の各項目を使用してデータ取得を行います。下図は分析までのおおまかな流れをお示ししています。



・ LC, MS システムの各部確認

使用するシステムの PC への接続確認、MS システム、イオン源、キャリブレーション溶液、カラム、配管の接続

・ システムチェック

MS check、MS tune、MS 本体のインジケータ確認

・ LC Method 作成

使用する HPLC のタイプ (conventional, Analytical, MicroLC, nanoLC)、移動相組成、グラジエント時間・勾配、オートサンプラー温度・洗浄、カラムオープンの温度、UV/PDA の設定

・ MS method の作成

イオン源タイプ : TwinSpray (ESI あるいは APCI)、OptiFlow (micro flow あるいは nano flow)、その他

メソッドタイプ : TOF MS、TOF MSMS、IDA (DDA)、SWATH (DIA)、MRMHR

・ Batch の作成

Batch 作成方法 : 手入力、Quick Batch、Plate Layout、Auto Calibrate、Batch の submit

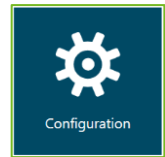
・ Queue のモニター

分析のリアルタイムモニター、連続分析・解析の進行状況、分析・解析結果の確認

2 測定前の準備

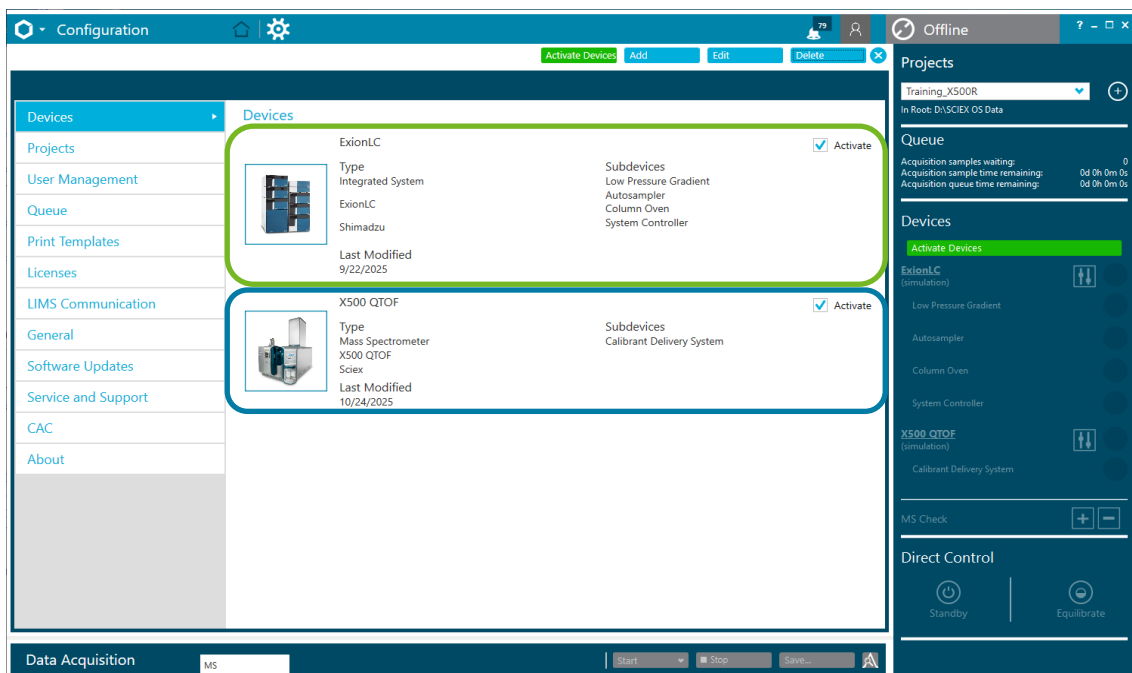
分析を開始するにあたり、事前の準備を行ってください。この章では、必要な項目を順に記載します。

2.1 使用する装置の選択 – Devices

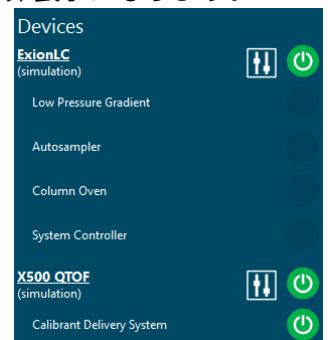


測定前の準備として、MS と LC など使用する周辺機器の選択や接続設定の確認を行います。

- ① ホーム画面より「Configuration」を選択し、左の項目より Devices を選択します。
- ② MS システム (X500 QTOF) 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 (例 : **Ready**) はクリックを繰り返すことで表示/非表示になります。
- ステータスはアイコンで状態が確認できます。
 - 水色 : Running → 測定中
 - 緑 : Standby → 正常
 - 赤 : Fail → 接続状態を確認してください。
- 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。
- LC デバイス右の 「Direct Device Control」を選択すると、LC システム単体を制御することができます。詳細は別冊の補足資料をご参照ください。



- ③ Configuration の画面は右上の を選択して画面を閉じます。

※ 「Configuration」のその他の設定は別冊の補足資料をご参照ください。

2.2 質量分析装置の状況確認

本体のインジケータから MS 本体の状態を確認できます。各表示は以下のようになっています。

LED					
名称	電源	真空度	Ready	測定中	Fault



2.3 キャリブレーション溶液の確認

システム確認 (MS check) や分析中の自動校正機能 (Auto Calibrate) に使用する標準溶液の準備・確認を行います。装置正面にある、Calibrant Delivery System「CDS」に付属した PP ボトルに設置または補充します。

- 標準的なボトルの配置：**1 (左) - Positive 用、2 (右) - Negative 用**
- ボトルを外す際は手袋を着用して下さい。

① 本体正面のボトル内のキャリブレーション溶液の残量を確認して下さい。

- 残量はボトルの 1/3 程度以上あるのが望ましいです。
- 標準溶液の残量が少ない場合はボトルを取り外して補充して下さい。
- 下記の弊社標準溶液ボトルは、そのまま取り付けることもできます。

* ボトル内のチューブ (2本) には素手で触れないようにご注意ください。標準溶液の汚染の原因になります。



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)

溶液の追加直後や極性切り替え時や、しばらく使用していない場合はパージを行って下さい。

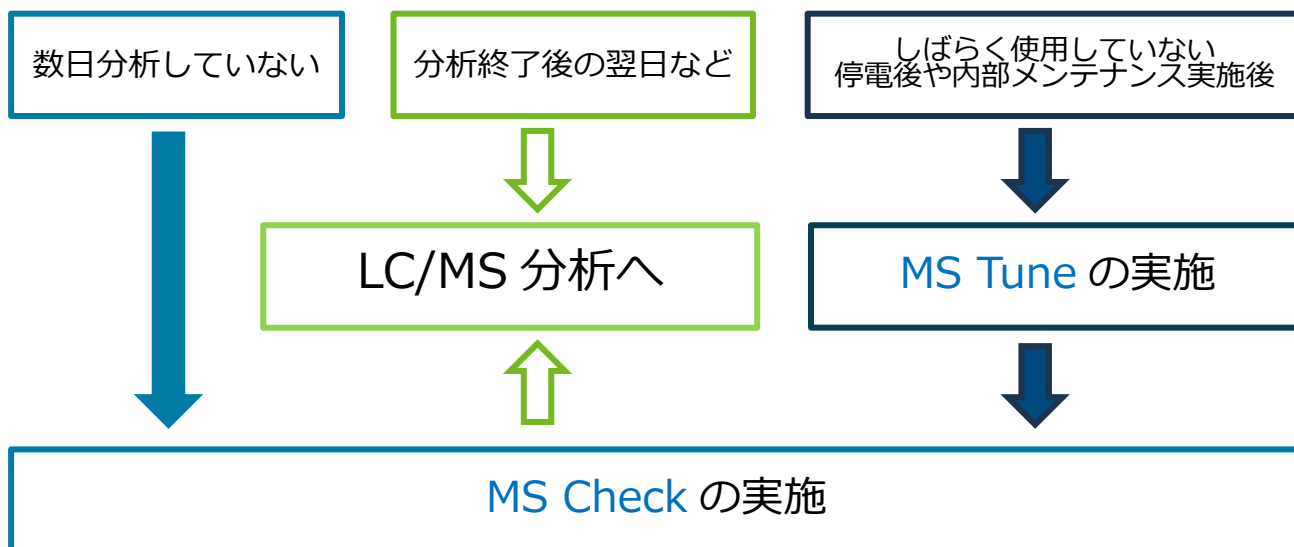
CDS ポンプの配管も気泡が発生して、安定した送液ができない場合があります。CDS のパージを行うために、以下の作業を実施して下さい。

※ 詳細は【2.6 MS Check】をご参照ください。

2.4 システム確認の流れ

分析を行う前にシステムの御使用状況をご確認ください。前回の使用からの装置の変化や、分析前の質量校正を行って頂くことで、システムの状態確認に役立ちます。

下図は分析前の状況に応じた実施項目の流れをお示しております。



MS Check では質量校正とシステムチェックを自動的に行い、レポートが作成できます。レポートを保存頂き状況確認、及びシステムログとしてもご利用いただけます。

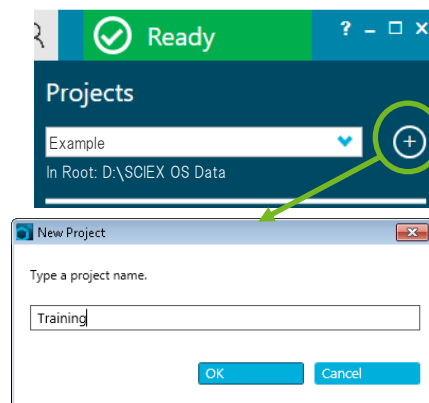
* 感度は、MS システム導入時の MS Check や MS Tune の結果、あるいはお客様の標品などで確認を行い指標にすることを お勧めします。

2.5 プロジェクトの作成

これから開始する分析のメソッドやデータなど、それらのファイルを格納するフォルダ「プロジェクト」を作成します。プロジェクトは「D:\SCIEX OS Data」以下に作成されます。

プロジェクトは任意の名前で作成でき、SCIEX OS Data フォルダ内に保存されます。フォルダ内には各機能のサブフォルダが自動作成されます。

- ① SCIEX OS 画面の上部右上（例： Ready）を選択し、ステータスパネルを開きます。
- ② 新規プロジェクトを作成する場合は右の を選択します。
 - 既に作成済みのプロジェクトを選択する場合は、プルダウンメニューから選択できます。
- ③ New Project パネル内で、新規プロジェクトの名称を入力し、 を選択します。





2.6 MS Check の実施

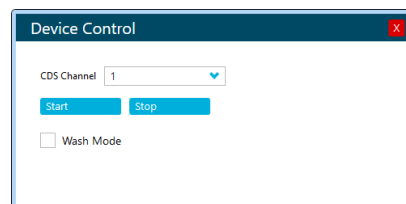
MS check を実施頂くことで分析前に装置の状態を確認し、質量補正もあわせて実施します。分析に使用する極性（ポジティブおよび／あるいはネガティブ）で実施して下さい。

MS check は分析精度や感度を確認できる指標の一つにすることができます。実施頻度は多いほど分析結果の信頼性の担保に役立ちます。一連の分析前に実施頂くことをお勧めします。

2.6.1 Positive Mode での MS check の実施


■ MS check の準備

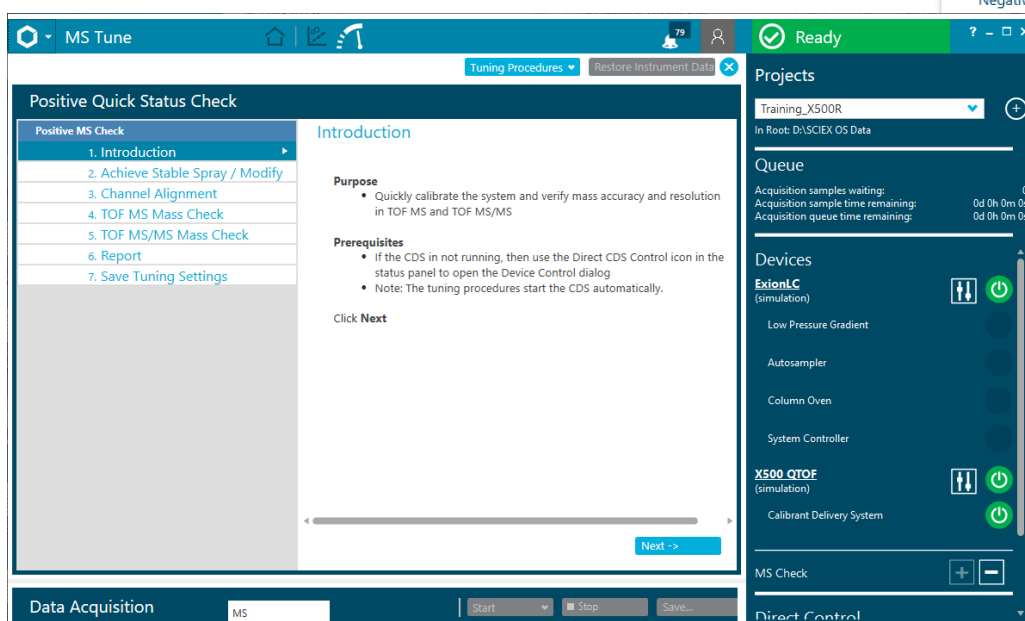
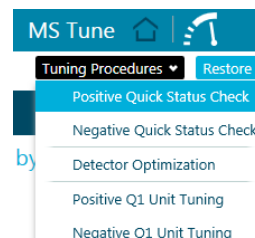
- ① ステータスパネルを開き、「X500」横にある、 アイコン「Direct CDS Control」を選択します。
- ② Device Control（右図）で CDS Channel は 1 を選び、**Start** をクリックして、 を選んで閉じます。



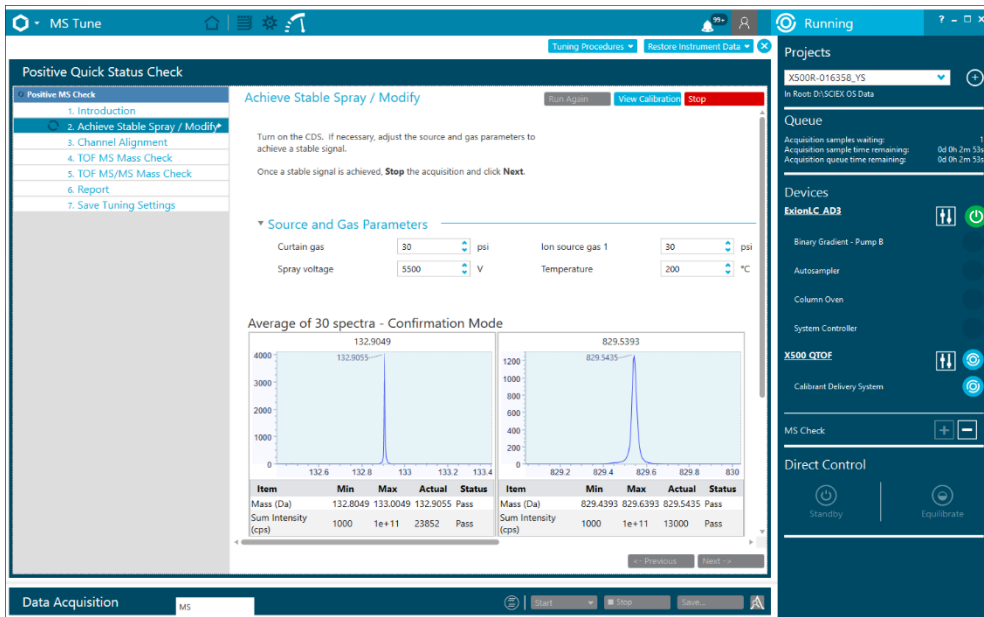
- CDS channel : 1 : Positive、2 : Negative
- パージを実施する場合は「 Wash Mode」に✓するとパージが開始されます。
- パージは 2 分程度行ってください。十分でない場合は追加でパージを行います。
- チェックを外すとパージは終了します。

■ MS check 開始

- ① ステータスパネルにある MS Check の  アイコンを選択します。
 - ホーム画面の「MS Tune」を選択して右上の「Tuning Procedures」より、「Positive Quick Status Check」を選択しても、同様の操作が可能です。
 - パージしていない場合は、メッセージが表示され、自動でパージされます。
- ② 「Positive Quick Status Check」の画面が開いたら、**Next ->** を選択します。




③ CDS が動作し自動的にサンプルが導入されます。TIC が安定するまで数分待ちます。



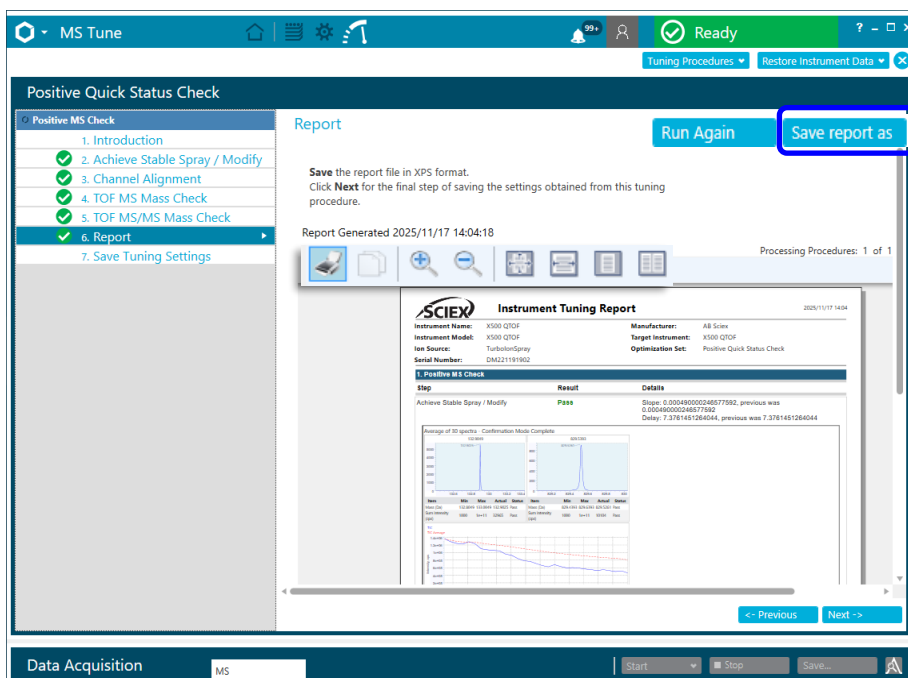
- 30 スペクトル程度で自動的に次の項目に移行します
- Intensity や resolution などの数値を御確認下さい。

④ 以降の項目、「Channel Alignment」、「TOF MS Mass Check」、「TOF MS/MS Mass Check」も自動的に進みます。

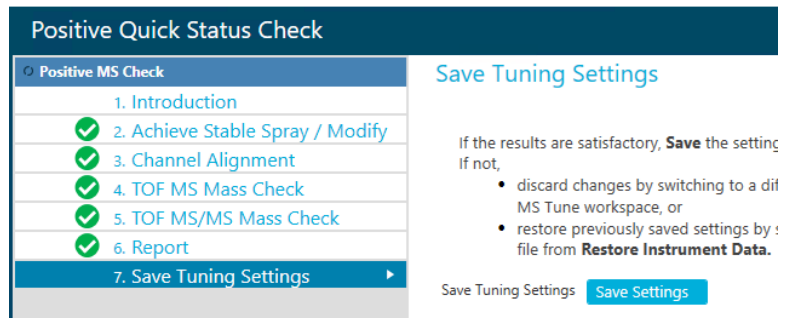
⑤ 下図「Report」で Pass  が表示されたら、必要に応じて **Save report as** よりレポートを保存し、右下の **Next ->** を選択してください。

- お使いのプロジェクト内、あるいは Desktop 等にフォルダを作成して適宜保存して下さい。

● レポート例：



- ⑥ 「Save Tuning settings」にて設定を保存する場合は、**Save Settings** を選択します。



- ⑦ 画面上部の ✕ を選択して画面を閉じます。

➤ この画面を閉じると CDS ポンプの送液は自動的に停止します。

■ MS check で「Fail」が表示された場合

右図のように、左のナビゲーション表示で Fail ✕ が表示された場合は、閾値に達しなかった項目があります。この場合、✕ となった上の項目「TOF MS Mass check」より順に再度実施します。



- ① 「TOF MS Mass Check」を選択し、**Manual Calibrate Start** をクリックします。成功すると次の「TOF MS/MS Mass Check」まで自動で進みます。

➤ いずれも Pass ✓ が表示されたら次に進みます。
➤ 再度 Fail と表示された場合は「MS Tune」にて MS 全体の調整を行う必要があります。

- ② 全ての項目で Pass ✓ になったら、必要に応じて **Save report as** よりレポートを保存します。

- ③ 終了したら画面上部の ✕ を選択し、メッセージ表示後 Yes を選んで画面を閉じます。

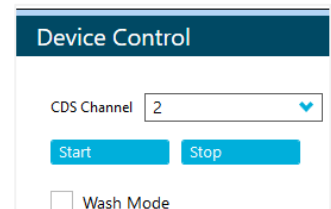
2.6.2 Negative Mode での MS check の実施

■ MS check の準備


- ① ステータスパネルを開き、「X500」横にある、 アイコン「Direct CDS Control」を選択します。

- ② Device Control で、CDS Channel は **2** を選び、ページを実施する場合は Wash Mode にチェックして 2 分以上ページして下さい。ページが終了あるいは不要な場合は **Start** をクリックしてポンプを動作させます。

➤ Positive Mode から連続して操作する場合や、使用開始時はページが必要です。Wash Mode にて、2 分以上実施して下さい。



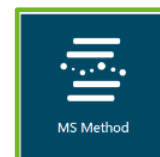
■ MS check 開始

- ① ステータスパネルにある MS Check の  のアイコンを選択します。

➤ 「MS Tune」の「Tuning Procedures」より、「Negative Quick Status Check」も同様です。

- ② 「Negative Quick Status Check」の画面が開いたら、**Next ->** を選択します。

※ 以降の操作は前述の Positive Mode を参考に実施してください。



3 分析メソッドの作成とサンプル測定の開始

この章では、分析を行う際に使用する分析メソッドの作成法を解説します。

3.1 MS Method の作成方法

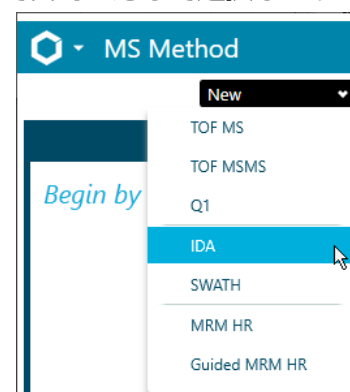
MS Method は様々なメソッドタイプが選択できますので分析タイプに応じて必要な情報を設定します。

- * Training では IDA について解説します。
- * それ以外の測定法は別冊の補足資料をご参照ください。

■ MS メソッドの種類

以下は、“網羅性”を目的とした分析法です。それぞれ特徴がありますので目的に応じて選択します。

- **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）



以下は定量および構造解析を目的とした分析法です。

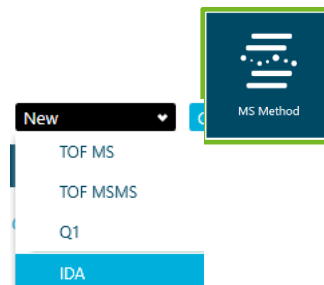
- **MRM HR** - TOF MS と TOF MSMS をあらかじめ組み込んだメソッド。プリカーサーイオンの精密質量情報と特定成分の MS/MS 情報を連続取得します。
- **Guided MRM HR** - 特定成分の高感度 MS/MS 分析条件を最適化するために、標準品を使用したメソッド作成支援機能。

3.1.1 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。

■ メソッド作成の流れ

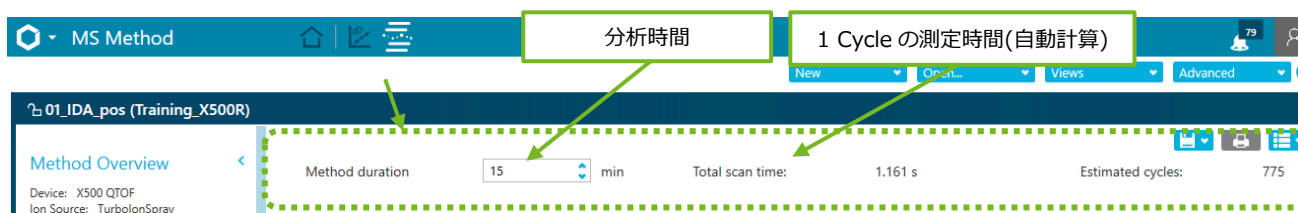
- ① ホーム画面上の「MS Method」を選択し、右上の **New** から IDA を選択します。



■ 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設定します。

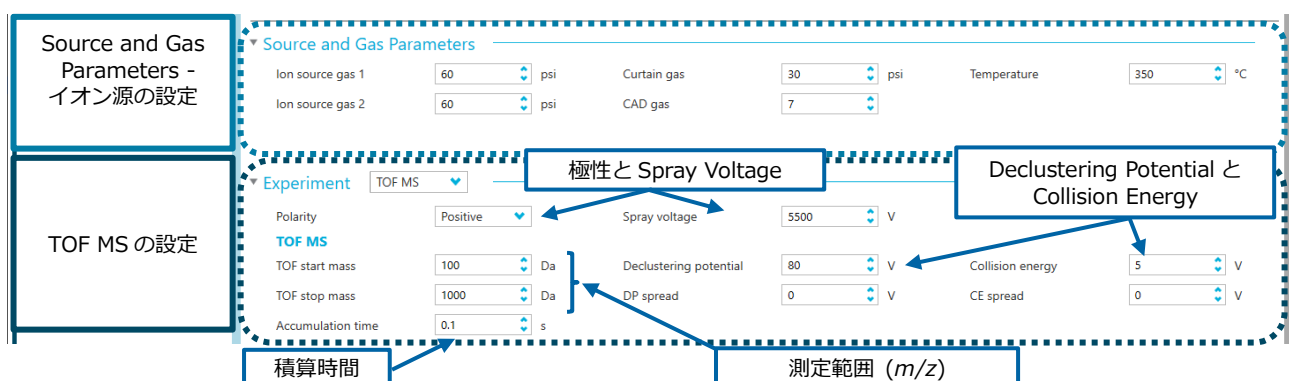
* Training では下図を参考に設定します。

- ③ Source and Gas Parameters の項目では下図を参考に設定しますが必要に応じて変更してください。

- 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 (DP) 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考慮して入力します。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ので適宜変更してください。

- 「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 (uL/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 を取得するピークの選択) は、下図を参考に設定します。

Maximum candidate ions :
最大 MS/MS 数 : 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)

■ 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。

IDA: Inclusion List

Include the following candidate ions

	Compound name	m/z (Da)	Retention time (min)	Retention time tolerance (+/- sec)
1		609.2807	5.00	30

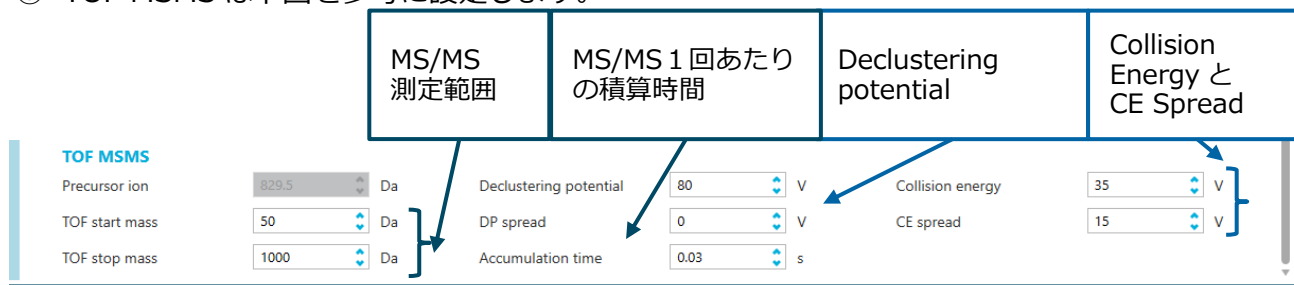
Intensity 10 cps

OK Cancel

※ IDA criteria のこれ以外の設定は別冊の補足資料をご参照ください。

■ 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。



■ CE Spread の設定

- 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。


■ Total Scan Time の確認

- 「Total Scan Time」は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。

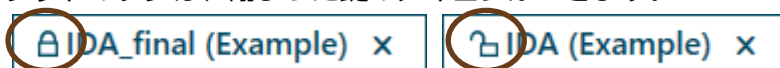
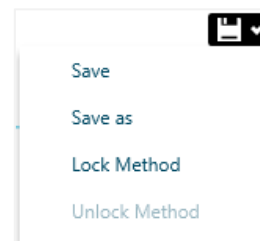


- Total scan time：1 サイクルに必要な時間。1 サイクルは MS と MS/MS の全測定と切り替え時間等が含まれます。上記の例：TOF MS + TOF MS/MS = 0.1 秒 + 0.6 秒 (0.03 * 最大 20 ピーク) + α = 約 0.8 秒 / 1cycle

■ 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。

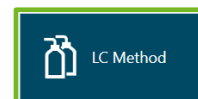
- 「Save」は上書きする場合。
- 「Save As」は名前を付けて新規保存する場合。
- 「Lock Method」は保存後、メソッドを変更できない状態で保存する場合です。Lock されたメソッドのタブは、閉まった鍵のアイコンが付きま。



Lock されたメソッド

通常のメソッド

3.2 LC Method の作成



ここでは SCIEX Exion AC, AD, AE シリーズ及び島津社製 LC を接続して、LC-MS 分析に使用する際の LC メソッド作成画面を解説します。

- ① ホーム画面より、「LC Method」を選択します。
- ② 右上の New を選択すると、「LC Method」作成画面が表示されます。
 - LC システムに含まれるモジュールによって構成が異なります。「使用する装置の選択 - Configuration」で選択した設定に含まれるモジュールが、タブ表示で設定画面が表示されます。

■ 注入量およびポンプ (Binary Gradient) の設定

- ③ 注入量を Injection Volume で設定します。
- ④ 「Binary Gradient」タブは下図を参考に、Binary Gradient では初期条件 (B.Conc に入力)、分析時間、分析プログラム等を設定します。
 - 初期条件を左下で設定します。流速 0.2 mL/min, 5%B, Pressure Limit Maximum (ご使用のポンプを御確認下さい)。下図は UHPLC タイプ (<130MPa) を使用しています。

Injection Volume: 10.0 µL

Binary Gradient | Autosampler | Column Oven | System Controller

AD Pump | Binary Gradient

Stop time: 15.00 min

Flow: 0.2000 mL/min

A.Conc: 95.0 %

B.Conc: 5.0 % | B.Curve: 0

Pressure limits: Minimum: 0.0 MPa | Maximum: 130.0 MPa

Gradient

Advanced (selected) | Simple

	Time	Flow	A.Conc	B.Conc	B.Curve
1		0.2000	95.0	5.0	0
2	5.00	0.2000	5.0	95.0	0
3	10.00	0.2000	5.0	95.0	0
4	10.01	0.2000	95.0	5.0	0
5	11.01	0.2000	95.0	5.0	0
6					

Compressibility settings

Compressibility settings

Compressibility (/GPa)

Mobile phase A: Water | 0.45

Mobile phase B: Acetonitrile | 1.20

-Autopurge settings-

- 右の Gradient を開いて勾配プログラムを作成します。
- Compressibility Settings では溶媒の圧縮率を選択することができます。

■ オートサンプラーの設定

⑤ Autosampler タブは下図を参考に設定を行います。

Injection Volume μL

Binary Gradient Autosampler Column Oven System Controller

AD Autosampler Direct injection

Autosampler

Injection settings

Sampling speed: $\mu\text{L/s}$

Cooler temperature: $^{\circ}\text{C}$

Rinse settings

Rinse type: External only

Refer flow channels...

External

Rinse mode: Before and after aspiration, Dip time:0s

Rinse pump method: Rinse pump, then Port, Time:2s

- Sample rack settings

Injection settings

Control vial needle stroke: mm

Air gap volume: μL

- Acquisition cycle time optimization

- Rinse settings

- Purge settings

- Autopurge settings

- サンプル温度は 10℃ に設定していますが、サンプルに応じて変更して下さい。
- Rinse type の「External only」では、ニードルの外側を洗浄します。
 - Rinse mode は、洗浄ポートを使って浸漬洗浄を行います。サンプル分取前後に浸漬洗浄する場合は「Before and after aspiration」を選択します。R0 の溶媒を使用します。
 - Rinse pump method では、リンスポンプで溶媒を流しながら洗浄します。R3 の溶媒を使用します。
- バイアルへのニードルの差し込み高さは標準の 52mm を使用。
- 右側の Sample Rack Settings 等を選択すると各種設定が表示できます。

■ カラムオーブンの設定

⑥ カラムオーブンタブではカラムオーブン温度等を設定します。

- Oven temperature (カラム温度) は 40℃
- 温度が安定するまで分析を開始しないように、「Wait for temperature equilibration before run」を選択しておきます。

Pump Autosampler Oven System Controller

Column Oven A: CTO-40S

Column Oven A

Oven temperature: $^{\circ}\text{C}$

Temperature limit(Maximum): $^{\circ}\text{C}$

Ready check: On
Wait time:0min
Ready range:1.0 $^{\circ}\text{C}$

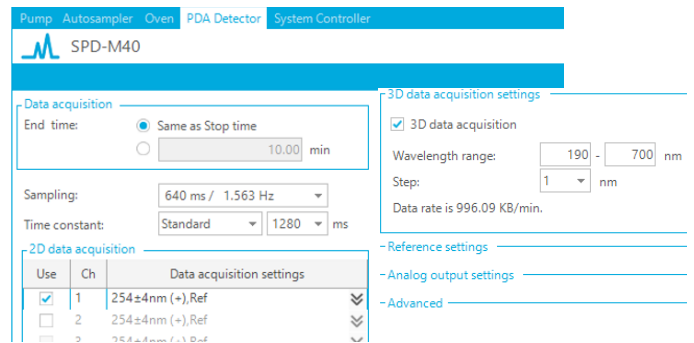
- Oven A - Advanced


Wait for temperature equilibration before run

Wait time: min

Ready range: $^{\circ}\text{C}$

- ⑦ UV または PDA が付属されている場合はそのタブをクリックして設定を行います。



- ⑧ 設定終了後、 アイコンよりオプションを選択して「LC Method」を保存して下さい。

- 「Save」は上書きする場合。
- 「Save As」は名前を付けて新規保存する。
- 「Lock Method」は保存後、メソッドを変更できない状態で保存します。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。

3.3 流路切り替えバルブの設定（オプション）

MS 本体の正面にある流路切り替えバルブを使用して、サンプルに含まれる塩などの除去ができます。使用には Devices 内の「Configuration」の設定に Valco Valve を含む必要があります。

- カラム／光学検出器から出た配管を、バルブを経由してイオン源上部のアースユニオンへ配管する必要があります。
- 流路切り替えバルブは装置本体のボタンで流路の切り替えができます。B の位置で廃液に流れるよう配管されているか、あらかじめご確認ください。
- バルブ切り替え時間と位置設定は LC メソッド内で行います（下図）。



- ① LC メソッドを開き、左側にある Valve : [Valve Model] を選択します。
- ② 右に現れる時間設定の項でバルブを切り替える時間を入力します。下図は A ポジション（to MS）、B ポジション（to Waste）の設定例です。
 - Position は A および B が交互になるよう設定します。
 - 測定開始後 0-1 分及び 11-15 分を MS に入れない設定例です。終了時間は不要、あるいは分析時間よりやや短めに設定します。


IntegratedSystem : ExionLC	
Time (min)	Position
0	B
1	A
11	B

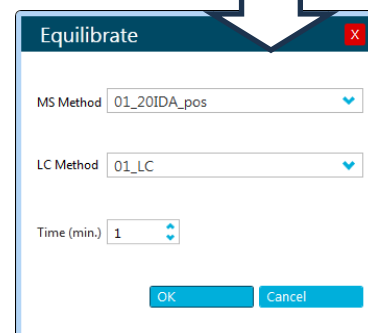
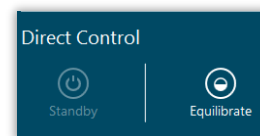
- ③ 設定終了後、 アイコンよりオプションを選択して「LC Method」を保存して下さい。

- 「Save」は上書きする場合。
- 「Save As」は名前を付けて新規保存する。
- 「Lock Method」は保存後、メソッドを変更できない状態で保存します。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。

3.4 システムの平衡化

あらかじめ LC 送液を開始し、カラムオープン、MS イオン源温度を設定値まで加熱し、システム全体を平衡化します。

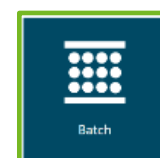
- ① ステータスパネルの Direct Control より、「Equilibrate」を選択します。
- ② これから分析で使用する MS Method および LC Method を選び、平衡化時間（Time：任意）を選択し OK を選択します。
- ③ LC の溶媒が流れ、ガスやターボガスの加熱が始まります。
 - 任意に設定した時間経過後、ステータスパネルは  Ready に変わります。



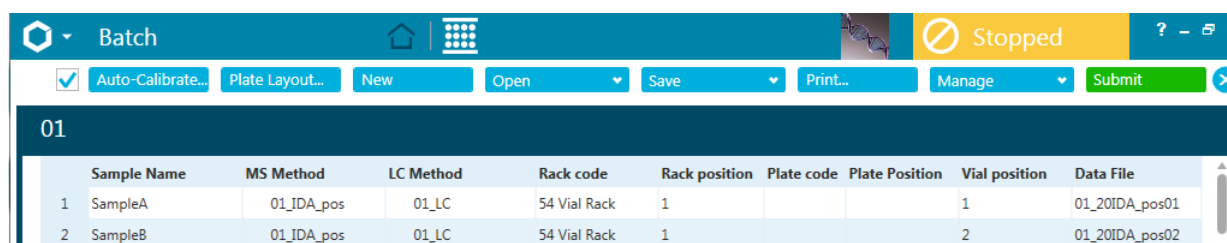
3.5 Batch - 連続分析のための情報入力

3.5.1 Batch の起動と入力

分析する一連のサンプルについての情報を入力します。



- ① ホーム画面上の「Batch」を選択します。
- ② 1 行目より必要な情報を入力してください。
 - 「Sample Name」「Data File」にサンプル名やファイル名を入力します。
 - 「MS Method」～「Plate Position」はプルダウンメニューから設定を行ってください。
 - 「Vial Position」はプルダウンメニュー、もしくは手入力（コピー可）にて設定を行ってください。
 - 「Data File」は同一名を使用せず、別名になるよう設定してください。
 - 「Data File」にサブフォルダを使用する場合は「\（バックスラッシュ）」で区切ります。




	Sample Name	MS Method	LC Method	Rack code	Rack position	Plate code	Plate Position	Vial position	Data File
01	1	SampleA	01_IDA_pos	01_LC	54 Vial Rack	1		1	01_20IDA_pos01
	2	SampleB	01_IDA_pos	01_LC	54 Vial Rack	1		2	01_20IDA_pos02

【注意】 特殊文字（スペース+ - * . , @ # % / & ^()など）の使用は推奨していません。

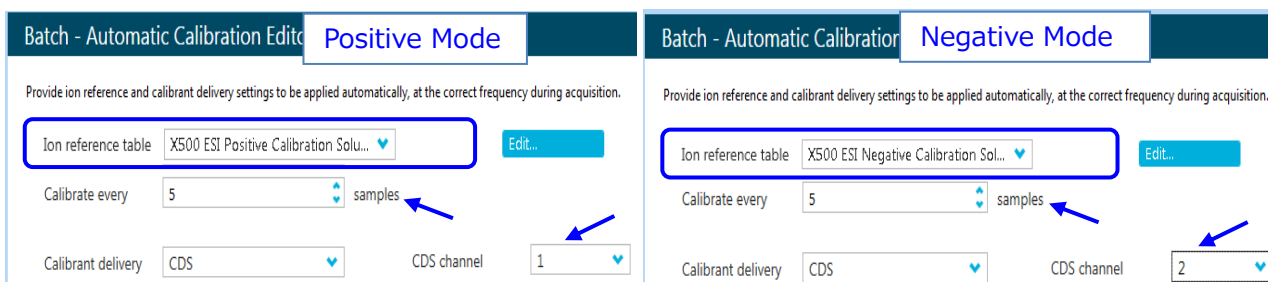
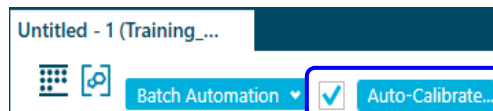
Software によって Data が開かないなど、不具合が起きる場合がありますので、使用されないことを強く推奨します。以下にも類似の例がありますのでご参照ください。

<https://support.microsoft.com/ja-jp/kb/826763>

- ③ 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。
 - Export を選択すると.txt あるいは.csv で保存できます。表はコピーペーストで excel 等への張り付け、そこからのコピーペーストも可能です。

3.5.2 CDS を使用した自動補正の追加

- ① 分析間で自動質量補正を追加する場合は、**Auto-Calibrate...** 左にチェックを入れ、**Auto-Calibrate...** を選択し、下図を参考に設定してください。
- ② 「Ion Reference table」では、分析条件に合わせて「X500 ESI Positive / Negative Calibration Solution」を選択してください。これと併せて、右下の「CDS channel」は Positive = 1, Negative = 2 に設定して下さい。
- ③ 「Calibrate every」は指定したサンプル数の分析毎に Auto Calibrate を実施します。
- ④ 「Calibrant delivery」は CDS を選択し、OK をクリックします。



- ⑤ **Edit...** では、自動補正に使用するイオンを変更できます。以下の Tips をご参照ください。
* Training では実施しません。

■ [Tips] Ion reference table の編集

LC 条件等によりイオン強度が変化することがあります。分析の際特定のイオン強度が低く Cal がパスできない場合は該当するイオンの Use のチェックを外します（下記例：X500 ESI Positive Calibration solution）。

Ion Reference Table Editor					
Provide ion reference details for the calibration settings					
Name: X500 ESI Positive Calibration Solu...		New Copy Delete			
<input checked="" type="radio"/> Positive <input type="radio"/> Negative					
Reference Ions for TOF MS Calibration:					
Use	Compound Name	Precursor m/z (Da)	Use for MS/MS	CE for MS/MS	DP for MS/MS
<input type="checkbox"/>	Csl	132.90490	<input type="checkbox"/>	10	50
<input checked="" type="checkbox"/>	amino-dPEG 4-acid	266.15981	<input type="checkbox"/>	30	50
<input checked="" type="checkbox"/>	amino-dPEG 6-acid	354.21224	<input type="checkbox"/>	30	50
<input checked="" type="checkbox"/>	amino-dPEG 8-acid	442.26467	<input type="checkbox"/>	30	50
<input checked="" type="checkbox"/>	reserpine	609.28066	<input checked="" type="checkbox"/>	45	50
<input checked="" type="checkbox"/>	ALILTLVS	829.53933	<input type="checkbox"/>	40	50
<input checked="" type="checkbox"/>	ALILTLVS + Cs	961.43696	<input type="checkbox"/>	30	50
<input checked="" type="checkbox"/>	Heptakis(2,3,6-tri-O-methyl)-β-cyclodextrin + N...	1446.73224	<input type="checkbox"/>	30	50
<input checked="" type="checkbox"/>	Heptakis(2,3,6-tri-O-methyl)-β-cyclodextrin + Cs	1561.60332	<input type="checkbox"/>	30	50
<input checked="" type="checkbox"/>	Triacetyl-β-cyclodextrin + NH3	2034.62545	<input type="checkbox"/>	30	50
<input type="checkbox"/>	Triacetyl-β-cyclodextrin + Cs	2149.49653	<input type="checkbox"/>	30	50
<input type="checkbox"/>			<input type="checkbox"/>		

Reference Ions for MS/MS Calibration: (product of 609.28066 Da)		
Use	Fragment Name	Fragment m/z (Da)
<input checked="" type="checkbox"/>	C11H12NO	174.09134
<input checked="" type="checkbox"/>	C10H11O4	195.06519
<input type="checkbox"/>	C13H18NO3	236.12812
<input type="checkbox"/>	C22H25N2O3	365.18597
<input checked="" type="checkbox"/>	C23H29N2O4	397.21218
<input checked="" type="checkbox"/>	C23H30NO8	448.19659
<input type="checkbox"/>	C33H40N2O9	609.28066
<input type="checkbox"/>		


- MS/MS の reference ion は、「Use for MS/MS」で選択されたものを使用します。
- Save より Batch を保存します。変更は次回の分析以降にも反映されます。

3.6 LC-MS 分析の開始

前項で作成した「Batch」を使用して、LC-MS 分析を開始します。

- システムの平衡化後、Queue は待機状態になっています。Submit 後は自動的に分析が開始されます。

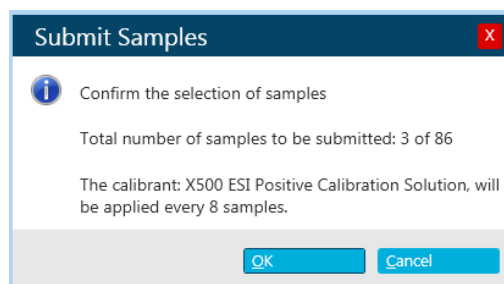
① サンプルを Vial Position で入力したポジションにセットします。



	Sample Name	MS Method	LC Method	Rack Type	Vial Position	Injection Vol...	Data File	Comment
1	test	IDA_Pos	InertSustain Amide	1.5mL (105 vial)	24		5.0 Test\gly_01	
2	test	IDA_Pos	InertSustain Amide	1.5mL (105 vial)	24		5.0 Test\gly_02	
3	test	IDA_Pos	InertSustain Amide	1.5mL (105 vial)	24		5.0 Test\gly_03	
4	test	IDA_Pos	InertSustain Amide	1.5mL (105 vial)	24		5.0 Test\gly_04	

② すべてのサンプルを測定する場合は、右上の **Submit** ボタンをクリック、一部のサンプルを測定する場合はその行を選択してから **Submit** をクリックします。下図のようなメッセージが現れ、OK を選択すると、転送されます。

- 分析数や Auto Calibrate の内容を確認します。Batch の入力行数に対して、submit した行数が表示されます。Auto Calibrate の頻度も併せて表示されます。

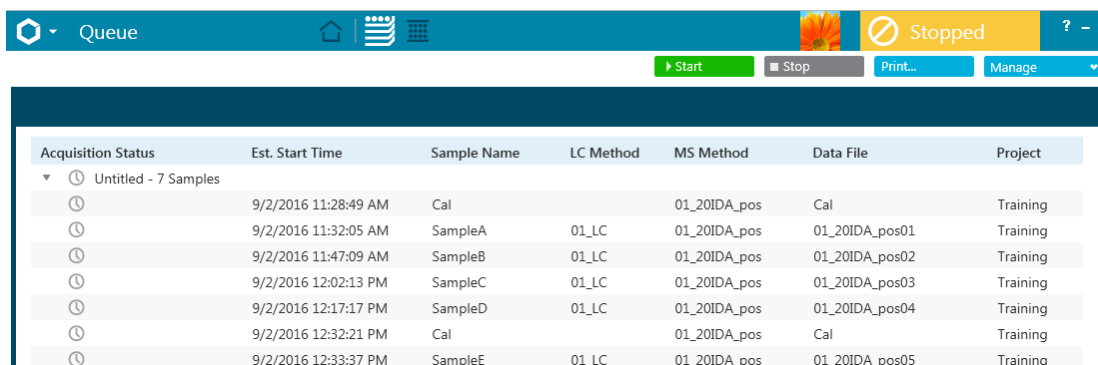


3.7 Queue の確認

「Queue」では、Batch から submit した連続分析の開始 / 再開、終了、分析状況の確認ができます。



① ホーム画面上の「Queue」を選択すると下図画面が開きます。

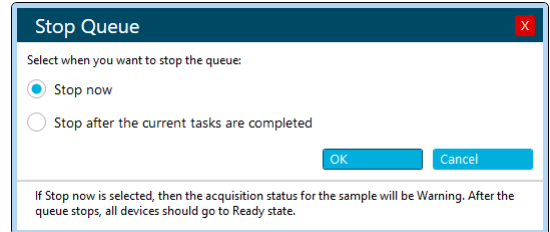


Acquisition Status	Est. Start Time	Sample Name	LC Method	MS Method	Data File	Project
▼ Untitled - 7 Samples						
🕒	9/2/2016 11:28:49 AM	Cal		01_20IDA_pos	Cal	Training
🕒	9/2/2016 11:32:05 AM	SampleA	01_LC	01_20IDA_pos	01_20IDA_pos01	Training
🕒	9/2/2016 11:47:09 AM	SampleB	01_LC	01_20IDA_pos	01_20IDA_pos02	Training
🕒	9/2/2016 12:02:13 PM	SampleC	01_LC	01_20IDA_pos	01_20IDA_pos03	Training
🕒	9/2/2016 12:17:17 PM	SampleD	01_LC	01_20IDA_pos	01_20IDA_pos04	Training
🕒	9/2/2016 12:32:21 PM	Cal		01_20IDA_pos	Cal	Training
🕒	9/2/2016 12:33:37 PM	SampleE	01_LC	01_20IDA_pos	01_20IDA_pos05	Training

- Start / Stop で分析の開始 / 停止ができます。システムの平衡化後は **Stop** がアクティブになっています。Start がアクティブ時、分析は一時停止状態です。

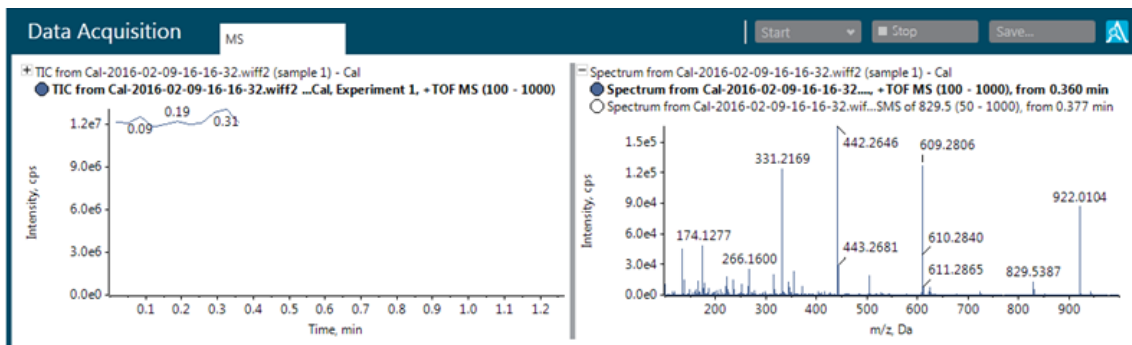
② 「Acquisition Status」の▼を選択すると、「Submit」したサンプルが確認できます。

- 「🕒」は分析待機、「🔄」分析中、「✅」分析完了を示します。
- Auto Calibrate 設定時は、分析間で MS Method が変わる度に cal を挿入します。
- 途中で中止する場合は、**Stop** を選択してください。右図のメッセージが現れますので、オプション選択後、OK を選択して Queue を止めて下さい。
- Stop Now は分析中でもその時点で終了します。Stop After ...の場合、LC/MS メソッドの設定時間まで終了後、連続分析を停止します。
- 連続分析を開始 / 再開する場合は **Start** を選択して下さい。



③ 測定中の Data を確認するには、画面下部の **Data Acquisition** を選択すると、リアルタイムで TIC (トータルイオンクロマトグラム) および質量スペクトルが表示されます。

- Data Acquisition を隠すには再度 **Data Acquisition** を選択します。
- Data Acquisition はデータ閲覧専用です。クロマトグラムや MS スペクトルの編集はできません。

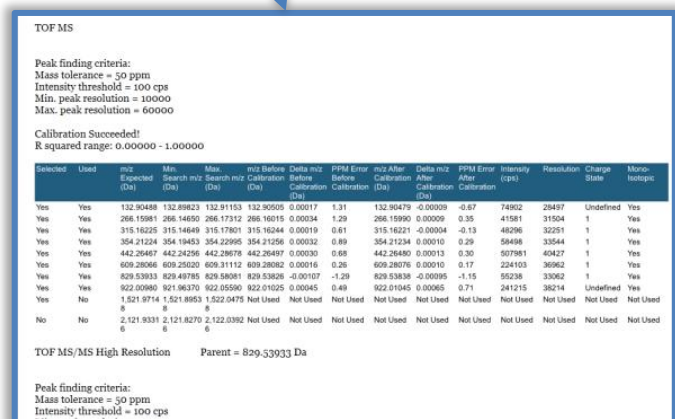


- 右端の **A** ボタンをクリックすると、Data Acquisition で表示されているデータを「Explorer」上でリアルタイム表示、解析ができます。

④ 該当する「Queue」の行をダブルクリックすると「Explorer」上でデータを開き、分析中や分析終了後のデータを確認できます。

Acquisition Status	Est. Start Time	Sample Name
✅ ⑤	5/8/2020 4:01:34 PM	Cal
✅ ④	5/8/2020 4:03:28 PM	blank
✅	5/8/2020 4:34:21 PM	sample

⑤ 「Queue」の「Cal」行で「✅」をダブルクリックすると、自動補正の結果を確認することができます (下図補正結果の xps ファイルが開きます)。



[Tips] Queue 画面の編集

- 測定待機状態のサンプルの削除、測定待機状態のサンプル同士の入れ替え、測定済みのサンプルの削除など、Queue 上で表示する項目を編集することができます。

- **Manage** から操作します。

The image shows the 'Manage' menu in the Queue interface. The menu items are: Reacquire samples..., Edit sample..., Delete samples, Delete all samples below, Clear queue, Clear all selections, Move row to top, Move row up, Move row down, Collapse all rows, Expand all rows, Display Columns..., and Cancel remaining processing. Three callout boxes provide instructions: 1. 'Delete samples' is linked to '←Queue で選択した測定待機状態のサンプルを削除', 'Delete all samples below' to '←Queue で選択した測定待機状態のサンプルを以下まとめて削除', and 'Clear queue' to '←測定済みのサンプルやキューをクリア'. 2. 'Move row up' is linked to '←測定待機状態のサンプルの入れ替え'. 3. 'Display Columns...' is linked to '←すべてのサンプルとバッチを展開' and '←Queue の列の表示/非表示を設定'. Below the menu is the 'Grid Display Settings' dialog, which allows selecting columns to display. The columns listed are: Acquisition Status, Sample Name, Est. Start Time, Acquisition Time, Sample ID, Barcode, Rack Code, Rack Position, Plate Code, Plate Position, Vial Position, MS Method, LC Method, Injection Volume (µl), Data File, Scanned Barcode, User, Project, Data File Status, Processing Method, Results File, Auto Processing Status, Batch Automation Status, and Decision Rule Summary. A green arrow points from the 'Display Columns...' menu item to the 'Grid Display Settings' dialog.

[Tips] Idle 時間の変更

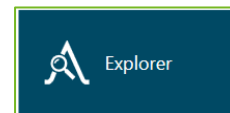
- Queue の最後のサンプルを測定後、設定時間が経過すると、LC は自動で止まり、MS は Standby の状態に戻ります。
- 上記の設定時間は Configuration の Queue にある Instrument idle time の時間で適宜変更可能です。

The image shows the 'Configuration' page in the software. The left sidebar contains a menu with items: Devices, Projects, User Management, Queue (selected), Licenses, LIMS Communication, General, and About. The main content area is titled 'Queue Settings' and contains the following settings: 'Instrument idle time' set to 60 min, 'Maximum number of acquired samples allowed' set to 300, and three checkboxes: 'If a sample is missing, then proceed to the next sample' (checked), 'If calibration fails, then proceed to the next sample' (unchecked), and 'Save the calibration data to the current project folder instead of the SCIEX OS/TempData folder' (checked). Below these is the 'Auto-Calibration with CDS' section with a checkbox 'Purge CDS at the next batch submission or when the Queue is restarted' (unchecked).

※ その他の設定は別冊の補足資料をご参照ください。

4 Explorerによるデータ解析

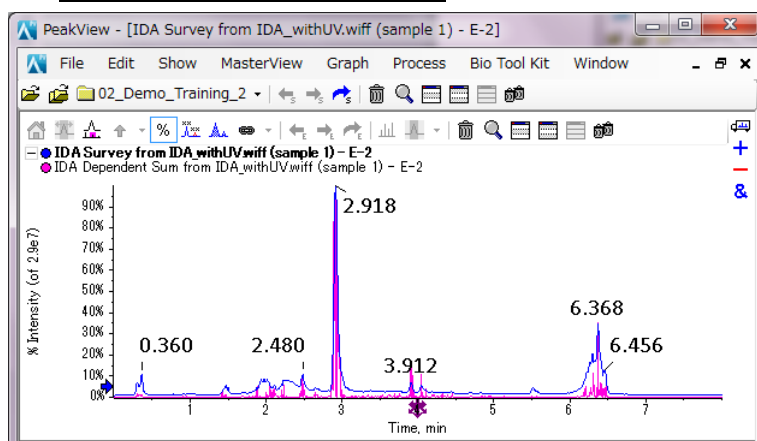
4.1 はじめに



Home 上の「Explorer」をクリックして解析を行います。

- データの表示方法について
 - TIC から (A)、IDA Explorer から (B) の 2 種類の Data の開き方があります。
 - IDA Explorer (B) は IDA で取得した Data 用の解析手法になります。SWATH など、他の測定方法については、対応していません。
 - どちらの方法からも他の解析画面を開くことができます。

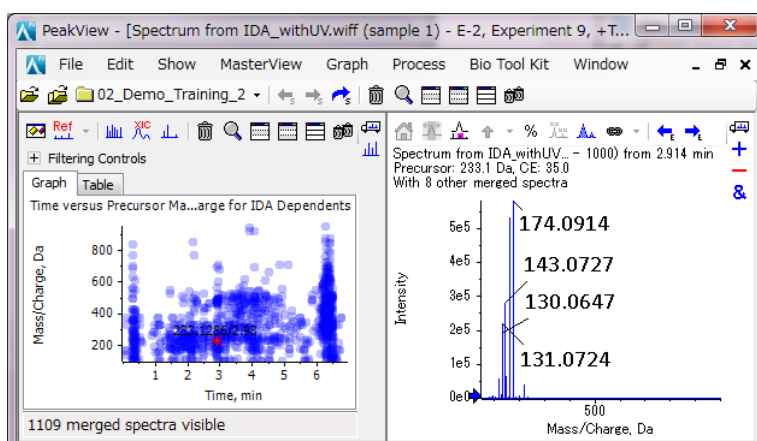
• A. TIC からの解析の初期画面



* すべての測定方法に対応しています。

* 初期画面は使用した全測定 Method の TIC の重ね書きになります

• B. IDA Explorer からの解析の初期画面



* IDA で取得した Data 用の解析手法になります。

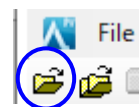
* スペクトルの確認から構造解析、類縁体検索など、様々な解析を容易に行うことができます。

- 複数の Data を同時に解析する (Open Multiple Samples...), File 名や File 内の Sample Name や Sample Info. から目的のデータファイルを検索する (Find Wiff Samples) ことも可能です。
- 詳細な説明につきましては Software User Guide (日本文、英文) を参考ください。
- 英文の資料につきましては、Windows のスタートメニュー > SCIEX OS > SCIEX OS Documentation から参照できます。

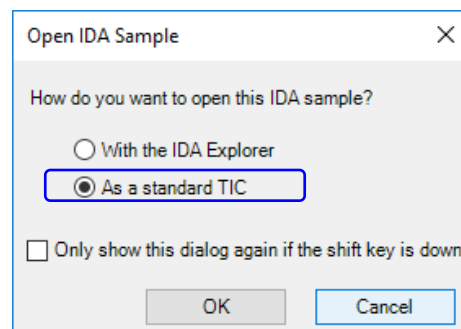
4.2 クロマトグラムからの解析

4.2.1 Standard TIC を用いた解析 (IDA)

- ① Open Sample...あるいは File Menu の Open Sample...から目的の File を選択します。該当するデータが表示されない場合は **Browse** から該当する Project 中の Data を選択します。



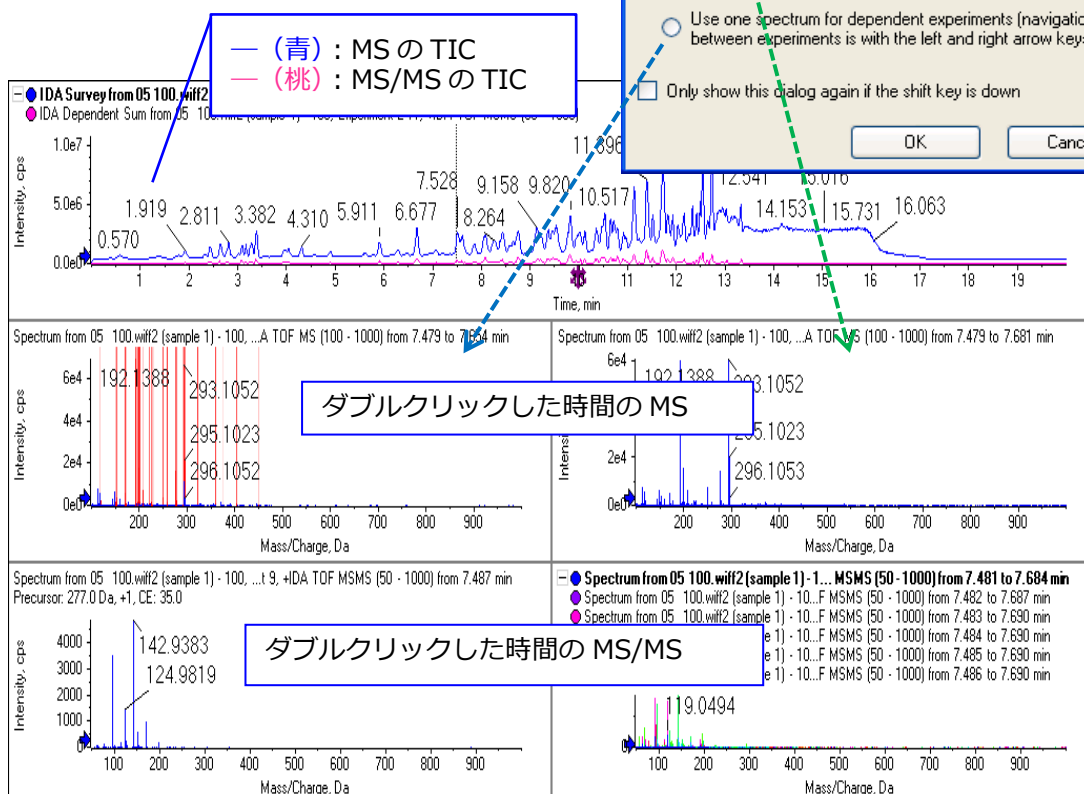
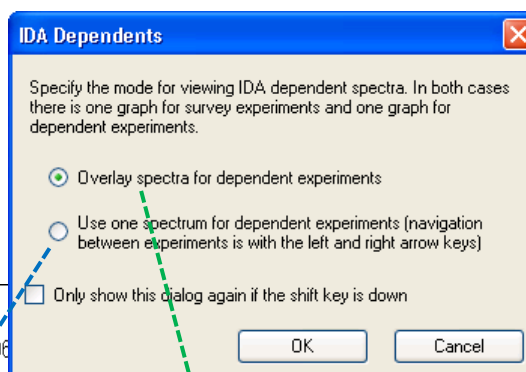
* Training では以下の IDA のデータを選択します。
D:\¥SCIEX OS Data¥Training_X500ZT76¥Data 中の 04_10.wiff2



- ② As a standard TIC (TIC から開く) を選びます。
- ③ 目的のクロマトグラム上の時間 (ここでは 7.5 分付近) をダブルクリックします。

- ④ TIC、UV 上をダブルクリックすると、表示方法を選択するウィンドウ (図) が立ち上がり、選択後にスペクトルが表示されます。

* Training では、Overlay...を選択してください。



ダブルクリックした時間の MS

ダブルクリックした時間の MS/MS

Use...を選択した場合:
ダブルクリックした時間の MS には、MS/MS したプリカーサーイオンが赤くハイライトされます。目的のプリカーサーイオン (赤い部分) をクリックすると、MS/MS がリンクして表示されます。

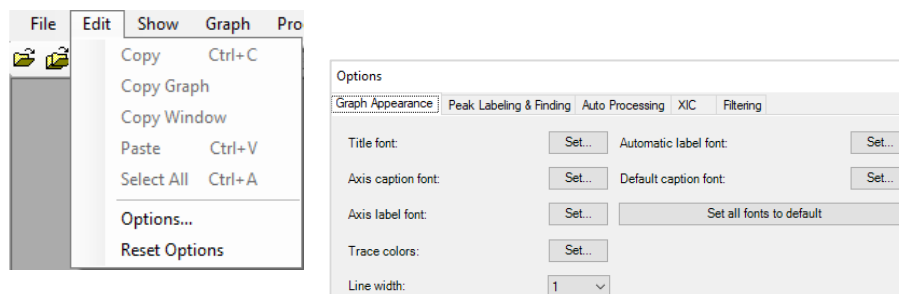
Overlay...を選択した場合:
ダブルクリックした時間と同じ IDA のサイクルに含まれる MS/MS がすべて重ね書きで表示されます。

Overlay...を選択すると表示される MS/MS について

- * Training では行いません。
- 重ね書きされた Pane を個々の Pane に分割したいときは、メニューバーから、Graph > Split Traces into Separate Panes を選択してください。
- 重ね書きされた Pane から 1 つの Pane を抽出したいときは、スペクトル上部のタイトル (Spectrum from ...) を左クリックして選択後、右クリックし、Remove All Traces Except Active を選択します。あるいは、目的以外のスペクトルタイトルを選択後、Remove Active Trace を選択し、1 つずつ削除してください。

[Tips] Option の設定など

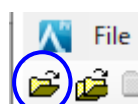
- タイトル等の文字の大きさを変更するにはメニューバーの Edit> Options... を選択し、Graph Appearance タブで設定します。
- 直前までに操作されていた方の設定が残るため、画面や設定が通常通り表示されない場合は、メニューバーの Edit> Reset Options を選択するとデフォルト設定に戻ります。



4.2.2 UV 等の解析

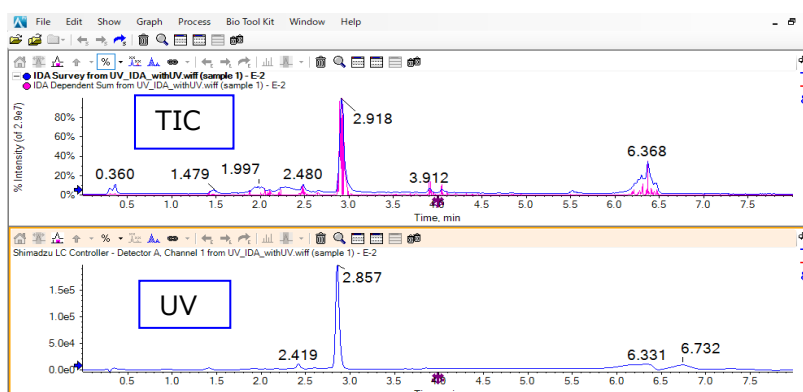
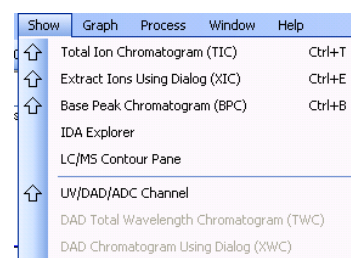
■ UV (Analogue) クロマトグラムの表示

- ① Open Sample... から目的の File を選択します。



- * Training では以下のデータを選択します。
- * D:\¥SCIEX OS Data¥Training_X500ZT76¥Data 中の UV_IDA_withUV.wiff

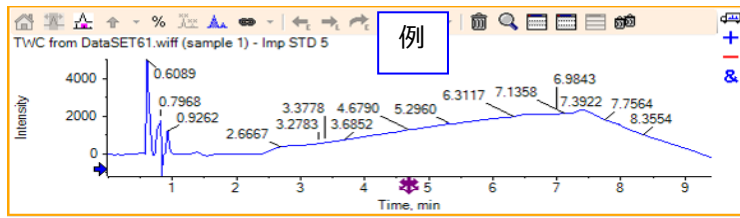
- ② メニューバーの Show から UV/DAD/ADC Channel を選択します。



■ DAD クロマトグラムの表示

- ① メニューバーの Show から DAD Total wavelength chromatogram(TWC)を選択します。

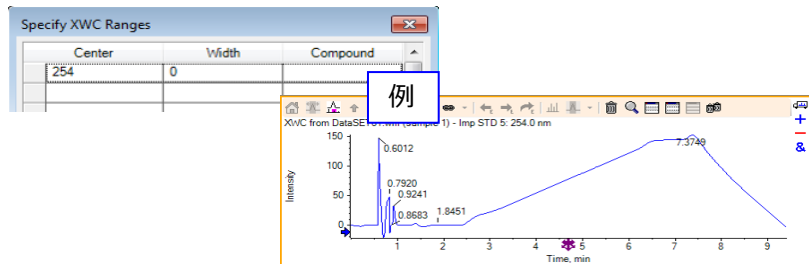
* Training では行いません。



■ UV (XWC) クロマトグラムの表示 (DAD データからの抽出)

- ① メニューバーの Show から DAD Extracted wavelength chromatogram(XWC)を選択し、抽出したい波長を入力します。

* Training では行いません。

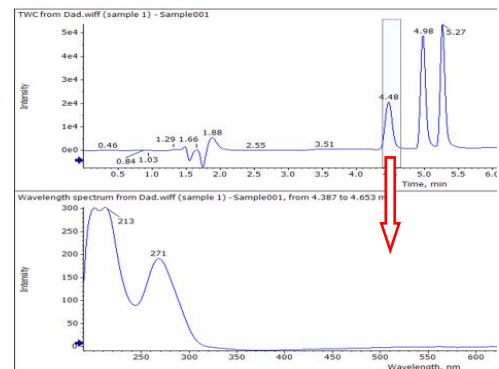


■ UV スペクトルの表示

* Training では行いません。

- ① TWC あるいは XWC 上で、目的のピークを左ドラッグして選択後、ダブルクリックします。
- ② 選択した範囲の平均の UV スペクトルが表示されます。

- クロマトグラム上の選択部分の上にマウスを移動させると、⇔が表示されます。表示された状態でマウスの左クリックで⇔を移動させることで、UV スペクトルが同時に変更されます。

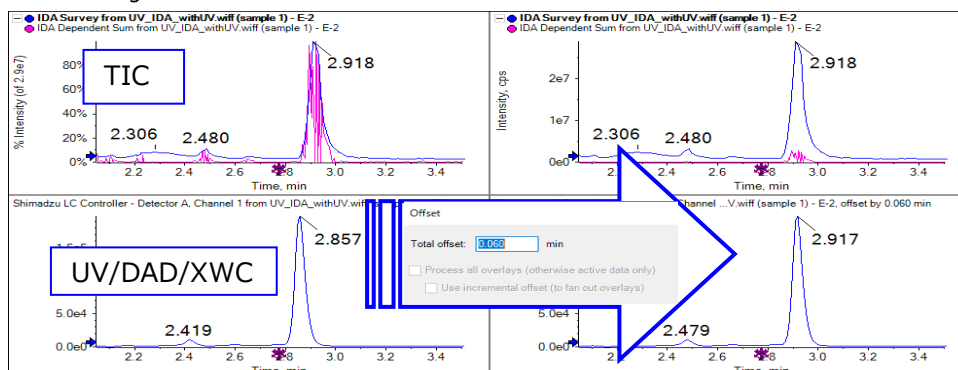


■ オフセット

- UV の Chromatogram の時間軸を MS 側に合わせます。


- ① 目的の UV、DAD、XWC のクロマトグラム上をクリックし、メニューバーの Process から Offset Chromatogram を選択します。

* Training では先ほど解析した UV データを使用し、0.06 と入力します。



4.2.3 TIC の表示と Background の減算、スペクトルの平均


TIC クロマトグラムの表示

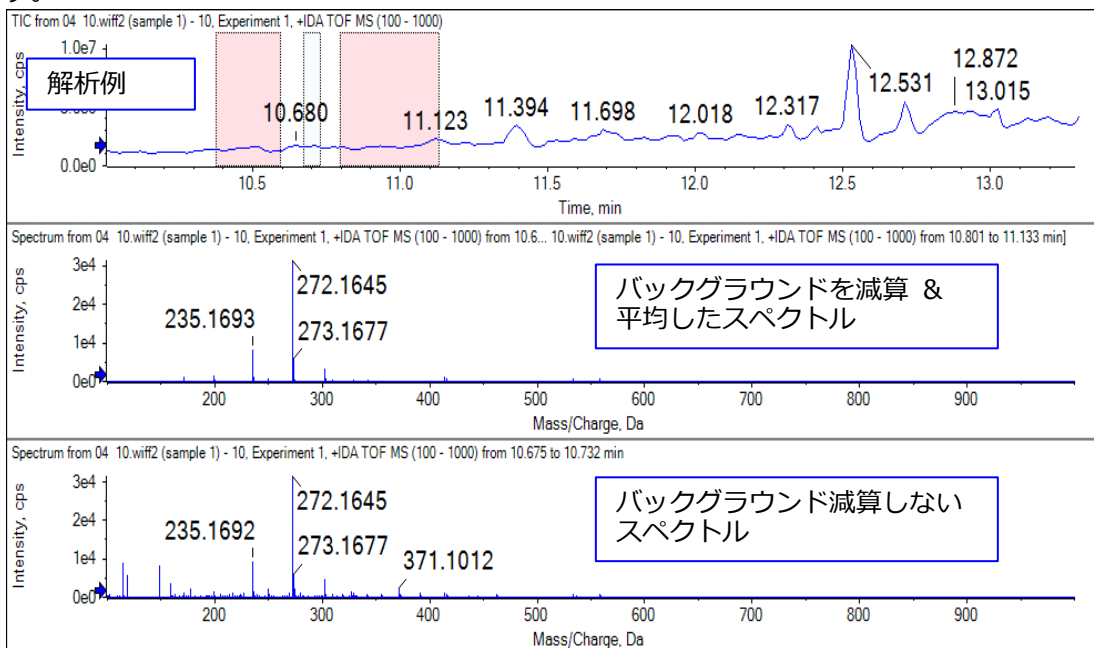
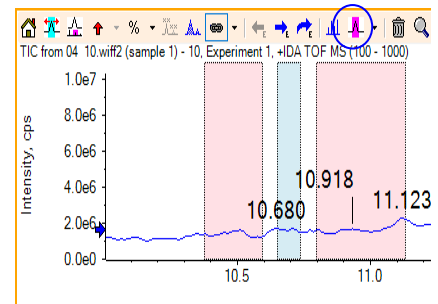
- ① Open Sample...から目的の File を選択します。
 - * 04_10.wiff2 を選びます。
 - * IDA の場合は IDA Explorer から As a standard TIC を選びます
- ② メニューバーから、Show > Total Ion Chromatogram (TIC) をクリックします。
- ③ Select Experiment ダイアログの Experiment1 +TOF MS を選びます。
- ④ TIC、XIC などのクロマトグラムで、目的付近の横軸をドラッグして拡大します。
 - 拡大する際は、横軸あるいは縦軸上をドラッグして操作します。
 - * Training では 10~12 分付近を拡大します。
 - * 戻す場合は軸上をダブルクリックまたは  アイコンをクリックすると全スケール表示になります。


Show	MasterView	Graph	Process	Window	He
↑		Total Ion Chromatogram (TIC)			Ctrl+T
↑		Extracted Ion Chromatogram (XIC)			Ctrl+E
↑		Base Peak Chromatogram (BPC)			Ctrl+B
		IDA Explorer			
		LC/MS Contour Pane			
		UV/DAD/ADC Channel			
		DAD Total Wavelength Chromatogram (TWC)			
		DAD Extracted Wavelength Chromatogram (XWC)			
		DAD Contour Pane			

Select Experiment		
Period 1		
Period 1, Experiment 1	+DA TOF MS (100 - 1000)	
Period 1, Experiment 2	+DA TOF MSMS (50 - 1000)	
Period 1, Experiment 3	+DA TOF MSMS (50 - 1000)	
Period 1, Experiment 4	+DA TOF MSMS (50 - 1000)	
Period 1, Experiment 5	+DA TOF MSMS (50 - 1000)	

Background の減算、スペクトルの平均


- ① バックグラウンドとなる部分をドラッグして選択した後に、画面上部の  (Set Subtraction Range) アイコンを選択します。
 - 2 箇所選択する場合はシフトキーを押しながら選択してください。
 - バックグラウンド領域がピンクで表示されます。
- ② 目的のピーク付近（下図では 10.7 分付近）を再度左ドラッグで選択し、ダブルクリックすることで、バックグラウンドを引いたスペクトルが表示されます。



- 選択した部分はマウスのドラッグで移動可能です。
 - 特定の時間 1 回の測定結果を表示させる場合は、目的の時間をダブルクリックしてください。
- ③ 必要に応じて、 アイコンの右の下矢印から、Clear Subtract Range を選択し、バックグラウンドの指定を解除します。

* Training では、解除してください。

■ Pane を隠す、削除する、全画面にする、拡大する

- ① 目的の Pane を選択後、画面上部にある Tool Bar から目的のアイコン  (左から、削除する、全画面表示する、選択した Pane を隠す、選択した Pane 以外を隠す、隠した Pane を表示する、選択した Pane 以外を削除する) を選択してください。

* Training では MS スペクトルを削除してください。

4.2.4 BPC および XIC クロマトグラムの解析、その他の機能

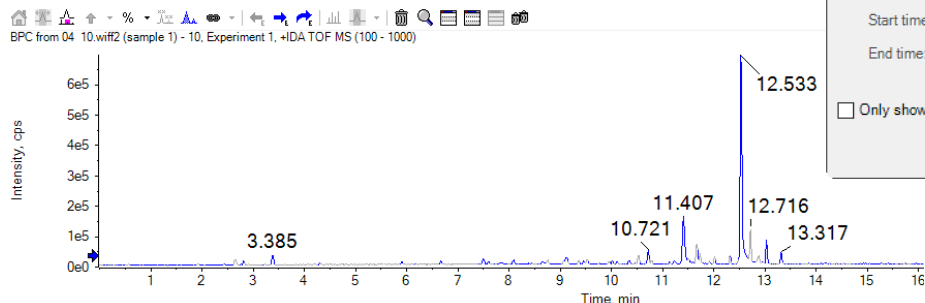
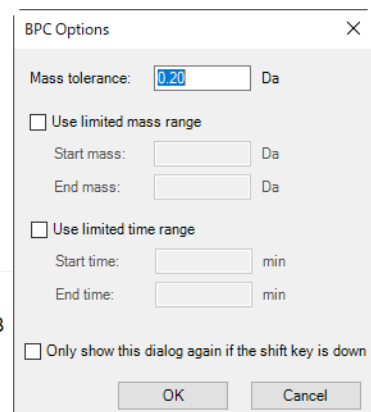
■ BPC クロマトグラムの表示

- BPC (ベースピーククロマトグラム) は、スペクトル上で最も強度の高いピークの強度のみを使用してプロットしたクロマトグラムです。

- ① メニューバーから、Show > Base Peak Chromatogram (BPC) をクリックします。

- Select Experiment ダイアログが開いた場合は Experiment1 +TOF MS を選びます。

- ② BPC Options には適当な値を入力し OK します。

BPC Options

Mass tolerance: Da

Use limited mass range

Start mass: Da

End mass: Da

Use limited time range

Start time: min

End time: min

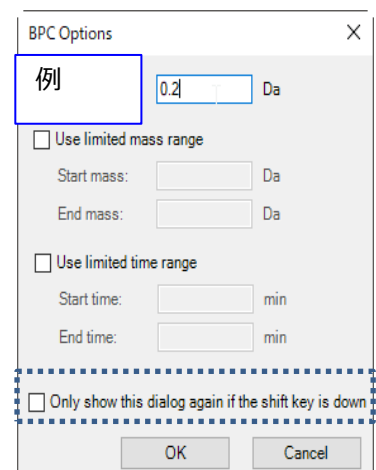
Only show this dialog again if the shift key is down

OK Cancel

[Tips] 隠れたダイアログを表示する方法

TIC や BPC、UV のオフセットなどを表示する際、通常表示されるダイアログが隠れていて表示できない場合があります。その際は、シフトキーを押しながら通常の操作をすると復活します。

- シフトキーを押しながら通常の操作を行うと、下記 Only show this dialog again ... にチェックが入っているのでチェックを外しますと以後ダイアログが復活します。
- 逆に簡略化して非表示にするには、下記 Only show this dialog again ... にチェックします。



BPC Options

例 Da

Use limited mass range

Start mass: Da

End mass: Da

Use limited time range

Start time: min

End time: min

Only show this dialog again if the shift key is down



OK Cancel

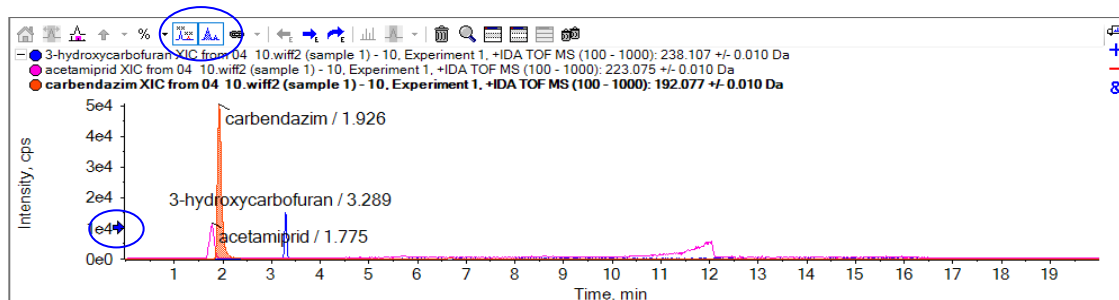
■ XIC クロマトグラムの表示

- ① メニューバーから、Show > Extract Ions Chromatogram (XIC)をクリックします。
 - Select Experiment ダイアログが開いた場合は Experiment1 +TOF MS を選びます。
- ② 左から順に、 m/z 、Width(Da)、化合物名を入力し OK します。

- Center : m/z あるいは組成式 (中性) を入力します。
- Center に組成式を入力した場合、表示される m/z は Positive Mode は+H、Negative Mode は-H として自動計算します。
- あらかじめ Excel でリストをしておきますと、コピー & ペーストができます。

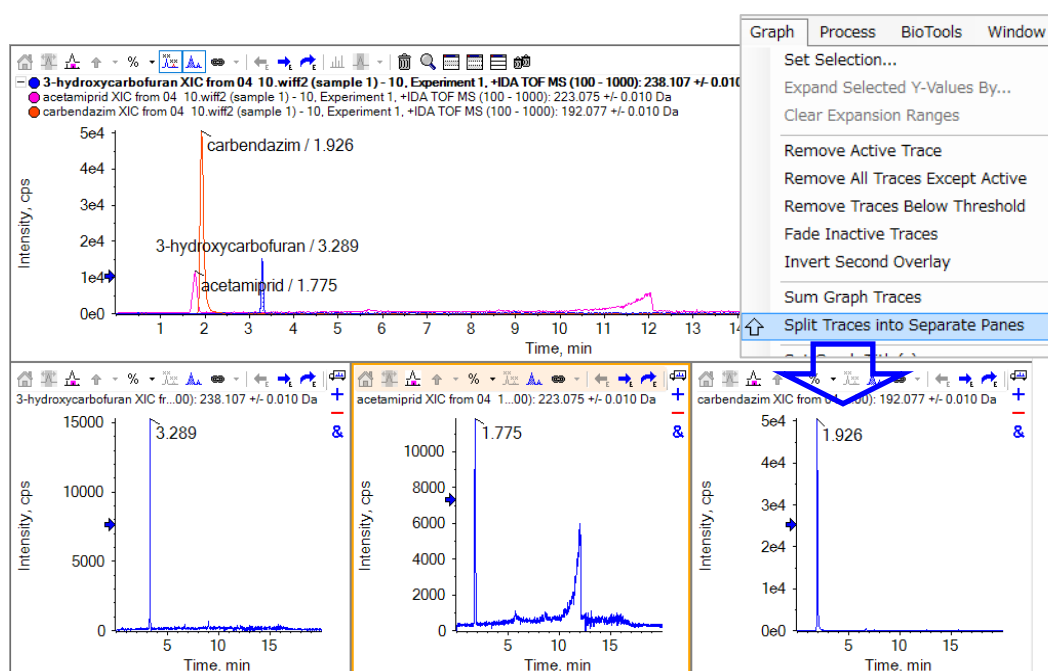
Specify XIC Ranges		
Center	Width	Compound
C12H15NO4	0.02	3-hydroxycarbofuran
C10H11ClN4	0.02	acetamiprid
C9H9N3O2	0.02	carbendazim

- ③ 重ね書きされたクロマトグラムに名前を割り当てたり、ピークを塗りつぶすには  (Label all overlaid traces, Fill peaks) アイコンを選びます。
 - ラベルが表示されない場合はスペクトルの縦軸上で、Label Threshold  を動かし、目的のピークをラベルします。





■ 重ね書きした Pane (クロマトグラム、スペクトル) の分割

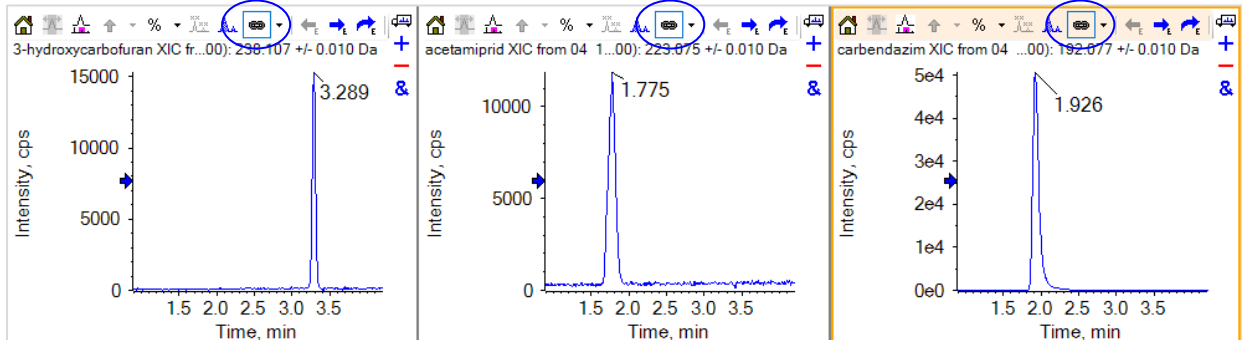
- ① メニューバーから、Graph > Split Traces into Separate Panes を選択し、3 columns を入力して OK します。




■ 軸のリンク

① 軸のリンクを行いたいクロマトグラム上部の  アイコンをそれぞれクリックし、横軸をドラッグして拡大します。

➢ 縦軸をリンクする場合は、 アイコンの右側の▼から Link Y-Axes を選択してください。




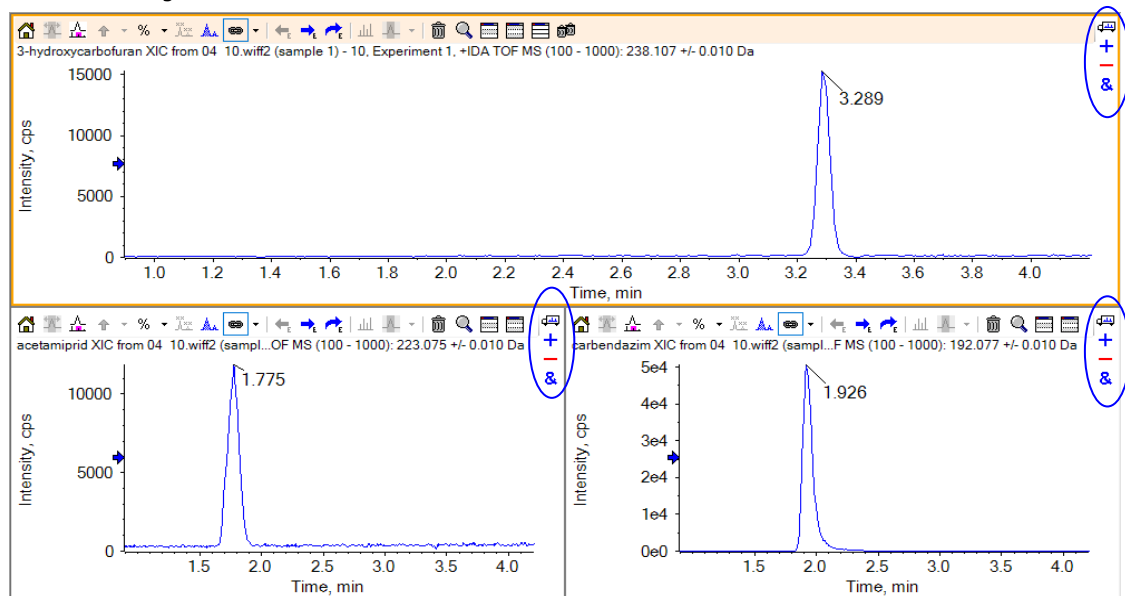
② 横軸あるいは縦軸を拡大する場合は軸の上で拡大する範囲をドラッグします。

➢ 戻す場合は軸上をダブルクリックまたは  アイコンをクリックすると全スケール表示になります。

■ Pane の移動、横軸のリンク、足し合わせ、差し引き、重ね書き

① 各 Pane 右上にあるアイコン（上から、移動、足し合わせ、差し引き、重ね書き）から目的のアイコンをクリック&ドラッグしてください。

* Training では  を使用し、以下のように画面を移動してください。

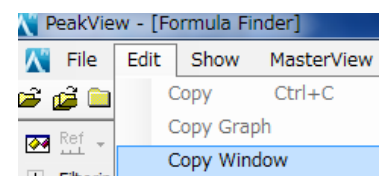


■ 画面のコピー

① クロマトグラム等をコピーするには、メニューバーから、Edit > Copy Graph あるいは Copy Window を選択します。

- Copy Graph : メタファイル形式
- Copy Window : ビットマップ形式

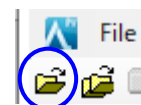
② ペイントや ppt ファイル等にペーストします。



4.3 IDA Explorer からの解析

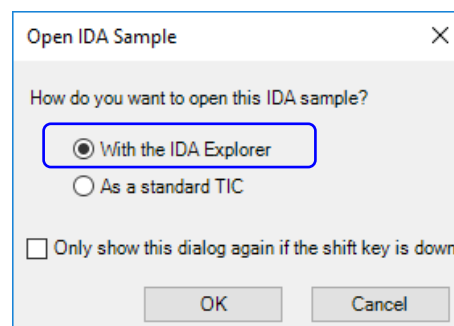
IDA で取得した Data について、スペクトルの確認から構造解析、類縁体検索など、様々な解析を容易に行うことができます。

- ① Open Sample…あるいは File Menu の Open Sample…から目的の File を選択します。該当するデータが表示されない場合は **Browse** から該当する Project 中の Data を選択します。

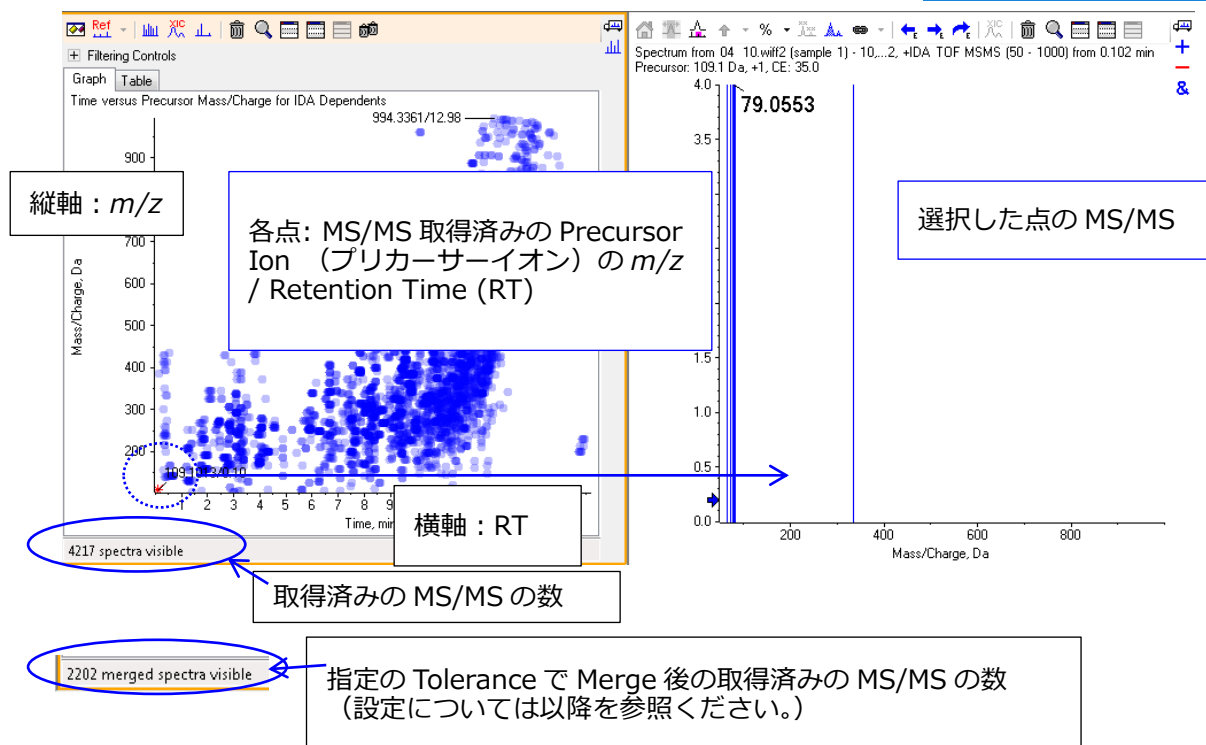


- * Training では以下のファイルを選択します。
D:\¥SCIEX OS Data¥Training_X500ZT76¥Data 中の 04_10.wiff2

- ② With the IDA Explorer (IDA Explorer から開く)、または As a standard TIC (TIC から開く) のどちらかを選び、OK をクリックします。



- * Training では With the IDA Explorer を選択してください。
- * 以下の形式の初期画面が開きます。

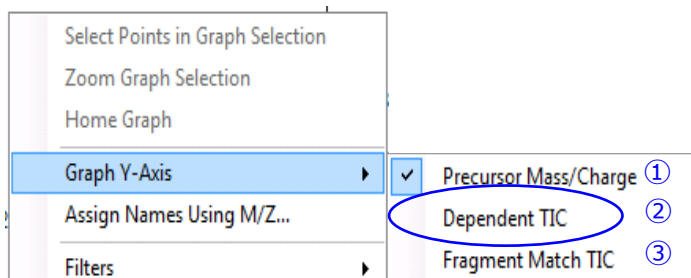


4.3.1 縦軸の切り替え、リスト表示

- 目的に応じ、Graph の縦軸の切り替えやリスト表示にすることが可能です。

縦軸の切り替え

- 画面上を右クリックし、Graph Y-Axis から目的の縦軸を選択します。
 - Fragment Match TIC は後述の Fragment Matching 使用時に使用できます。
 - * Training では② Dependent TIC (強度) に変更してください。



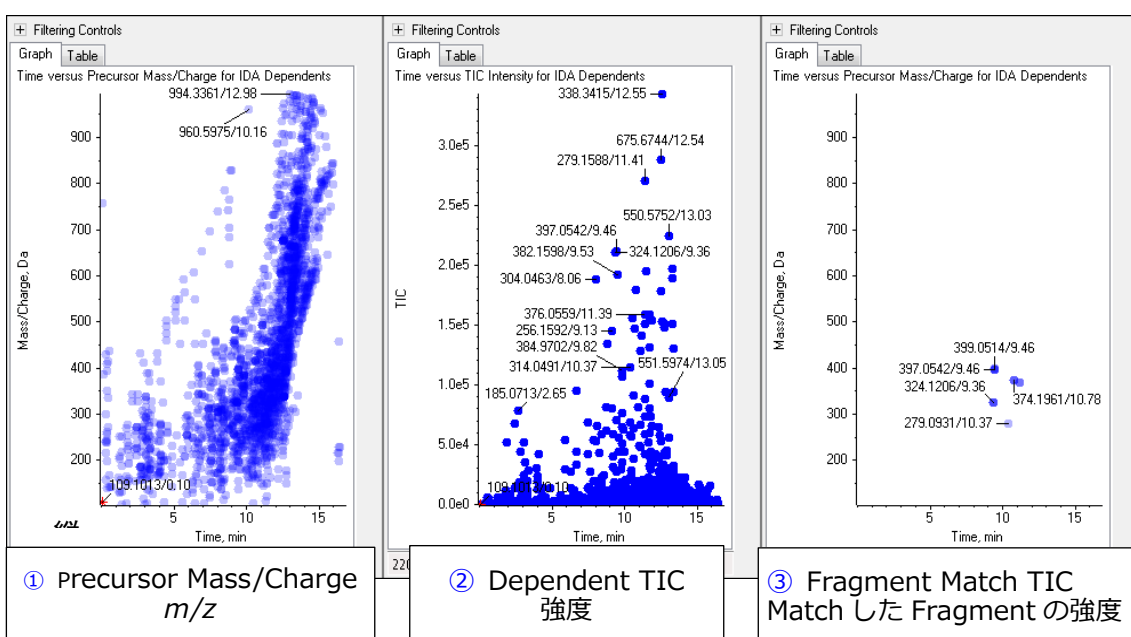
4.3.2 Table 表示

- 画面上部の Table タブを選択することで表示されます。
 - Table の各項目 (Time, m/z, TIC など) をクリックすることでソートすることができます。

- * Training では Graph のタブをクリックし、上述② Dependent TIC (強度) にしてください。


Table の項目名をクリックすることで、ソートされます。

Index	Time	m/z	Mass Def	TIC
1	0.10	109.1013	0.1013	4.8e1
2	0.11	758.2229	0.2229	1.1e2
3	0.12	386.1523	0.1523	2.3e2
4	0.32	157.0839	0.0839	1.8e2
5	0.32	239.1623	0.1623	2.5e2
6	0.32	301.1412	0.1412	1.5e2
7	0.33	429.2408	0.2408	1.0e2



4.3.3 スペクトルの統合 (Merge)

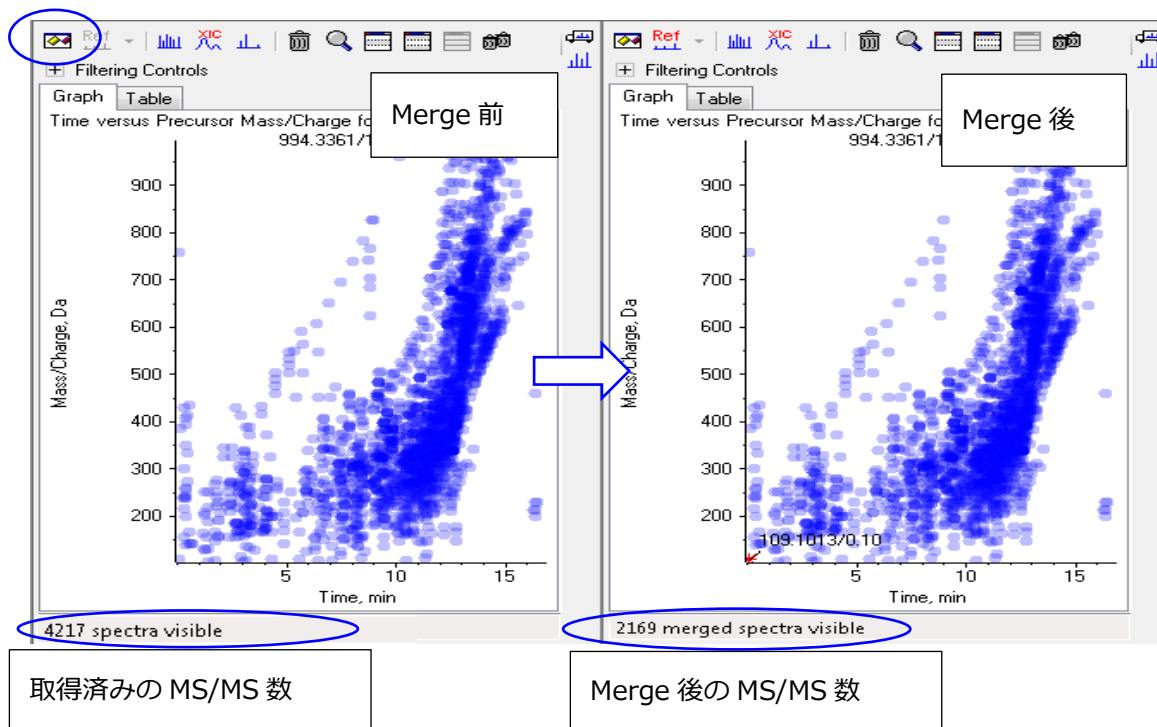
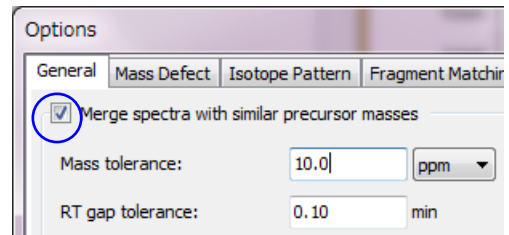
- 指定の m/z 、RT の Tolerance 内の Peak について、積算して表示します。
- 解析が容易になり、より質のよい MS/MS が得られる可能性があります。
- 前の解析時の設定が保存されます。LC 条件の変更後など、必要に応じて確認してください。

① 画面左上の  (Show Options) アイコンで Options を開きます。

② Merge... にチェックをかけ、Mass, RT gap Tolerance に適当な値を入力します。

※ RT の Tolerance は LC の Peak 幅に依存します。


※ Training ではそれぞれ 10、0.1 を入力してください。



4.3.4 Filtering

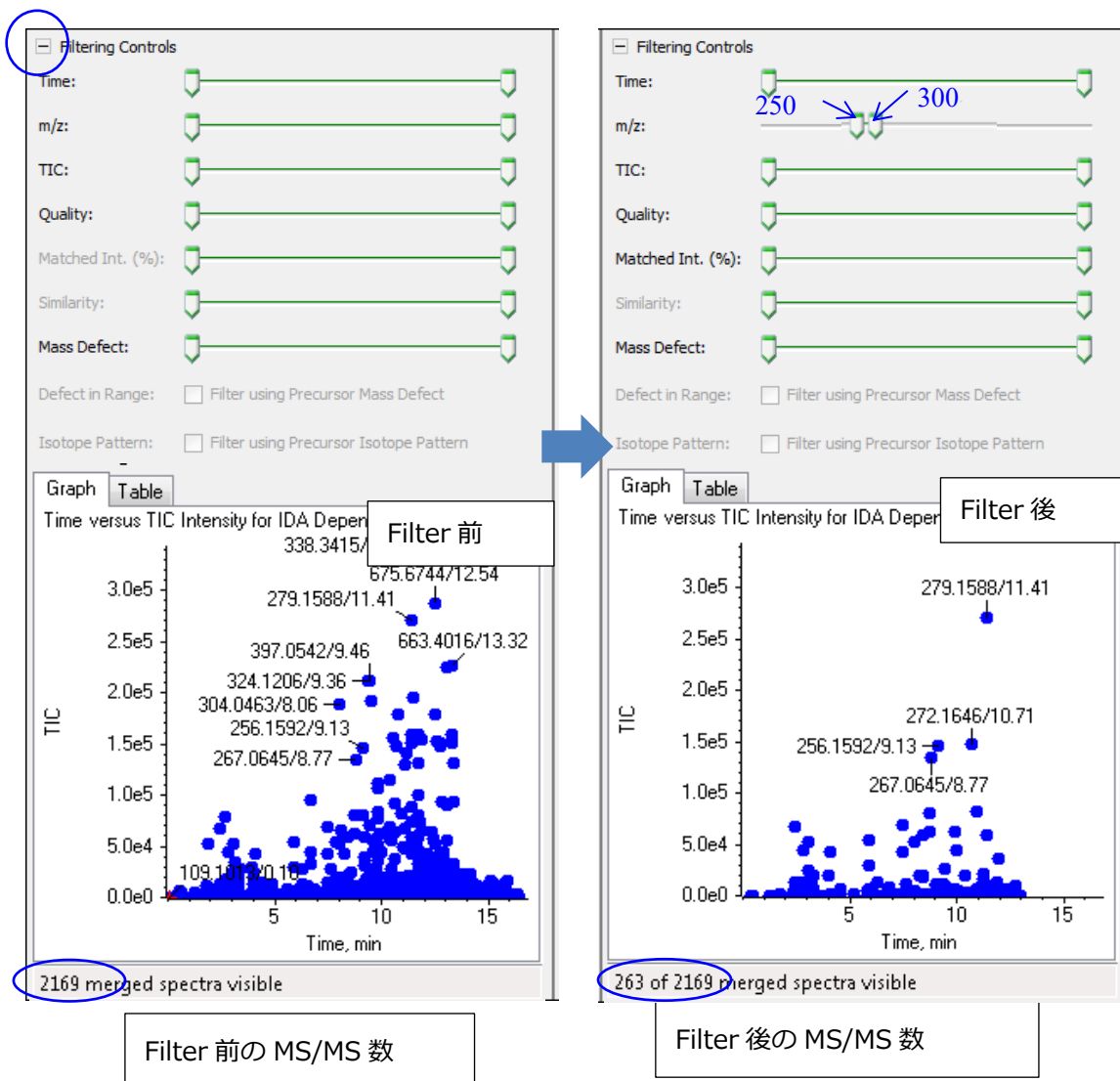
- MS/MS 取得された Precursor Ion に Filter をかけ、目的のイオンを抽出し、解析を容易にすることが可能です。
- グレーアウトの項目は、条件を設定することで利用できるようになります。

① 画面左上の Filtering Control の左の **+** をクリックし、画面を開きます。

② 次ページの備考を参考に  を左ドラッグで移動、あるいはダブルクリック後数値を入力し、目的の制限をかけます。

* Training では以下のように、m/z を 250~300 に制限してください。

➤ 終了後、Filtering Control 左の **-** から Filtering Control を閉じてください。



Filtering Controls について

- 以下の Filter が可能です。
- グレーアウトの項目 (*) は条件を設定することで利用できるようになります。
 - Time (Retention Time、RT)
 - m/z
 - TIC: Fragment Ion の強度の積算
 - Quality (%): 親イオン、ノイズを除く Fragment Ion の強度の積算の全 Fragment Ion の強度の積算に対する比率
 - Matched Int (%)*: 設定した Fragment Ion, Neutral Loss に一致した Ion の強度の Precursor Ion, Background Ion を除く全 Product Ion 中の比率 (Fragment Matching の項を参照ください。)
 - Similarity (%)*: 設定した基準化合物と一致する Fragment Ion, Neutral Loss の Precursor Ion, Background Ion を除く全 Product Ion 中の比率
 - Mass Defect
 - Defect in Range*: 設定 (複数可能) した Defect 内の Precursor Ion のみを表示
 - Isotope Pattern*: 設定 (複数可能) した同位体比を持つ Precursor Ion のみを表示

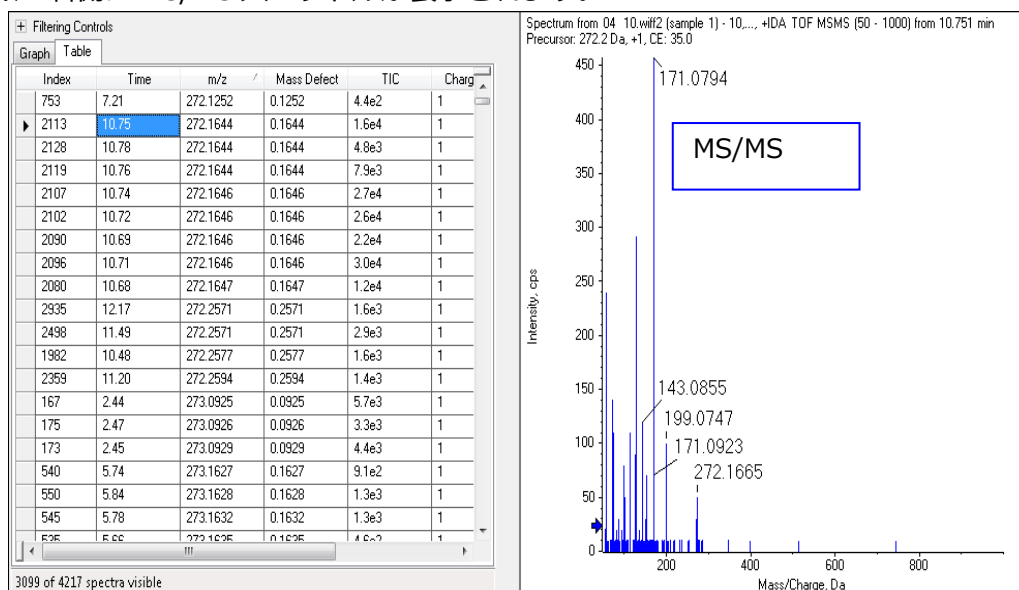
4.3.5 IDA Explorer を用いた目的物質の MS, MS/MS, XIC の表示

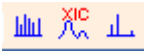
IDA Explorer を用いた目的物質の MS、MS/MS スペクトルと XIC の表示

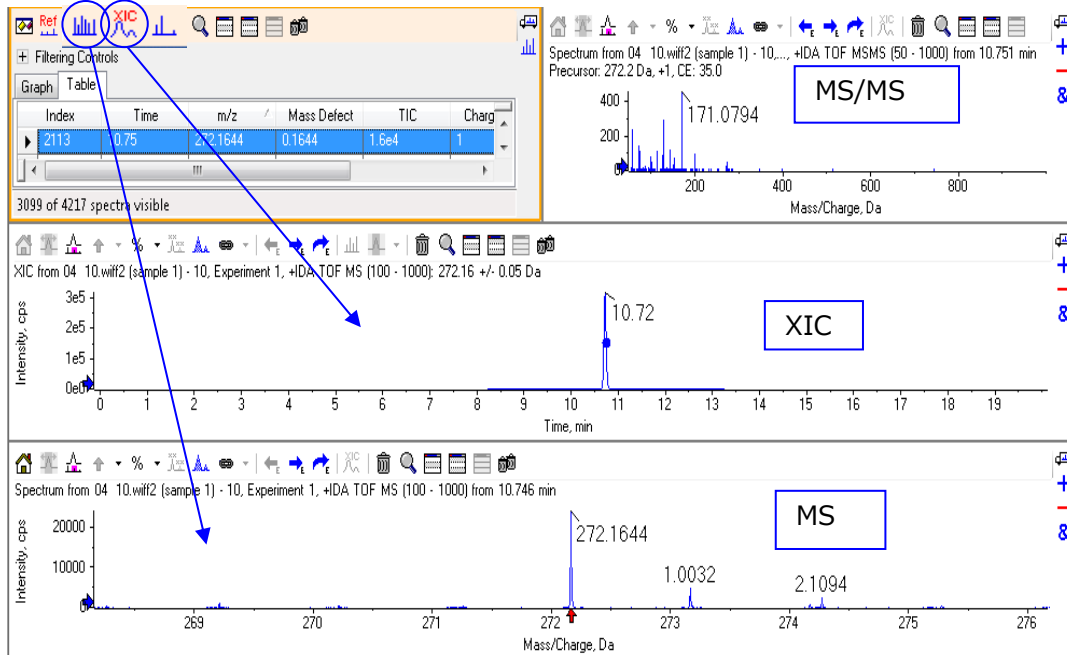
① Table から目的の数値をクリックします。

* Training では RT:10.75、m/z 272.1644 (Napropamide) をクリックします。

※ 右側に MS/MS スペクトルが表示されます。



- ② 画面左上の  (左から MS、XIC、MS/MS) から MS、XIC をクリックして表示します。




4.3.6 Fragment Matching (共通のフラグメントを持つプリカーサーイオンの検索)

IDA の MS/MS から、目的の部分構造に相当する Product Ion あるいは、Neutral Loss を用い、その部分構造を有する Precursor Ion を検出します。

- 複数の Product Ion、Neutral Loss の入力が可能です。Or 検索になります。

- ① 目的のデータを IDA Explorer で開きます。

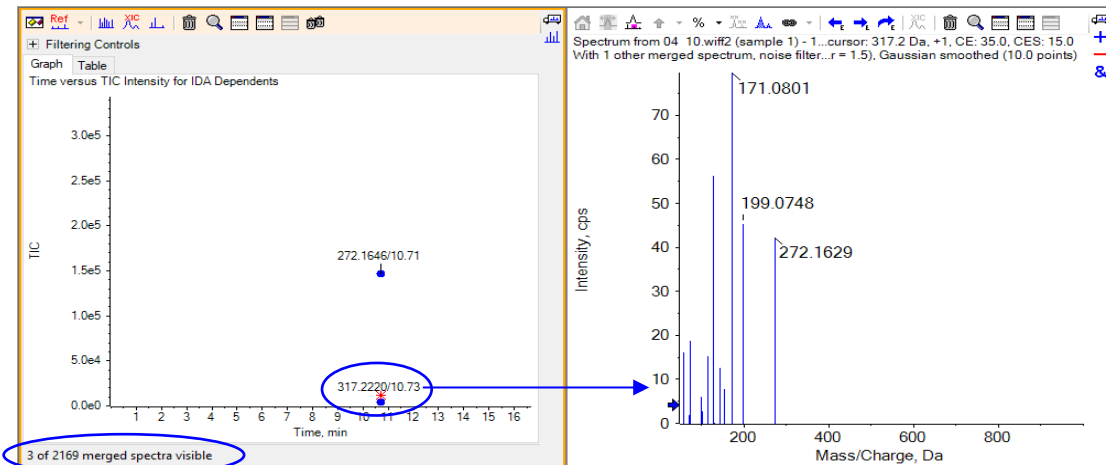
* Training では以下のファイルを選択します。
D:\¥SCIEX OS Data¥Training_X500ZT76¥Data 中の 04 10.wiff2

- ② Filtering Controls の 画面左上の  (Show Options) アイコンをクリックし、Fragment Matching タブをクリックします。

- ③ **Fragment M/Z** には共通するフラグメントイオンを入力し、Mass tolerance : マスの許容値、Minimum Intensity : 最小値、に値を入力して OK します。

- ④ Filtering Controls の Matched Int (%) : 0.1 ~ 10 程度を入力し OK します。これにより Filter(抽出)を行います。

- 値はデータにより適宜変更してください。



- Neutral Loss M/Zには共通の脱離するフラグメントを設定することにより、その共通骨格を持つプリカーサーイオンが検索できます。

※ Adjust…にチェックを入れるとプリカーサーイオンから設定値の差分を持つ成分を検索します。

4.4 組成分析 (Formula Finder)

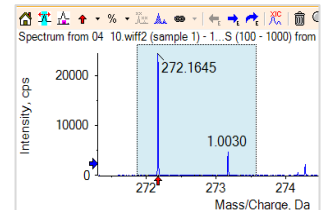
- MS および MS/MS から組成解析、フラグメントイオンの帰属を行う機能です。

- ① 前述を参考に IDA Explorer から、組成分析を行うピークの MS および MS/MS スペクトルを表示します。

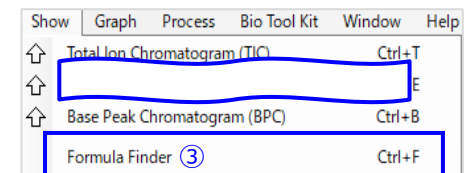
- * Training では、04 10.wiff2 のデータを選び、Napropamide について解析、表示してください。(RT:10.71、m/z 272.1646)
- * 解析しやすいように IDA Explorer の Table の Pane は隠し、MS および MS/MS の Pane を表示します。

- ② MS のスペクトル上で、目的のピークについて同位体を含めてドラッグして選択します。

※ m/z のラベルが表示されていないピークは、以降の解析で数値が読み込まれません。必要に応じて、スペクトルの Y 軸上の青矢印を動かして、目的のピークをラベルしてください。



- ③ メニューバーから Show > Formula Finder を選択し Formula Finder 画面を開きます。



- ④ Elements from, to には、検索する元素とその数の下限、上限を入力し、Isotope cluster details のリスト上では、組成分析に使用したい m/z の Use にチェックをかけます。

※ Elements from, to に入力した元素、元素数の範囲内で検索が行われます。

※ 既知の含有元素がわかる場合は、Elements from, Elements to にその情報を入力してください。

- * Training では、右図のように入力を行ってください。

Peak	Use	m/z	% Intensity	Width
0	<input checked="" type="checkbox"/>	272.1644	100.0	0.009
1	<input checked="" type="checkbox"/>	273.1676	19.3	0.008

Elements from		④
Elements to	C50 H200 N10 O10 S5	
Mass tolerance (ppm)	5	⑤
Intensity tolerance (%)	15	⑥
#C/#heteroatoms greater than	0	⑦

- ⑤ m/z Tolerance (ppm) に 5 を入力します。
- ⑥ Intensity Tolerance (%)に 15 程度を入力します。

※ 同位体イオンの強度が低い場合や他のイオンが重なっているなどの場合は値を大きく設定してください。

The screenshot shows a mass spectrometry software interface with several panels:

- Filtering Controls:** A toolbar at the top with icons for Ref, TIC, XIC, and other functions. A circled '1' points to the XIC icon.
- Peak List (ピークリスト):** A table with columns: Index, Time, m/z, TIC, Num Merged, Quality, Match. Row 757 is highlighted. A circled '9' points to the table header.
- MS/MS Spectrum:** A plot of Intensity (cps) vs Mass/Charge (Da) showing peaks at 171.0804, 199.0759, and 272.1623. A circled '14' points to a peak.
- MS Spectrum:** A plot of Intensity (cps) vs Mass/Charge (Da) showing a major peak at 272.1651 and smaller peaks at 1.0036 and 2.1095. A circled '2' points to the base peak.
- Formula Finder:** A panel with tabs for MS Details, MSMS Details, and Compound Details. It shows isotopic cluster details for peak 0 (m/z 272.1644) and peak 1 (m/z 273.1676). The mass tolerance is set to 5 ppm (circled '5') and intensity tolerance to 15% (circled '6'). The #C/#heteroatoms greater than is set to 0 (circled '7'). A circled '8' points to a bar chart icon in the top right of the Formula Finder panel.

- ⑦ #C / #heteroatoms > に適当な値 (Training では 0) を入力します。


※ 炭素と水素以外の元素の比を制限します。

※ 未知成分で不明な場合は 0 にします。

- ⑧ Formula Finder の右端にある アイコンを MS/MS のスペクトル上にドラッグ&ドロップして、Formula Finder と MS/MS のスペクトルをリンクさせます。

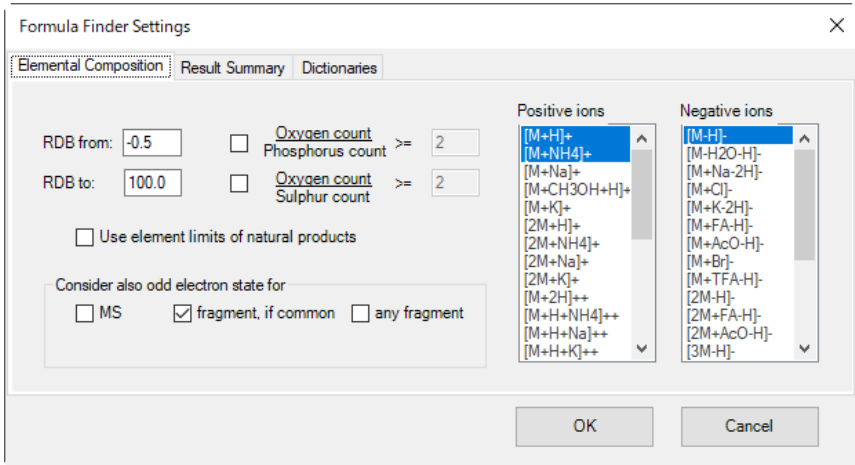
組成解析条件の追加設定など

組成解析の条件の追加やランキングの表示順などを設定することができます。

- ⑨ 変更する場合は Formula Finder ウィンドウ上で  (Show Options) アイコンをクリックし、必要に応じて設定します。

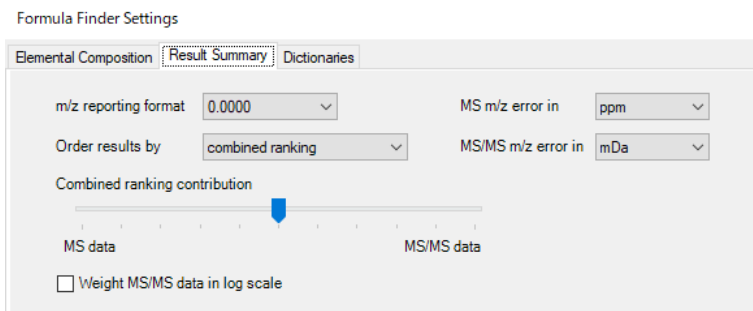
* Training では、下図のように設定を行ってください。

<Elemental Composition タブ>



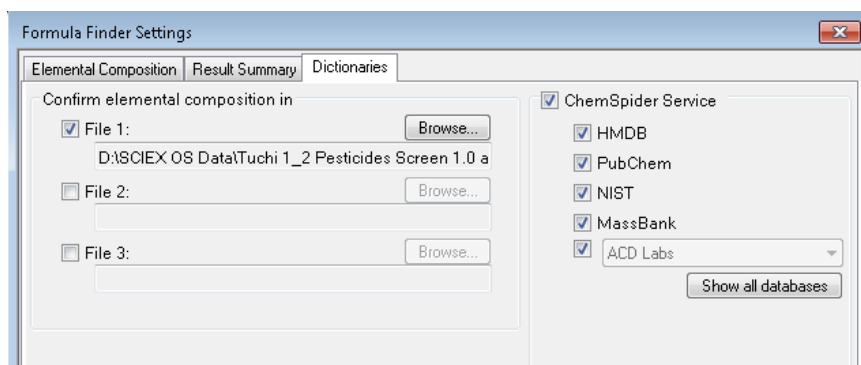
- RDB: 不飽和度
必要に応じて変更してください。RDB の大きい化合物については、RDB to の値を変更してください。
- Oxygen count / Phosphorous count, Sulfur Count:
P (リン)、S (硫黄) を含む化合物の場合、Oxygen count / Phosphorus count や、Oxygen count / Sulphur count にチェックをかけ、適当な数値を入力します。
- Use element...: 合理的な元素比率の組成式を表示します。
- Consider also...: ラジカルイオンの検索を行う場合はチェックをかけてください。
- Positive ions / Negative ions: 想定される付加体の種類や多価イオン等を選択します。

<Result Summary タブ>



- m/z reporting format: m/z の表示形式を選択します。
- Order results by: 検索結果の順番を指定します。
- Combined ranking contribution, Weight MS/MS data...を使用することで、MS、MS/MS の結果に比重をかけることも可能です。

<Dictionaries タブ>



- Confirm elemental...: 化合物情報を含むデータベースなどのファイルを3つまで選択することができます。化合物名や構造を予測するのに使用します。選択可能なファイルの種類は、Analyst Database ファイル (*.mdb)、XIC Manager ソフトウェアリスト (*.xiclist)、タブ区切りテキスト (*.txt)、構造データフォーマット (*.sdf) の4種類です。
- ChemSpider Service: ライセンスを購入された方は検索可能です。使用するデータベースにチェックを入れてください。

⑩ OK を押して画面を閉じます。

⑪ FormulaFinder の **Find** ボタンを押すと、組成解析の結果が⑨の Result Summary タブの Order results by で指定した順でソートされて表示されます。

Found elemental compositions								
Hit	Formula	m/z	RDB	ppm	MS Rank	MSMS ppm	MSMS Rank	Found
1	C17H21NO2	272.1645	8.0	0.3	1	3.0 (20)	1	1/1043

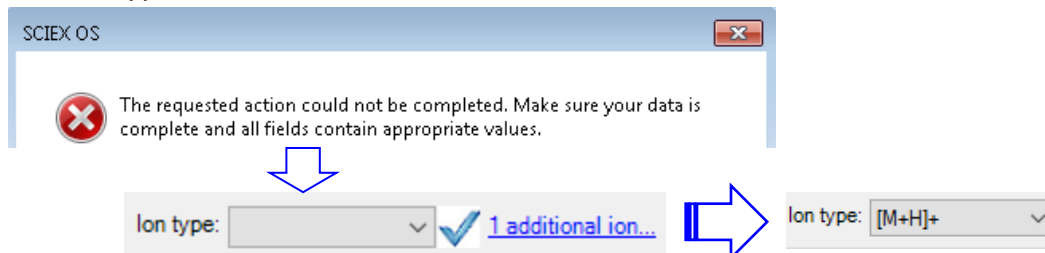
付加⑩を除いた中性の組成式を表示

付加を加味した m/z

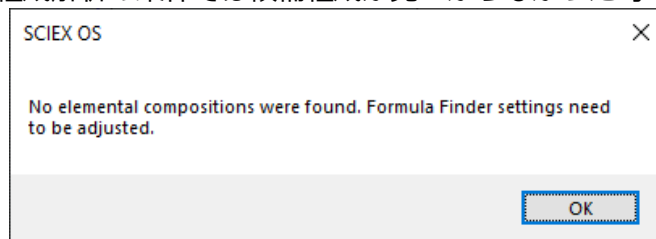
- ppm カラム: プリカーサーイオンのモノアイソトピックイオンの精度を表示。
 - MS/MS ppm カラム: “平均精度 (帰属できたフラグメント数)” を表示。
 - Found カラム: ⑨の Dictionaries タブで設定した検索条件でヒットした化合物数を表示 (左: ライブラリーファイル、右: オンラインデータベースから (ChemSpider) ヒットしたもの)。
- ※ 表示される候補組成式は⑨Result Summary タブで設定したランキングで表示します。
- ※ **Find any** ボタンを押すと、設定した検索条件に合致しない結果も表示されます。

Find ボタンを押しても組成解析結果が表示されない場合：以下をご確認ください。

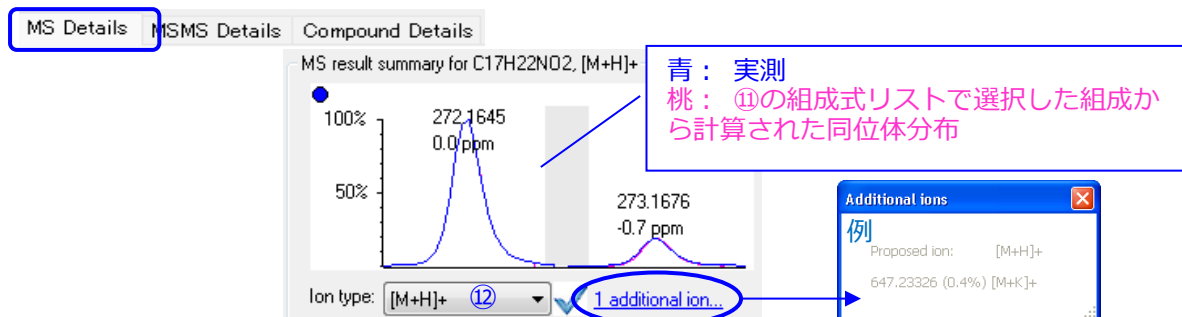
- (1) 下図エラーが表示された場合は Ion Type を認識できなかった可能性があります。⑫を参考に Ion type のプルダウンから想定する付加イオンを選び、再度 Find ボタンを押してください。



- (2) 下図エラーが表示された場合は、設定した組成解析の条件では候補組成が見つからなかった可能性があります。上述の⑤～⑧の条件を再度設定してから再度 Find ボタンを押して結果を確認してください。



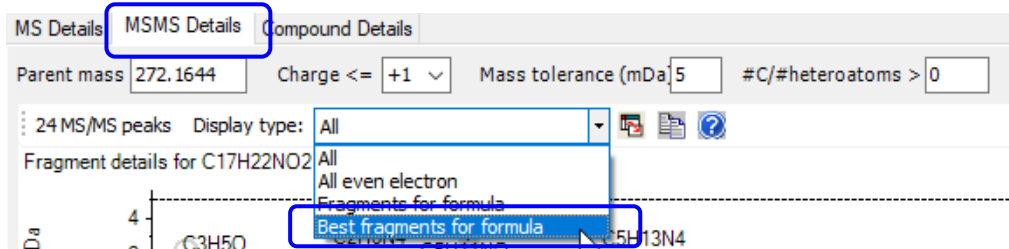
- ⑫ 組成分析の結果、MS Details タブでは、Ion type には観測された付加イオン、右横に表示される(数字) additional ion をクリックすると、観測された他の付加イオン情報が表示されます。



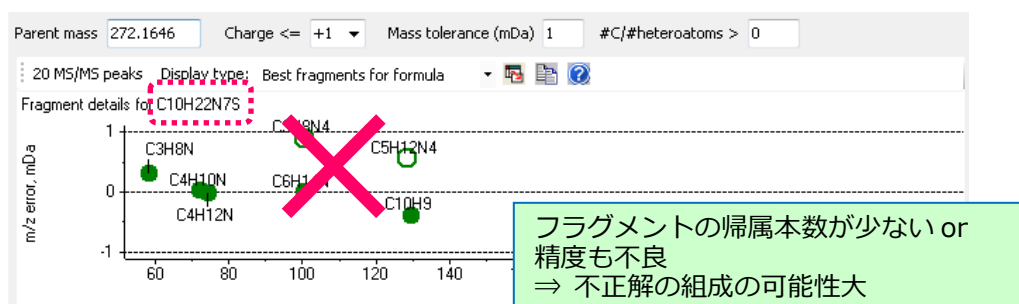
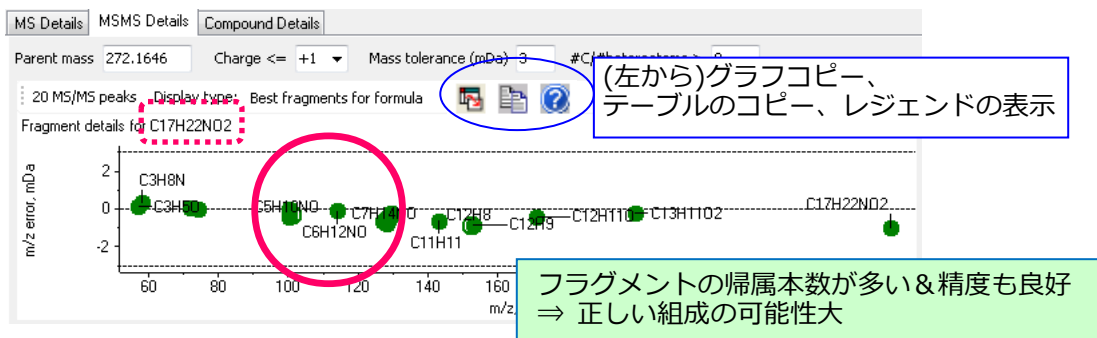
- 結果の組成式が予想される組成式ではない、あるいは付加イオンが予想と異なる場合は、Ion type のプルダウンから想定する付加イオンを選び、再度 Find ボタンを押して結果を確認してください。
- プルダウンで選択できる付加イオンは、⑨の Elemental Composition タブで設定したイオンです。

- ⑬ 特定の組成式を選択して MS/MS details のタブをクリックすると、この組成あるいは他の組成をプリカーサーとしたフラグメントイオンの組成の帰属結果が表示されます。

- ⑭ Display type のプルダウンから Best fragments for formula を選択すると、選択した組成式のフラグメント帰属結果が表示されます。



- ※ 帰属できたフラグメント本数が想定より少ない場合は、⑤Mass tolerance (mDa)の値を大きくし再度 **Find** ボタンを押します。
- ※ MS/MS フラグメントの組成分析の対象を変更する場合には、MS/MS の Y 軸上の Label Threshold **▶** を変更して再度 **Find** ボタンを押します。
- ※ 複数の候補組成式が表示された際には、⑨で正しい組成式を選択した場合は、組成分析の対象としたフラグメントイオンのピークが精度良くすべて帰属されます。一方、選択した組成式が正しくない場合は、帰属できないフラグメントが残ったり、帰属できても精度が著しく悪い結果になることがあるので、選択した組成が正しいかどうかのヒントになります。



- ⑮ Compound Details タブをクリックすると、⑨Dictionaries タブで設定したデータベースでヒットした化合物名や構造を見ることができます。リストアップされた化合物名をクリックすると、選択した化合物の構造が表示されます。

は左から以下の通りです。

- 表示している構造を.mol形式で保存。
- 表示している化合物についての詳細を ChemSpider のウェブサイトを開いて表示。
- 表示している構造をクリップボードにコピー。
- 検索された化合物を一覧表示。

4.5 フラグメントの帰属 (Fragments Pane)

- 推定された構造式から Fragment Ion の計算を行い、Fragment Ion から構造上の解裂部分を帰属する機能です。

保存した*.mol ファイルを読み込む方法

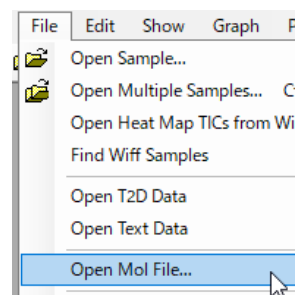
- 予め構造式を*.mol (Mol File) 形式で保存しておきます。

① 前述を参考に、MS/MS を表示します。

- * Training では Napropamide について解析します。MS/MS のみを残し、残りの Pane を削除、あるいは隠してください。

② メニューバーから File > Open mol file... を選択し、推定構造の mol file を開きます。

- * Training ではこのフォルダ内の Napropamide.mol を開いてください。



③ 構造式の右上にある ボタンを MS/MS のスペクトル上にドラッグ&ドロップして、構造式と MS/MS のスペクトルをリンクさせます

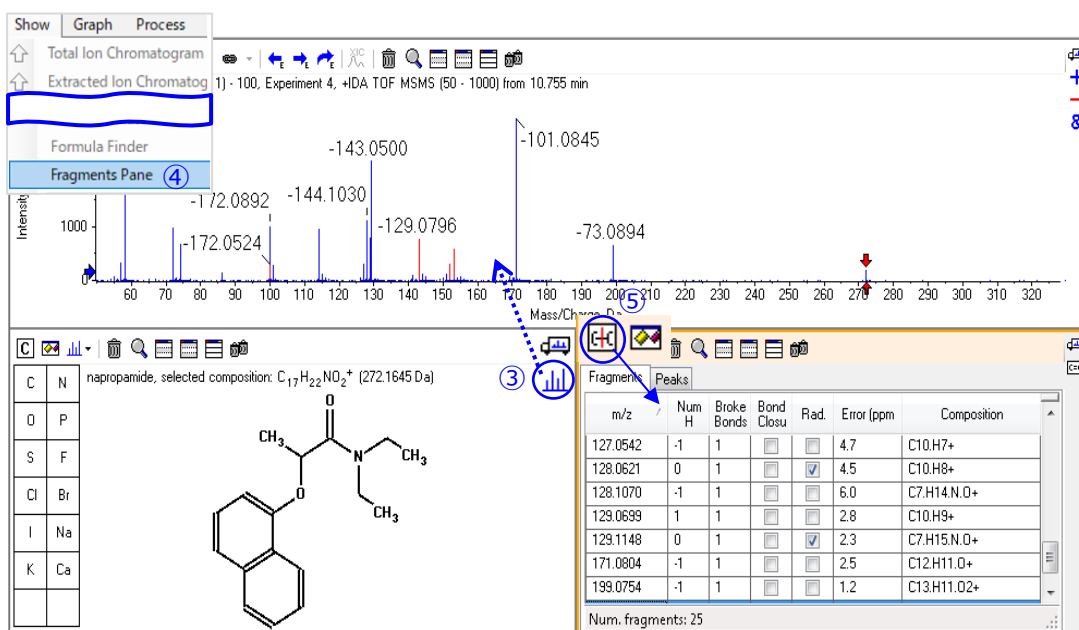
④ メニューバーから Show > Fragments Pane を選択します。


⑤ Fragment pane の左上の をクリックするとフラグメントの帰属が行われます。

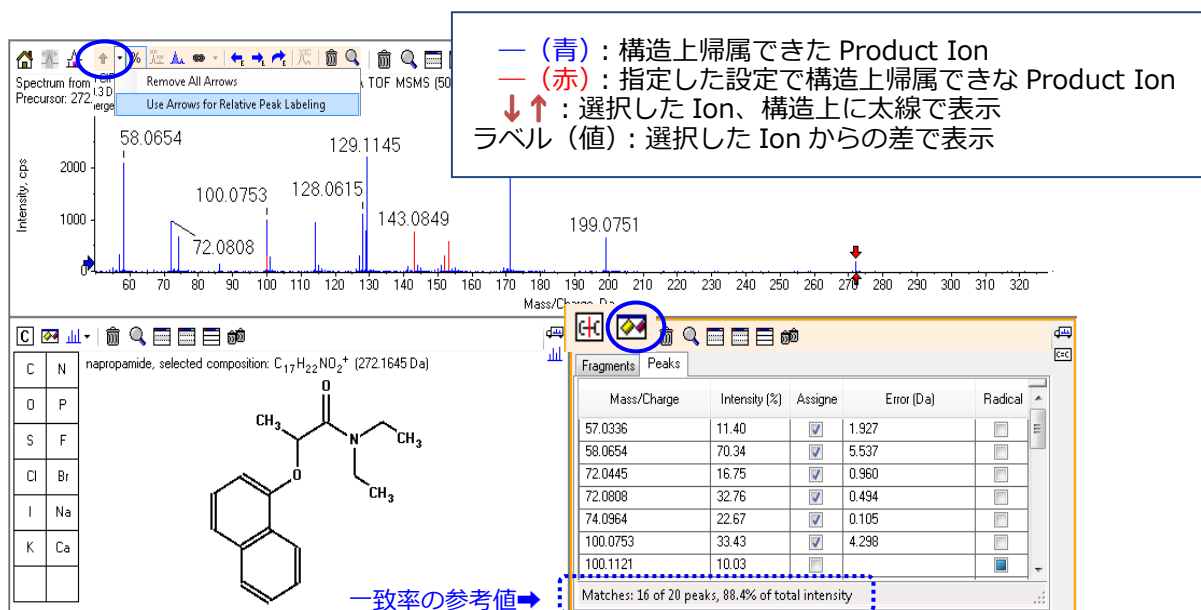
⑥ 右下の Fragment または Peaks タブ上で気になるイオンをクリックすると、対応する部分構造およびスペクトルが連動してハイライトされます。


- スペクトルまたは構造式の一部をドラッグして選択することで、対応する Fragment のリストまたは部分構造が連動してハイライトされます。

※ MS/MS 上の m/z の実測値が、選択した Ion の m/z からの差で表示が変わります。



- ⑦ MS/MS ラベルを差分から実測値に戻すには、 アイコン (Add arrows markers...) から Use Arrows for Relative Peak Labeling のチェックを外します。



- ⑧ Fragment pane の左上の  アイコンをクリックし、以下を参考に帰属の条件を変更後、OK しますと再解析が実行されます。
- 化合物の構造に適した設定を行ってください。Training では以下の条件を使用してください。
 - ※ 設定の詳細は Software User Guide (日本語、英文) をご参照ください。

Fragmentation

- 単結合の開裂のみに限定
- 環構造の開裂を許容
- 最大開裂数
- C-C の最大開裂数
- ヘテロ原子と結合した
- C-C の開裂の許容

• 閉環の許容 (2 重結合も加味)

• 開裂後の再結合の許容


• ラジカルイオンの許容

Peak List

- 誤差範囲
- スペクトル内にある Peak のみ表示 (Check を推奨)
- 2 か所以上の開裂時、1 か所開裂の Peak が帰属されたものに限る

Display

- 最小の m/z の指定
- 構造式を変更した際に自動的に再計算する

- ⑨ Fragment pane の左上の  をクリックすることで、帰属されます。


ChemSpider 等の検索結果から構造を読み込む方法

※ ChemSpider はライセンスをお持ちの方が使用可能です。


- ① 前述を参考に Formula Finder から、フラグメントの帰属を行う化合物の組成分析を行います。この際、ChemSpider を用いてオンラインデータベースの検索を行います。

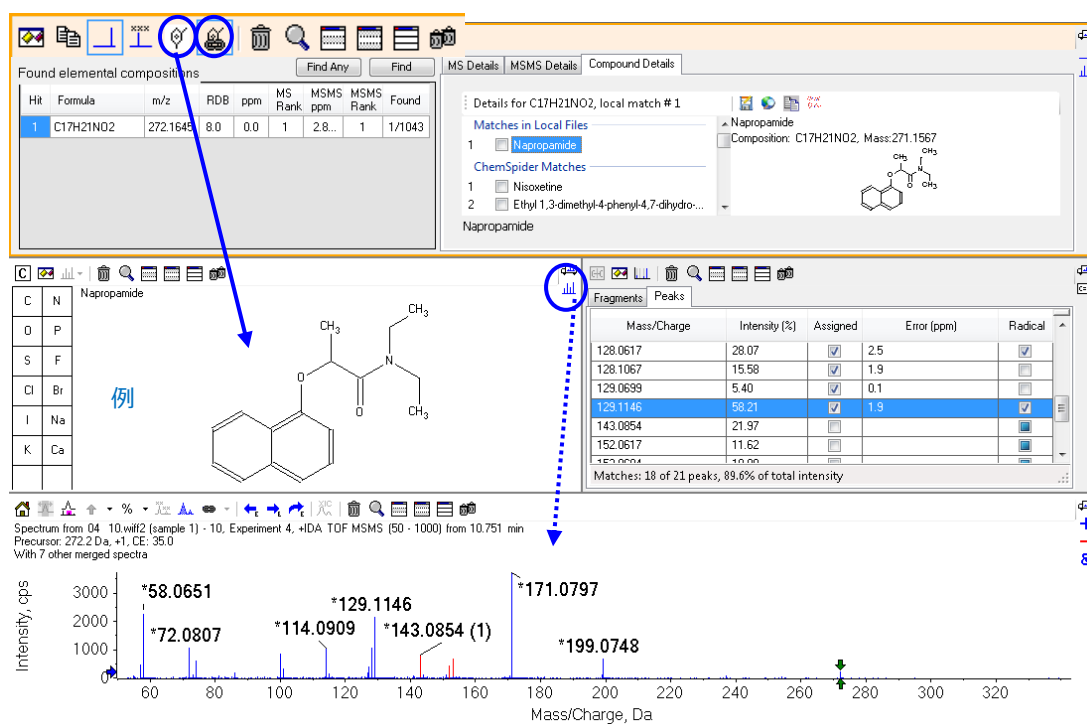
* Training では Napropamide について解析します。Formula Finder のウィンドウと MS/MS のみを残し、残りの Pane を削除、あるいは隠してください。


- ② Compound Details タブをクリックし、検索された化合物の構造を表示します。

- ③ Formula Finder ウィンドウ上の  アイコンをクリックすると、②で表示していた構造が編集可能な Structure Pane として新たに開きます。

- ④ 「保存した*.mol ファイルを読み込む方法」の③以降に従ってフラグメントの帰属を行います。

➤ Sutucture Pane と MS/MS をリンクするには、Structure Pane 上の  アイコンを目的の MS/MS スペクトル上にドラッグ&ドロップします。



- ⑤  アイコンをアクティブにすると、Formula Finder と Structure Pane がリンクされます。複数化合物がリストアップされている場合、Formula Finder 上で他の化合物を選択すると、Structure Pane に表示される構造式も自動で切り替わります。

4.6 Mass Calculators について

- メニューバーの Show > Mass Calculators で行います。

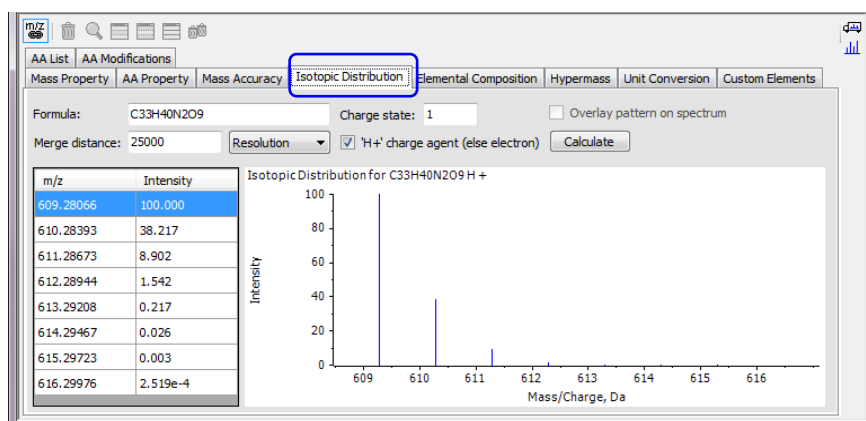
精密質量の計算

- ① Mass Property タブで解析する組成式を Formula、Charge State に価数（数字）を入力します。（例 C33H40N2O9, Charge State:1、H+のチェック有）
 - Formula には中性の組成式、'H+' charge agent (else electron)のチェックボックスにチェックを入れ、Charge State には 1 ないしは-1 と入力すると、Positive Mode は+H、Negative Mode は-H として精密質量を自動計算できます。
 - Charge State 入力例: Positive Mode: 1, Negative Mode: -1
 - チャージした状態の精密質量が知りたい場合は 1、-1 を入力。 Neutral Loss などチャージしていない状態の精密質量が知りたい場合は 0 を入力。
 - Na 付加体の計算例: C33H40N2O9Na, Charge State:1、H+のチェック無
- ② Calculate をクリックします。

Field	Positive Mode	Negative Mode
Formula	C33H40N2O9	C33H40N2O9
Charge state	1	-1
Composition	C33H41N2O9+	C33H39N2O9-
Charged monoisotopic mass	609.28066	607.26610
Monoisotopic m/z	609.28066	607.26610
Charged average mass	609.687	607.673
Nominal mass	609	607
RDB	15.0	15.0

同位体分布の計算

- ① Isotopic Distribution タブをクリックし、組成を入力すると理論上の同位体ピークが表示されます。



※ その他のタブについては英文 Manual を参照ください。

5 Analytics によるデータ解析

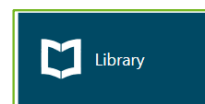
5.1 検索に使用する Library の準備

※ ライブラリーファイルを新規に入手した際は以下を参考に設定します。装置導入時および Training では弊社担当者が設定します。

- ① Home 上の「Library」をクリックします。
- ② インポートする形式を選び、該当するファイルを選択し Open します。
- ③ All をクリックして全化合物を選択し、Add To Compound Library に適宜名称を入力、Next をクリックしてインポート操作を行います。

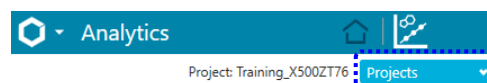
* Training では Free_Pesticide.mdb をインポートします。

- ④ Finish をクリックして終了します。次回からはこの作業は不要になります。



5.2 はじめに

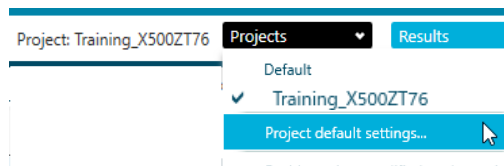
- ① Home 上の「Analytics」をクリックします。
- ② Projects をプルダウンし、該当するプロジェクト（ここでは Training_X500ZT76）を選択します。



5.2.1 初期設定の変更

➤ 最初に設定することで当該プロジェクトでは共通の解析パラメータとして使用できます。

- ① **Projects** をプルダウンし、Project Default Settings を選択します。



- ② **Quantitative Processing** では、図を参考に、ピーク検出に使用するアルゴリズムや積分条件、検量線の初期条件を設定します。

➤ Signal to Noise Algorithm は変更可能です。

The screenshot shows the 'Project Default Settings' dialog box for 'Project: Training_X500ZT76'. The 'Quantitative Processing' tab is active, showing various settings for signal-to-noise algorithms, integration, and units. A red box highlights the 'Signal to Noise Algorithm' dropdown menu, which is currently set to 'Relative Noise'. Other settings include 'Integration Algorithm' (MQ4), 'Retention Time (RT)' (0.02 Da), 'XIC width' (0.000 min), 'Expected RT' (30.0 sec), 'RT Half Window' (No), 'Minimum Peak Width' (3 points), 'Minimum Peak Height' (100.00), 'S/N Integration Threshold' (3), 'Gaussian Smooth Width' (1.0 points), 'Noise Percentage' (40.0 %), 'Baseline Subtract Window' (2.00 min), 'Peak Splitting' (2 points), 'Concentration units' (empty), 'Regression parameter' (Area), 'Regression type' (Linear), and 'Weighting type' (None). At the bottom, there are checkboxes for 'Apply to current project' (checked) and 'Use for new projects in current data root' (unchecked), along with a 'More Projects...' button.

③ **Qualitative Processing** では、下図を参考に定性解析に使用するライブラリーサーチや各種パラメータ等を設定します。

* 各設定は状況に応じて変更します。

The screenshot shows the 'Project Default Settings' dialog box with the 'Qualitative Processing' tab selected. The 'Library Search' section is active, showing 'Candidate Search' as the algorithm. Under 'Filtering Options', 'Retention Time' is unchecked, 'Precursor Mass Tolerance' is checked with a value of 0.4 Da, and 'Collision Energy' is checked with a value of 5 eV. 'Use Polarity' is checked, and 'Use Collision Energy Spread' is unchecked. Under 'Scoring Parameters', 'Fragment Mass Tolerance' is 0.4 Da, 'Intensity Factor' is 5, 'Ignore Isotopes In Unknown' is unchecked, and 'Intensity Threshold' is 0.05. Under 'Scoring Criteria', 'Results Sorted By' is 'Purity', 'Minimal Purity' is 10.0%, and 'Maximal Number Of Hits' is 5. 'Use Compound Specific Purity Threshold' is unchecked.

④ **Workspace Layout** は、事前に設定した画面のレイアウトファイル（テーブルの表示項目やサイズ、検量線の表示、クロマトグラム数、各 Pane の位置やサイズなど）を読み込みます。

- 事前にデフォルト設定されている場合は、該当ファイルが Default layout used... で自動選択されます。
- ファイルがない場合は空欄にします。事前に保存したレイアウトファイルがある場合は **Browse...** から選択します。

※ 保存先例：D:¥SCIEX OS Data¥Training_X500ZT76¥Project Information

The screenshot shows the 'Project Default Settings' dialog box with the 'Workspace Layout' tab selected. The 'Default layout used for new results' field contains the path 'C:\...n\Quant_MTS.qlayout' and has a 'Browse...' button next to it. Below this is a 'Preview' window showing a software interface with a table, a chromatogram, and other data visualization elements. At the bottom, there are checkboxes for 'Apply to current project' (checked) and 'Use for new projects in current data root' (unchecked), along with 'More Projects...', 'Apply', 'Close', and 'Help' buttons.

⑤ すべての設定が終了しましたら **Apply** をクリック後、**Close** をクリックします。

5.3 定量解析とターゲットスクリーニング

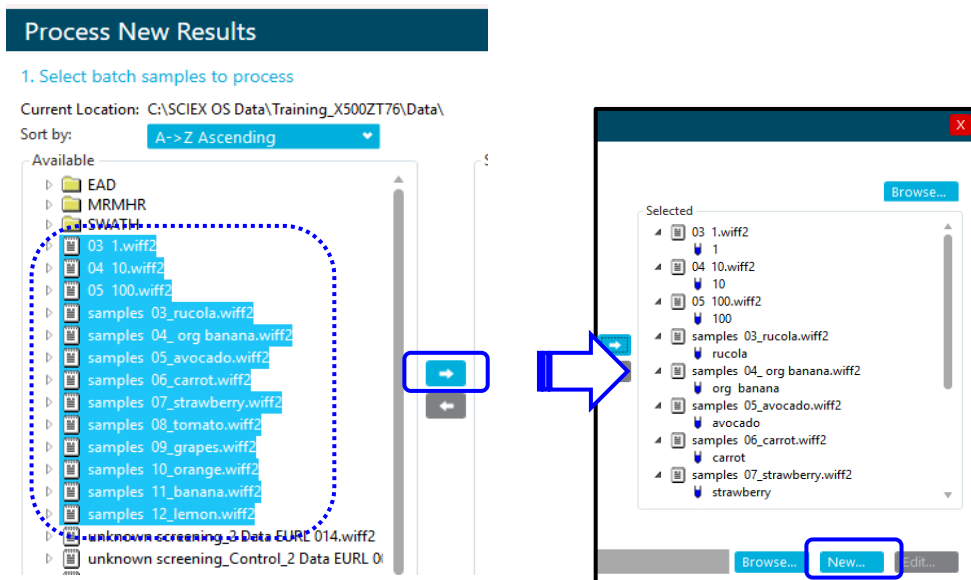
5.3.1 解析メソッドの作成

① **Results** をクリックし New を選択します。



② 解析するデータをすべて選択し、=> アイコンで画面右側にサンプルを移動します。

* Training では下図を参考に選びます。



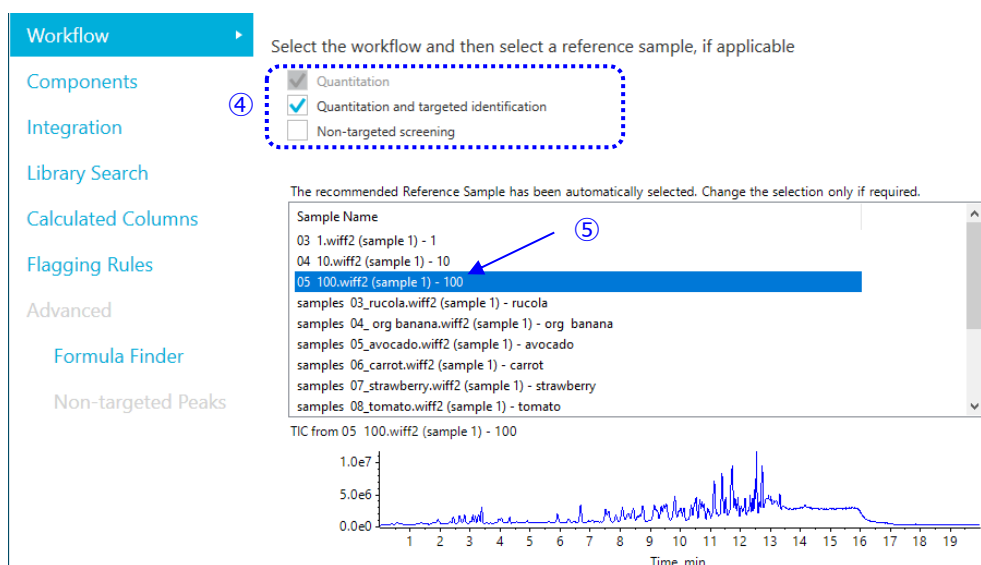
③ 2. Select a Processing Method では **New** をクリックします。

※ 2 回目以降の解析の際は、Select a Processing Method の **Browse...** から既存の解析メソッドファイルを選択します。

④ **Workflow** では解析するワークフローを選択します。定量とターゲットスクリーニングは、Quantitation and targeted identification にチェックを入れます。

➤ 定量のみの解析の場合は、Quantitation にチェックを入れます。

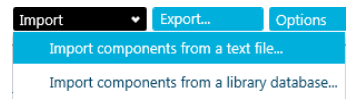
⑤ 代表サンプルを選択します。選択しない場合は自動選択されます。



⑥ **Components** では、下図を参考に、定量あるいはターゲットスクリーニングに使用するプレカーサーイオンの情報として化合物名と組成式、XIC の抽出幅、わかれば保持時間を入力し、付加イオンを選択します。

- あらかじめ Excel で作成しておくともコピー & ペーストができます。
- 以前作成して Export したものを Import して使うことができます。

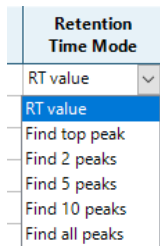
* Training では Import->Import components from a text...を選び、D:\SCIEX OS Data\Training_X500ZT76\Quantitation Methods 中の Pesticide.txt を選択します。



Row	IS	Group	Name	Chemical Formula	Adduct/Ch...	Precursor (Q1) Mass (Da)	XIC Width (Da)	Retention Time Mode	Retention Time (min)	IS Name	Experiment Index
1	<input type="checkbox"/>		1-Naphthalene...	C12H11NO	[M+H] ⁺	186.09134	0.02	RT value			1 +IDA TOF MS (100 - 1000)
2	<input type="checkbox"/>		3-hydroxycarbof...	C12H15NO4	[M+H] ⁺	238.10738	0.02	RT value			1 +IDA TOF MS (100 - 1000)
3	<input type="checkbox"/>		asulame	C8H10N2O4S	[M+H] ⁺	231.0434	0.02	RT value			1 +IDA TOF MS (100 - 1000)
4	<input type="checkbox"/>		atrazine-deseth...	C3H4ClN5	[M+H] ⁺	146.0228	0.02	RT value			1 +IDA TOF MS (100 - 1000)
5	<input type="checkbox"/>		avermectin B1a	C48H72O14	[M+NH4] ⁺	890.52603	0.02	RT value			1 +IDA TOF MS (100 - 1000)
6	<input type="checkbox"/>		bendiocarb	C11H13NO4	[M+H] ⁺	224.09173	0.02	RT value			1 +IDA TOF MS (100 - 1000)
7	<input type="checkbox"/>		benthiavalicarb-...	C18H24FN3O3S	[M+H] ⁺	382.15952	0.02	RT value			1 +IDA TOF MS (100 - 1000)
8	<input type="checkbox"/>		bifenazate	C17H20N2O3	[M+H] ⁺	301.15467	0.02	RT value			1 +IDA TOF MS (100 - 1000)

例：0.02Da = ±10mDa で抽出

- Library 情報からプレカーサーイオンを Import することが可能です。Import->Import components from a library database...から操作します（詳細は【7.2MRM HR の定量解析】の【Tips】をご参照ください）。
- Retention Time Mode: 単一ピークとして観測される場合はデフォルトの RT Value を選択します。複数ピークが検出する可能性がある場合、プルダウンで Find XX peaks を選択します。



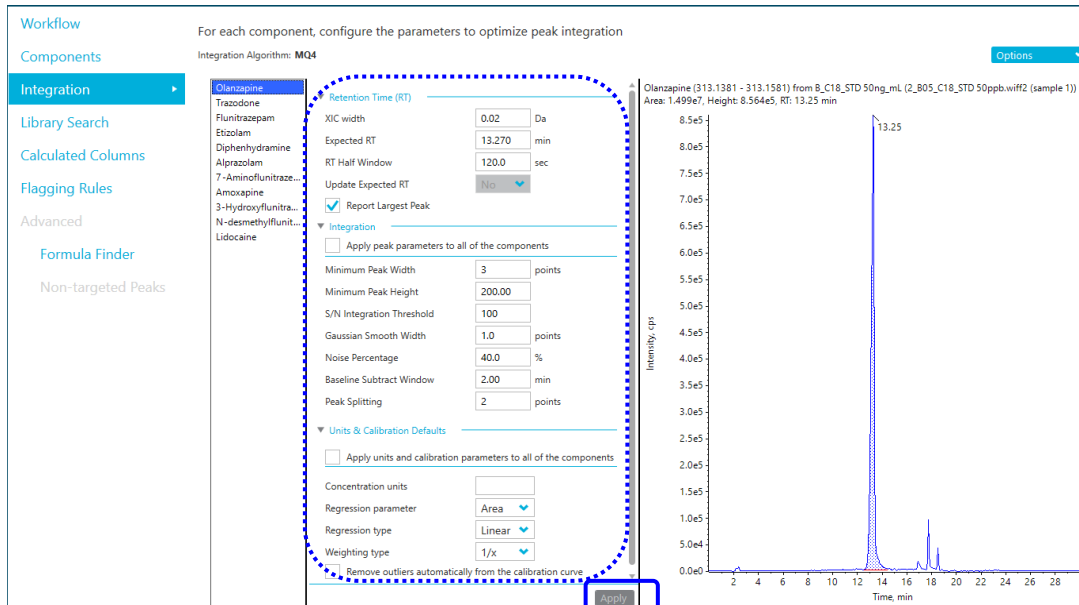
■ 内標を使った設定

- 内標とする成分の IS カラムにチェック入れ、各成分の IS Name カラムではプルダウンからその内標成分を選択します。
- すべての成分を同じ内標として設定する場合は IS Name カラム上を右クリックして Fill down on columns を選びます。

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
1	<input type="checkbox"/>	1-Naph...	1-Naphthalene...	C12H11NO	1	[M+H] ⁺	186.09134		0.01	RT value	4.9	IS_XXX
2	<input type="checkbox"/>	3-hydr...	3-hydroxycarbof...	C12H15NO4	1	[M+H] ⁺	238.10738		0.01	RT value	3.29	IS_XXX
3	<input type="checkbox"/>	asulame	asulame	C8H10N2O4S	1	[M+H] ⁺	231.0434		0.01	RT value	1.85	IS_XXX
4	<input type="checkbox"/>	atrazin...	atrazine-deseth...	C3H4ClN5	1	[M+H] ⁺	146.0228		0.01	RT value	0.58	
5	<input checked="" type="checkbox"/>		IS_XXX	C48H72O14	1	[M+NH4] ⁺	890.52603		0.01	RT value	12.53	

⑦ **Integration** では、各成分の積分の確認および変更を行います。ピークがうまく積分されていない場合は、各パラメータを変更後、**Apply** をクリックしてクロマトグラムに反映します。

- ※ ピークが複数あって目的ピークが積分されていない場合は、ドラッグして目的ピークを選択すると塗りつぶしに変わります。それでも塗りつぶしされない場合は、以降を参考に積分パラメータを変更します。
- ※ 複数化合物がある場合は同様の操作で確認します。



■ 【Retention time (RT)】

- Expect RT : 予想される RT
- XIC Width: ピークの抽出範囲 (例 : 0.02Da=±10mDa)
- RT half Window : 予想される RT に対し設定した値 (例 : 120sec = ±60sec)の範囲内で検出されるピーク積分します
- Report Largest Peak : 設定した保持時間の範囲内で検出された最大ピークを積分します

■ 【スムージングおよび積分パラメータ】

- Min. Peak Width : 設定したピーク幅 (points) を超えるピークを積分します。
- Min. Peak Height : 設定した高さ (Intensity, cps) を超えるピークを積分します。ベースラインよりも高めに設定することで、ノイズや強度の低いピークは積分されなくなります。
- S/N Integration Threshold : 設定した S/N を超えるピークを積分します。
- Gaussian Smooth Width : スムージングをかける場合、値を入力します。
- Noise Percentage : 値を大きくする程、ベースラインが上がり、ピーク面積値が小さくなります。
- Baseline Sub. Window : ベースラインとして設定する最小強度を検索する幅になります。Peak 幅の 2-3 倍程度が Default 値になります。
- Peak Splitting : 値を大きくする程、割れたピークを一つのピークとして認識しやすくなります。

■ 【検量線】

- 単位や検量線の種類、重み付け等を設定します。
 - Apply unit and calibration parameter to all of the components : 設定した検量線のパラメータを他のすべての成分も反映する際にチェックを入れます。
 - Remove outliers automatically from the calibration curve : 検量線から外れ値を自動で除外します。
- 設定を変更した際は **Apply** をクリックします。

⑧ **Library Search** では、**Perform Library Search** にチェックを入れ、図を参考に使用するライブラリーや各種パラメータを設定します。

* Training では Smart Confirmation Search、Search All Libraries を選択します。

- Precursor Mass Tolerance や Collision Energy など検索条件に制限をつける場合など、状況に応じて設定します。

The screenshot shows the 'Library Search' configuration window. A blue box highlights the 'Perform Library Search' checkbox. Callouts provide the following information:

- 検索アルゴリズム等**: Points to the 'Smart Confirmation Search' algorithm selection.
- Search All Libraries または、使用するライブラリーにチェック**: Points to the 'Search All Libraries' and 'Free_Pesticide' checkboxes.
- 結果の表示**: Points to the 'Results Sorted By' dropdown menu.
- 詳細設定 * 変更される場合は Help を参照ください**: Points to the 'Advanced' section containing 'Fragment Mass Tolerance', 'Intensity Factor', and 'Intensity Threshold'.

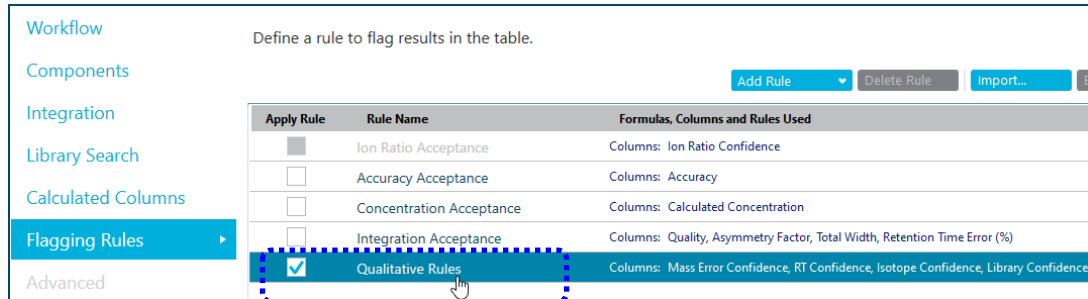
Tolerance
* 使用する Data、ライブラリーに応じて設定してください。TOF の data で作成された Library の場合、通常 5mDa になります。

■ **【検索アルゴリズムとソートについて】**

Algorithm	検索方法
Candidate Search	Algorithm Parameter に基づき、未知成分として MS/MS を検索 推奨：ノンターゲットスクリーニング
Confirmation Search	Components で設定した化合物名で登録された MS/MS を検索。 Components の化合物名がライブラリー登録名と異なる場合はヒットしない。 推奨：ターゲットスクリーニング
Smart Confirmation Search	Confirmation Search、Candidate Search の順に検索。 Components で設定した化合物名と一致するものを検索し、ヒットしない場合は Algorithm Parameter に基づいて検索。 推奨：ターゲットスクリーニング 結果の表示 ・成分名：設定した化合物名とそのライブラリーがヒット ・成分名 [Smart Confirmation]：成分名で登録したライブラリーではヒットせず、別の化合物の MS/MS でヒット。
Fit	ライブラリー中の MS/MS のピークが、Unknown スペクトルに対して、どれだけ Hit しているのかで算出
RevFit	Unknown の MS/MS のピークが、ライブラリー中の MS/MS に対して、どれだけ Hit しているのかで算出
Purity	Fit および RevFit を総合的に評価した一致率

⑨ **Fragging Rules** では、質量誤差、保持時間、同位体比、ライブラリースコア等、各項目における信頼度を設定し、外れた結果についてハイライトすることができます。設定する Rule にチェックを入れ、その文字列をクリックすると設定画面が表示されます。下図を参考に設定します。

⑩ Qualitative Rules にチェックを入れ、その文字列をクリックします。

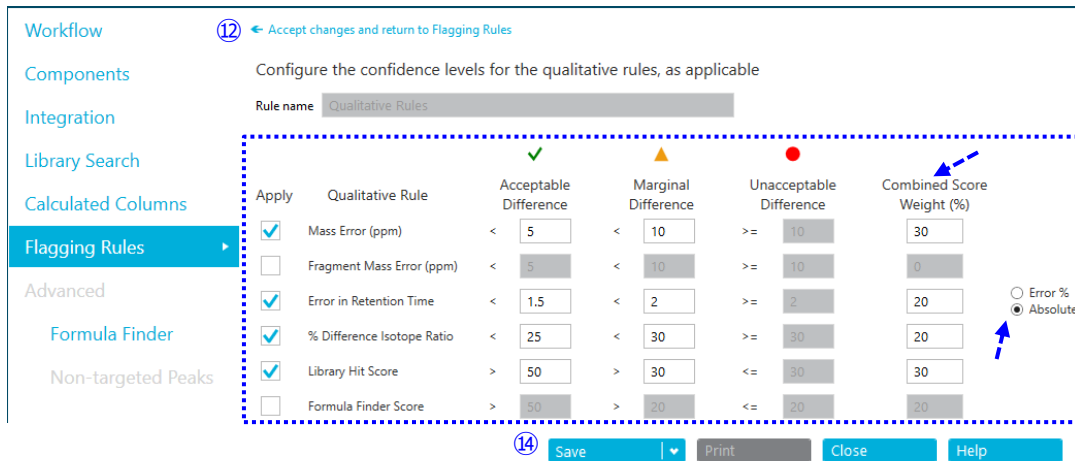


⑪ Qualitative Rules では下図を参考に設定します。判定する項目にチェックを入れ、合格または不合格とする値を設定します。

- Mass Error (ppm) : プレカーサーイオンの精度
- Error in Retention Time : 予想される保持時間 (相対または絶対値で評価)
- % Difference Isotope Ratio : 目的化合物の組成式から計算される同位体比
- Library Hit Score : ライブラリーサーチの一致率

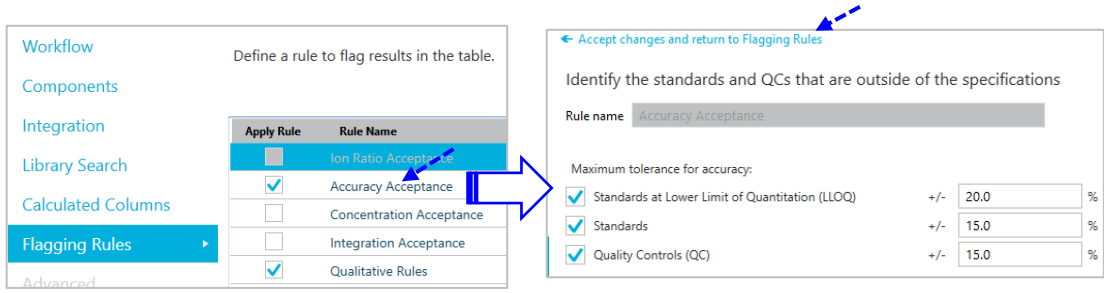
※ 値は解析時の状況に応じて適宜ご変更ください。

※ Combined Score Weight (%)は合計 100 になるように各項目に値を入力します。



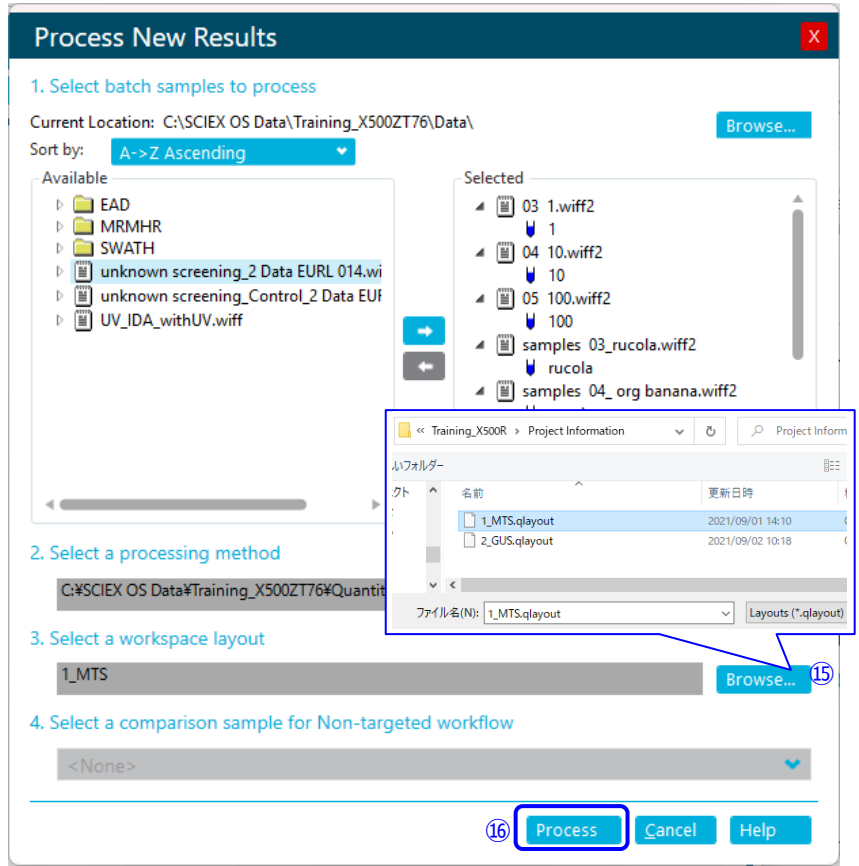
⑫ 設定が終わりましたら、上部の **Accept changes and return to Fragging Rules** をクリックすると、元の画面に戻ります。

- ⑬ 検量線作成時は Accuracy Acceptance をクリックし、真度の許容誤差を設定します。戻る際は上部の **Accept changes and return to Flagging Rules** をクリックします。



- ⑭ 右下の **Save** をクリックし、解析メソッドに名前を付けて保存します。
 * Training では MTS と入力します。

- ⑮ **3. Select a workspace layout** ではレイアウトを選択します。Training では 1_MTS.qlayout を選びます。
 ※ 変更する際は **Browse...** から選択します。
 ※ 保存先例 : D:\\$SCIEX OS Data\Training_X500ZT76\Project Information



- ⑯ **Process** をクリックし解析を実行します。

5.3.2 結果の確認

- ① 解析が終わると、Results Table が表示されます。
- ② 左側の Components and Groups タブを選び、任意の化合物を選択します。定量的場合は以下を参考に化合物ごとの定量値は真度を確認します。

検量線の作成

Results Table の設定

- Sample Type および Actual Concentration は図を参考に入力します。設定するとサンプルの定量値が Calculated Concentration に表示されます。
- Sample Type はプルダウンから選択します。
 - Blank (ブランク), 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) を選択してください。

Index	Sample No.	Sample Type	Component Name	Actual Concentration	Retention Time	Area	Calculated Concentration	Accuracy
2	1	Standard	3-hydroxycarbofuran	1.000	3.29	4.483e3	0.900	89.99
79	10	Standard	3-hydroxycarbofuran	10.000	3.29	3.991e4	11.101	111.01
156	100	Standard	3-hydroxycarbofuran	100.000	3.29	3.452e5	98.999	99.00
233	rucola	Unknown	3-hydroxycarbofuran	N/A	3.48	5.788e2	< 0	N/A
310	org banana	Standard	3-hydroxycarbofuran	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
387	avocado	Quality Control	3-hydroxycarbofuran	N/A	3.59	1.069e3	< 0	N/A
464	carrot	Blank	3-hydroxycarbofuran	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
541	strawberry	Double Blank	3-hydroxycarbofuran	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
		Solvent	3-hydroxycarbofuran	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A

- Actual Concentration には Standard (既知濃度サンプル) の濃度を入力します。ここでは 1~100 を入力します。この値を他の全ての化合物 (Component) に反映させるには、テーブル上を右クリックし、Apply Current Analyte's Actual Concentrations to All を選択します。

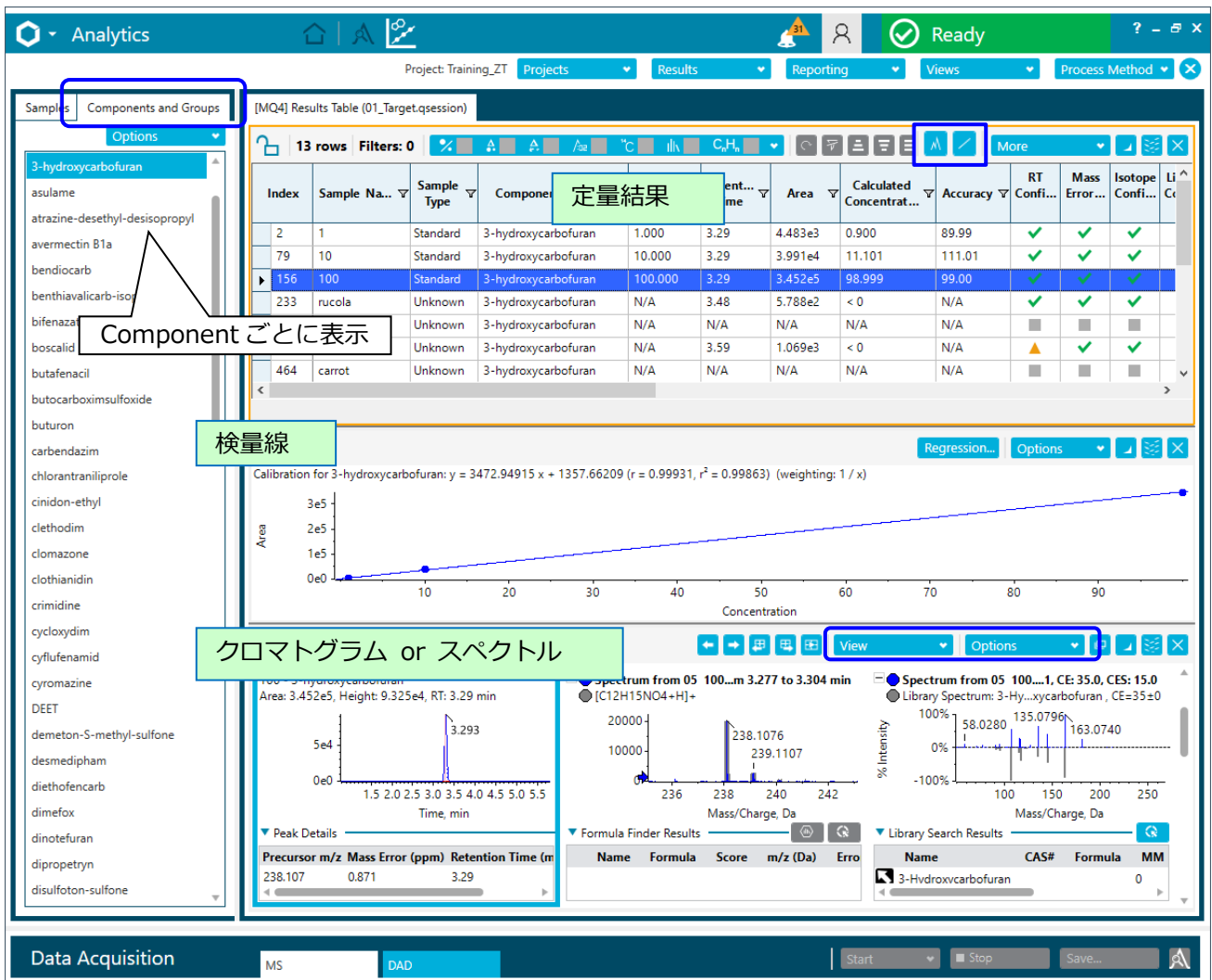
Actual Concentration	Retention Time	Area	Found At Mass	Calculated Concentration	Accuracy
1.0					
10.					
100.					
N/A					
N/A					
N/A					

検量線の表示

- (Display the Calibration Curve) アイコンをクリックして検量線を表示させます。
- ※ 【5.2.1 解析メソッドの作成】で検量線を含む Workspace Layout を設定した場合は既に表示されています。

クロマトグラムの表示

- ① (Display the Peak Review) アイコンをクリックしてピークを表示させます。
- ※ 【5.2.1 解析メソッドの作成】でクロマトを含む Workspace Layout を設定した場合は既に表示されています
- Results Table、クロマトグラム、検量線はリンクしており、別の Component を選択すると連動して表示が変わります。

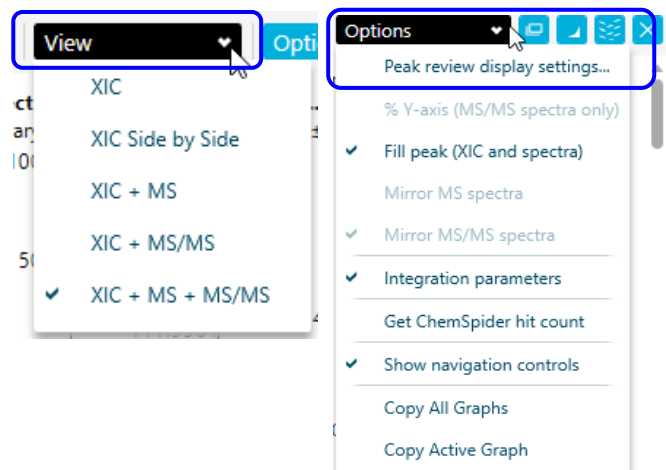


■ 表示するクロマトグラム等の変更

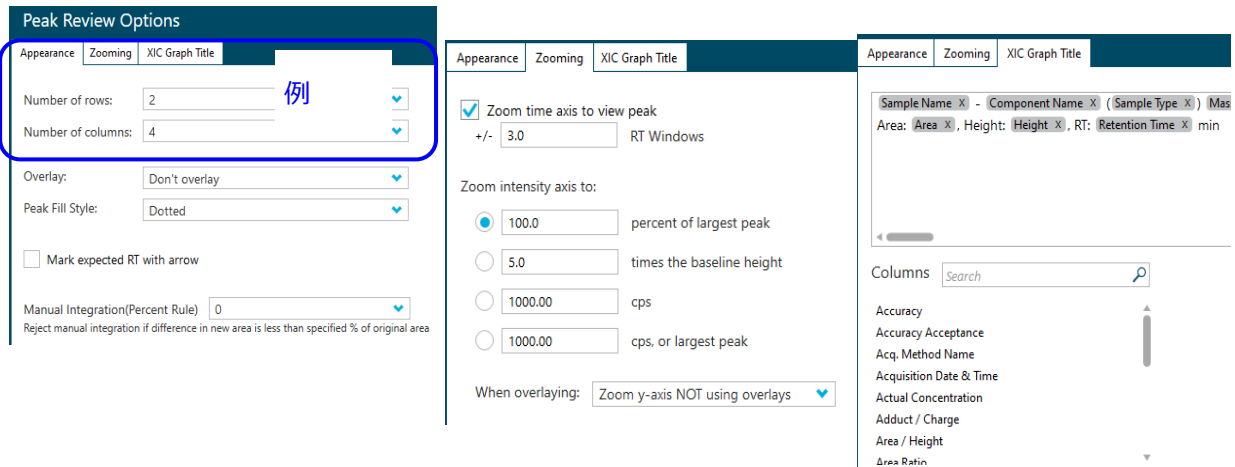
① View をクリックし、クロマトまたはスペクトルの表示を切り替えます。




- XIC : 定量 (トレーニングではこちらを選択してください)
- XIC + MS + MS/MS : 定性 (ライブラリーサーチの結果確認)

② 数 (縦、横数) を変更するには、クロマトグラム右上の Options > Peak review display settings を選択します。



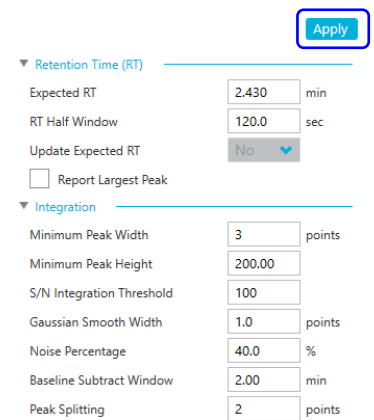
- ③ Peak review display settings では、表示するクロマトの数、X 軸の拡大の有無や Y 軸の拡大、グラフタイトルの編集などが設定できます。
- ④ Appearance タブの Number of rows、Number of columns で変更後、OK します。



- ⑤ クロマトグラム右上の Options > Show navigation control を選択すると、 がクロマトグラム上部に表示されます。 をクリックすると、前後のページが表示されます。
- 各 Pane 右上の  アイコンは、順に、別ウィンドウ表示、移動、消す、です。

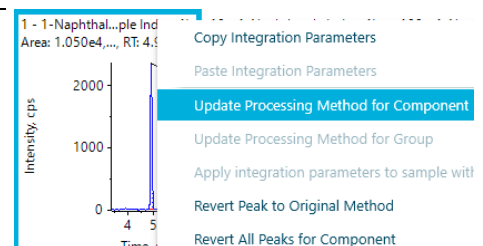
■ 積分パラメータの変更

- ① 必要に応じてクロマトグラム横に表示されているパラメータ値を変更し、クロマトグラムのピーク認識方法を変更します。
- 各パラメータの詳細については、【5.2.1 解析メソッドの作成】をご参照ください。
- ② 変更後 **Apply** をクリックすると、選択したサンプルピークに変更したパラメータが反映されます。
- ③ 全サンプルピークにこのパラメータ設定を反映させる場合は以下を参照ください。



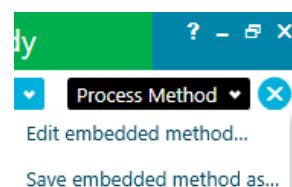
■ 変更した積分パラメーターを全サンプルピークに反映させる

- ① 選択したサンプルに値を反映させた後、クロマトグラム上を右クリックします。
- ② Update Processing Method for Component を選択します。



■ 解析メソッドの変更と保存

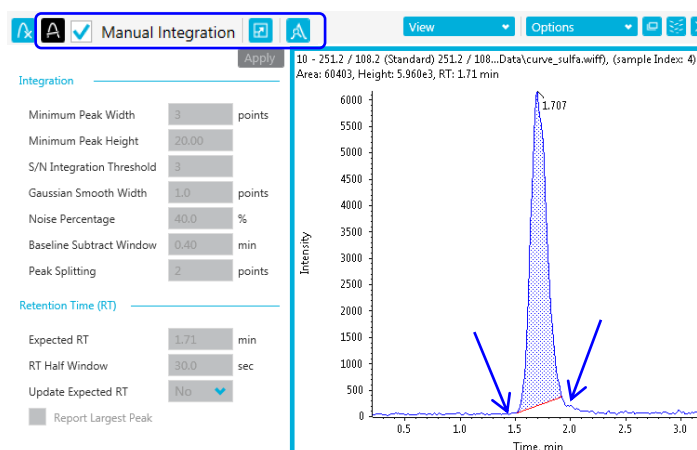
- 化合物の追加や編集など解析メソッドを変更する場合は、**Process Method** から **Edit embedded method...** を選び、メソッドを変更後、**Process & Close** をクリックします。
- ※ ライブラリーサーチの検索条件の変更時にも使用します。
- ※ この操作は今開いている Result Table 上での設定変更となります。
- 変更した解析メソッドをファイルとして保存するには、**Process Method** から **Save embedded method as...** を選び、既存のものに上書きするには既存のファイルを選択、あるいは別名を入力して **Save** をクリックします。



■ 手動積分

※ 必要に応じて行います。

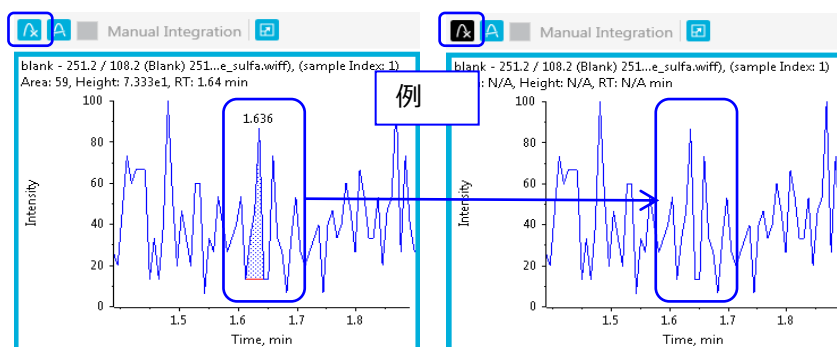
- ① 選択したクロマトグラムを拡大表示するには、**A** をクリックします。
- ② クロマトグラム画面上部の **A** をクリックします。
- ③ ピークの左端をクリックします。
- ④ そのままドラックしてピークの右端で離します。



- 元のパラメータに戻す場合は Manual Integration 横のチェックを外します。
- **A** (Open data exploration) アイコンは選択したデータを【Explorer】へ展開します。

■ ピークとしての認識を外す

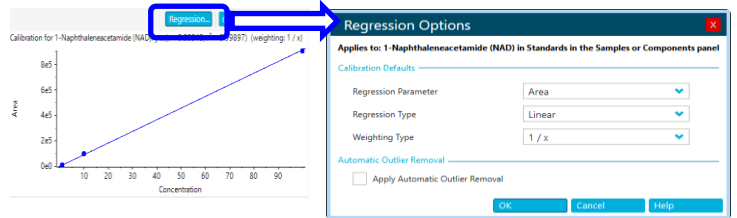
- ① ブランク等、ピークとして認識したくない場合、ピーク不検出アイコン **A** をクリックすることにより、ピークを不検出にします。



■ 検量線の表示、重みづけ、検量線の種類を変更

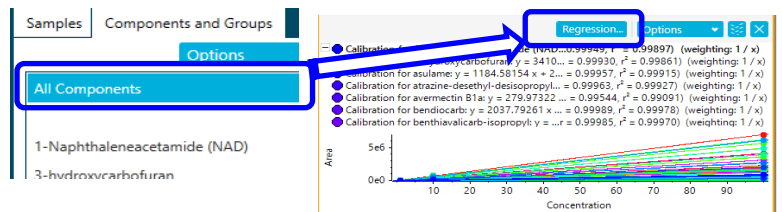
- Results Table の Used カラムのチェックを外すと、そのデータポイントを検量線から除外します。
- 必要に応じて Regression をクリックし、重みづけや検量線の種類を変更します

- Regression Parameter : Area→Height の変更
- Regression Type : 検量線の種類の変更
- Weighting Type : 重みづけの変更



※ 全ての成分の検量線の重みづけなどを一括で変更するには、All Components をクリックし、Regression で変更します。

※ 複数の化合物がある時、比較したい成分を Control キーを押しながら複数選択することができます。この場合、Results Table とクロマト表示画面には選択した化合物のすべての情報が表示され、検量線は重ね書きされます。



■ データの追加と削除

* Training では行いません。

① 追加するには、Results Table 画面右上の More > Add Samples を選択し、Available で追加したいサンプルを選択後、→で Selected に移動します。

② OK をクリックすることで Results Table に追加されます。

③ データを削除するには、Results Table で削除したいデータ（行）を選択し、Results Table 画面右上の More > Remove Selected Samples を選択することで削除されます。

※ 削除後、元に戻すことはできません。

Index	Sample Name	Sample Type	Component Name	Actual Concen...	Expected RT	Retent... Time	Area
1	BK	Unknown	Olanzapine	N/A	13.27	N/A	N/A
12	BK	Unknown	Olanzapine	N/A	13.27	N/A	N/A
23	B_C18_STD 5ng_mL	Unknown	Olanzapine	N/A	13.27	13.23	1.403e6
34	B_C18_STD 10ng_mL	Unknown	Olanzapine	N/A	13.27	13.23	3.004e6
45	B_C18_STD 50ng_mL	Unknown	Olanzapine	N/A	13.27	13.25	1.499e7
56	B_C18_STD 100ng_mL	Unknown	Olanzapine	N/A	13.27	13.20	2.384e7
67	B_C18_STD 250ng_mL	Unknown	Olanzapine	N/A	13.27	13.24	7.223e7

■ 結果の保存

① 結果を保存するには、Results から Save を選び名前を付けて保存します。

* Training では、Quant と名前を付けて保存します。

5.3.3 スクリーニング結果の確認

① RTやMass等の Confidence カラムでは、解析メソッド作成時の Qualitative Rules で設定した項目についてパスしかどうかの判定結果が表示されます。

➤ 左側の Sample または Components and Group タブを選び、サンプルあるいは成分ごとに検出された成分の結果を確認します。

Sample Components and Groups [MQ4] Results Table (01_Target.qsession)

Options 13 rows Filters: 0 Quality for Rules Filters

Index	Sample Na...	Sample Type	Dilu... Factor	Component Name	Actual Concen...	Area	RT Confi...	Mass Error...	Isotope Confi...	Library Confi...	Library Hit
2	1	Standard	1.00	3-hydroxycarbofuran	1.000	4.483e3	✓	✓	✓	✓	3-Hydroxycarbofuran
79	10	Standard	1.00	3-hydroxycarbofuran	10.000	3.991e4	✓	✓	✓	✓	3-Hydroxycarbofuran
▶ 156	100	Standard	1.00	3-hydroxycarbofuran	100.000	3.452e5	✓	✓	✓	✓	3-Hydroxycarbofuran
233	rucola	Unknown	1.00	3-hydroxycarbofuran	N/A	5.788e2	✓	✓	✓	■	No Acquired MSMS
310	org banana	Unknown	10.00	3-hydroxycarbofuran	N/A	N/A	■	■	■	■	No Acquired MSMS
387	avocado	Unknown	10.00	3-hydroxycarbofuran	N/A	1.069e3	▲	✓	✓	■	No Acquired MSMS

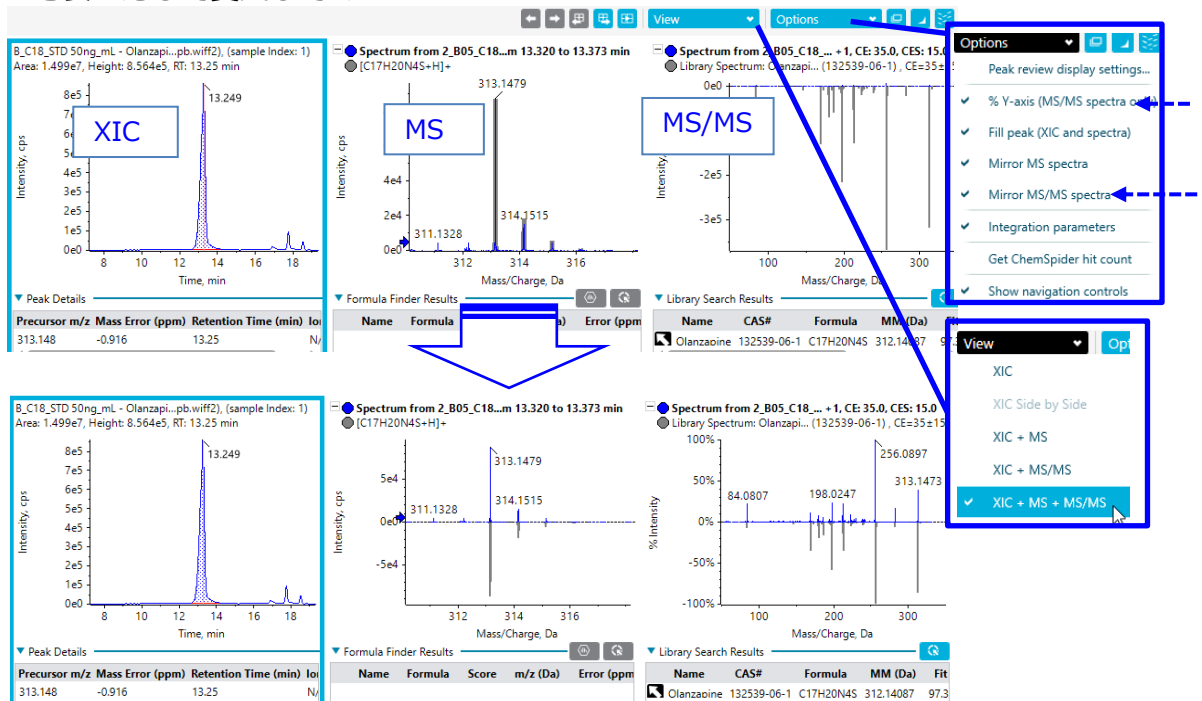
Samples Components and Groups [MQ4] Results Table (01_Target.qsession)

Options 77 rows Filters: 0 Quality for Rules Filters

Index	Sample Na...	Sample Type	Dilu... Factor	Component Name	Actual Concen...	Area	RT Confi...	Mass Error...	Isotope Confi...	Library Confi...	Library Hit
▶ 156	100	Standard	1.00	3-hydroxycarbofuran	100.000	3.452e5	✓	✓	✓	✓	3-Hydroxycarbofuran
163	100	Standard	1.00	boscalid	100.000	9.603e5	✓	✓	✓	✓	Nicobifen [Smart Confirmation]
167	100	Standard	1.00	carbendazim	100.000	2.273e6	✓	✓	✓	✓	Carbendazim
187	100	Standard	1.00	ethiofencarb	100.000	9.975e4	✓	✓	✓	✓	Ethiofencarb
188	100	Standard	1.00	ethiofencarb sulfone	100.000	6.279e4	✓	✓	✓	✓	Ethiofencarb sulfone [Smart...]
189	100	Standard	1.00	ethiofencarb sulfide	100.000	6.240e5	✓	✓	✓	✓	Ethiofencarb sulfide [Sma...]

■ XIC、MS、MS/MS の表示

- ① View をクリックして XIC+MS+MS/MS を選びます。選択したピークの XIC および MS (青色：実測、灰色：理論パターン)、MS/MS (青色：実測、灰色：ライブラリー) が表示されます。
- ② Options では、MS/MS の縦軸の相対表示や MS および MS/MS のミラー/重ね書きが設定できます。必要に応じて変更してください。



※ MS の実測および理論パターンをミラーで表示するには Mirror MS spectra にチェックを入れます。

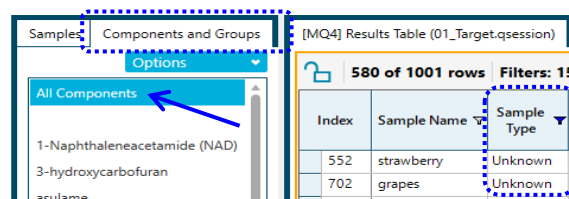
※ MS/MS の縦軸を相対表示するには、% Y-axis にチェックを入れます。Options > Peak review display settings では、Row の数が変更できますので、適宜変更してください。Training では 1 を選択します。

➤ Unknown サンプルにおいて、Library Confidence が陽性となった結果についてはしっかりと確認します。

■ 陽性の確認例

① サンプル事の結果を確認するにはサンプルタブをクリックします。

* Training では Unknown すべての結果を一度に確認するため、Components and Groups タブ上の、All Components を選び、Sample Type カラムのフィルターマークをクリックして Unknown のみにチェックを入れます。



② Results Table の Library Score カラムを選択して (Sort selected column from largest to smallest) アイコンをクリックしてスコアの高い順に並び替え、各成分の結果を順に確認します。

* Training では Grapes/Boscalid、Library Hit : Nicobifen をクリックします。

Index	Sample Name	Sample Type	Dilut. Factor	Component Name	Actual Concentr...	Retenti... Time	Area	Found At Mass	Calculated Concentrati...	Accuracy	RT Conf...	Mass Error...	Isotope Conf...	Library Conf...	Library Hit	Library Score
552	strawberry	Unknown	10.00	carbendazim	N/A	1.88	1.679e4	192.077	4.196	N/A	✓	✓	✓	✓	Carbendazim	100.000
702	grapes	Unknown	10.00	boscalid	N/A	9.80	7.268e5	343.040	748.933	N/A	✓	✓	✓	✓	Nicobifen [Smart Confirmation]	100.000
471	carrot	Unknown	10.00	boscalid	N/A	9.79	4.387e3	343.040	1.771	N/A	✓	✓	✓	✓	Nicobifen [Smart Confirmation]	97.471
856	banana	Unknown	10.00	boscalid	N/A	9.79	2.851e3	343.040	0.183	N/A	✓	✓	✓	✓	Nicobifen [Smart Confirmation]	90.828
316	org banana	Unknown	10.00	bifenazate	N/A	10.48	5.036e2	301.177	< 0	N/A	✓	✓	✓	✓	MCPA-butyl [Smart Confir...	29.192
239	rucola	Unknown	10.00	bifenazate	N/A	10.77	5.508e2	301.141	< 0	N/A	✓	✓	✓	✓	MCPA-butyl [Smart Confir...	27.382
254	rucola	Unknown	10.00	DEET	N/A	7.47	2.155e4	192.138	< 0	N/A	✓	✓	✓	✓	No Match	0.000
270	rucola	Unknown	10.00	fenpyroximate	N/A	12.48	1.784e3	422.207	2.984	N/A	✓	✓	✓	✓	No Match	0.000
273	rucola	Unknown	10.00	flutolanil	N/A	9.67	5.742e3	324.123	< 0	N/A	✓	✓	✓	✓	No Match	0.000
701	grapes	Unknown	10.00	boscalid	N/A	9.80	7.268e5	343.040	748.933	N/A	✓	✓	✓	✓	No Match	0.000

③ ライブラリーサーチの詳細を確認するには MS/MS 下の Library Search Results をクリックします。

➤ 他の候補がある場合は一覧で表示されます。別候補をクリックすると MS/MS のグレーのスペクトルが連動します。その候補を結果に反映するには [] をクリックすると Table 上の Library Hit/ Library Score が連動します。

※ Nicobifen は Boscalid の別名。

Name	CAS#	For...	MM (Da)	Fit
Nicobifen [Smart Confirmation]		0	100	

陽性となったピークの抽出

通常はすべての結果を表示しますが、外れたものや不確かな結果を非表示にするには、左上の Define a qualifying row: を操作します。

- Define a qualifying row のプルダウンをクリックし、各項目について非表示とする項目のチェックを外します。▲|●のチェックを一括で外すには▲|●上をクリックします。

元に戻す（すべての結果を表示する）には、空欄にチェックを入れます。

- この設定によりフィルターがかかっている場合は Result Table 左上にその状態が表示されます。

* Training では行いません。

Index	Sample Na...	Sample Type	Dilu... Factor	Component Name
471	carrot	Unknown	10.00	boscalid
463	carrot	Unknown	10.00	1-Naphthaleneacetam
464	carrot	Unknown	10.00	3-hydroxycarbofuran
465	carrot	Unknown	10.00	asulame
466	carrot	Unknown	10.00	atrazine-desethyl-desi
468	carrot	Unknown	10.00	bendiocarb
469	carrot	Unknown	10.00	benthiavalicarb-isopro
472	carrot	Unknown	10.00	butafenacil
473	carrot	Unknown	10.00	butocarboximsulfoxide

- クロマトグラムで目的ピークが認識されていることを確認します。認識されていない場合は積分パラメーター等を確認します。

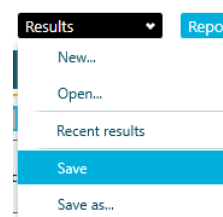
※ ピークが積分されるとその保持時間に取得した MS/MS が表示され、ライブラリーサーチの結果も反映されます。

* Training では行いません。

結果の保存

- 結果を保存するには、Results から Save を選び名前を付けて保存します。

* Training では、MTS と名前を付けて保存します。

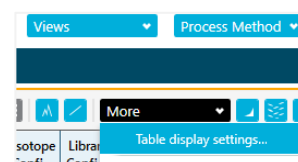


Result Table の表示設定とレイアウト保存

- 表示するカラムや桁数を変更したい場合は、More をクリックし Table display settings... を選び設定を行います。

- Visible ではカラムの表示/非表示が選択でき、Number Format では入力した通りに有効数字や指数表示が切り替わります。ここで入力した有効桁数以上の値は、定量テーブルに入力表示されないだけでなく、定量計算にも反映されません。

- Export... では設定をファイルとして保存、Import... では保存したファイルを読み込むことができます。



Column Name	Visible	Number F...	LIS Supported
Accuracy	<input checked="" type="checkbox"/>	0.00	<input checked="" type="checkbox"/>
Accuracy Acceptance	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
Acq. Method Name	<input type="checkbox"/>		<input checked="" type="checkbox"/>
Acquisition Date & Time	<input checked="" type="checkbox"/>		<input checked="" type="checkbox"/>
Actual Concentration	<input checked="" type="checkbox"/>	0.000	<input checked="" type="checkbox"/>

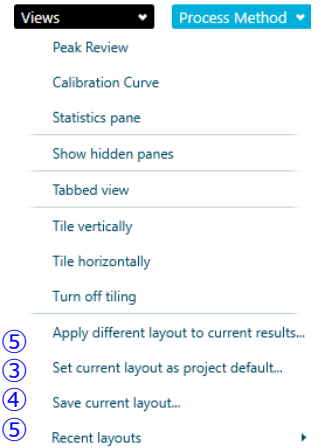
② 必要に応じ、レイアウト（テーブルの表示項目やサイズ、検量線の表示、クロマトグラム数、各 Pane の位置やサイズなど）を保存します。

③ デフォルト設定として保存するには、**Views** をクリックして Set current layout as project default... を選び、名称を設定します。

※ 保存先 : D:\¥SCIEX OS Data¥各プロジェクト¥Project Information

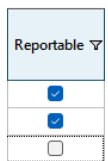
④ 単なるレイアウトとして保存するには、Save current layout... を選び、名称および保存先を適宜設定します。

⑤ 以前保存したレイアウトをインポートするには、Apply different layout to current results...あるいは Recent layouts を選びます。



レポート作成

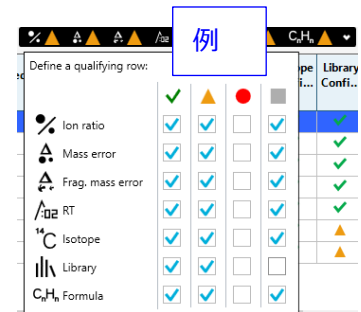
➢ 必要に応じて Report を作成します。レポートは Result Table で表示されているすべての結果が出力対象となりますので、出力不要なものは Reportable のチェックを外します。



➢ または Result Table の表示結果でレポート対象とする成分のみを抽出します。画面上部の Define a qualifying row: をクリックして非表示とする項目のチェックを外します。●のチェックを一括で外すには●上をクリックします。

※ フィルター設定後の row 数を確認し、数が多いなどの場合は必要に応じて Define a qualifying row の設定をさらに確認します。

65 of 77 rows Filters: 7 Qualify for Rules Filters

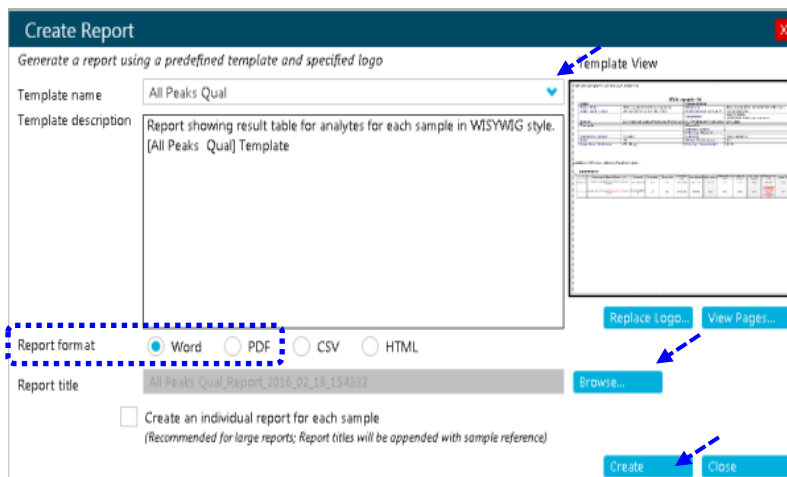
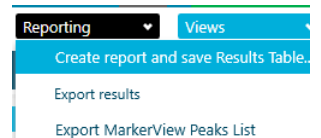


① **Reporting** から Create report and save Results Table... を選びます。

② Create Report 画面では、目的のテンプレート、出力形式、保存先を設定します。

➢ Template name は All Peaks Qual を選択します。

* MS/MS の結果を出力する場合は Positive Hit Qual を選択します。

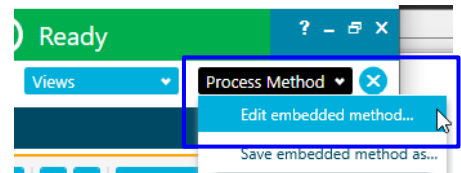


- ③ Report format では出力するレポートの形式（Word または PDF）を選択します。
- ④ **Browse...** で保存先を指定し、適宜名前を付けます。**Create** をクリックします。
 - Default の Template は C:\ProgramData\SCIEX\Analytics\Reporter に保存されています。
 - その他、<https://sciex.jp/support-tools/analyst-multiquant-reporttemplate> からダウンロード可能です。

[Tips] 関数 - 任意の計算値を Results Table に表示させる機能

- 任意の計算式を設定することで、計算から外れた値を目視で簡単に判定することができます。
例：内部標準（IS）の面積の変動を評価します。（IS の面積値を平均値で割った値を算出し、80~120 の間に無い場合、フラグgingする設定をします。）
- * Training では行いません。

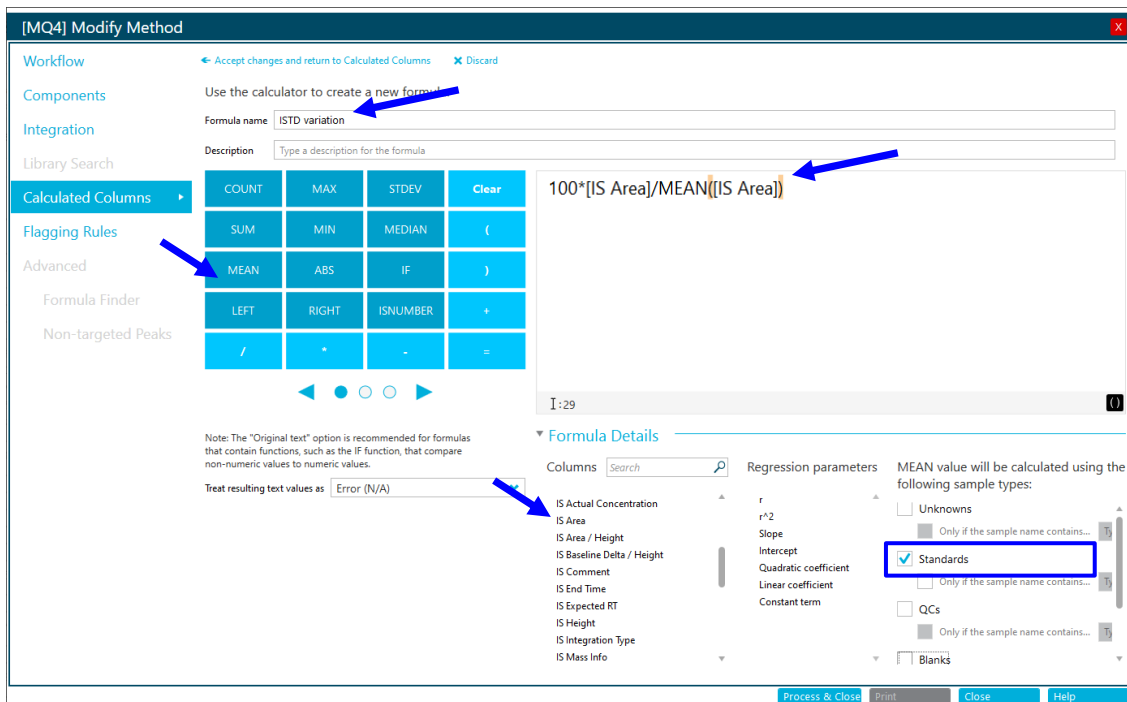
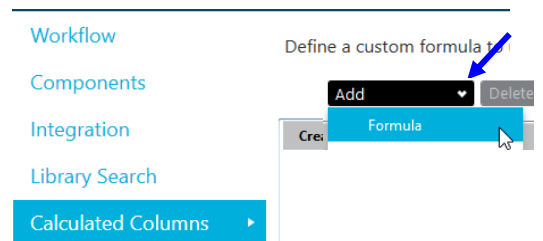
- ① 解析中の Result Table で設定する場合は、画面右上の Process Method > Edit embedded method を選択します。



- ② **Calculated Columns** をクリックし、**Add** から Formula を選択します。

- ③ 図を参考に、入力と設定を行います。

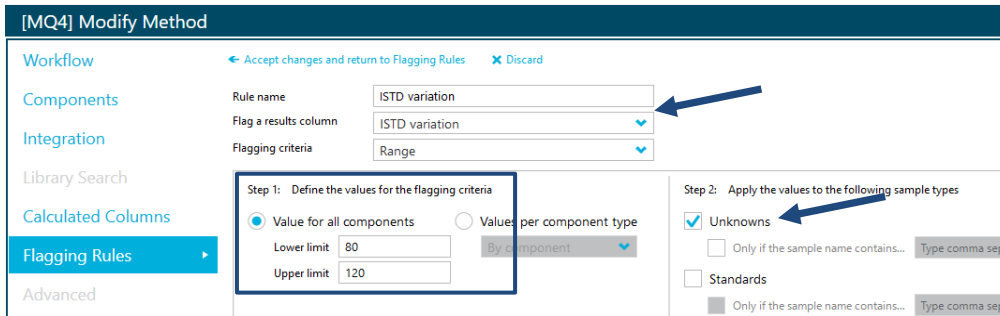
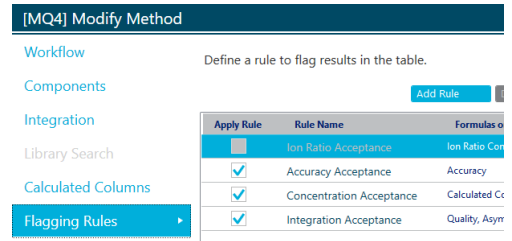
- Formula Name : ISTD variation
- 式 : $100 * [IS \text{ Area}] / \text{MEAN}([IS \text{ Area}])$
- Sample Type : Standard



④ Flagging Rules をクリックすると Warning が表示されますので Yes を選びます。

⑤ Add Rule をクリックし、下図参考に、入力と設定を行います。

- Role name : ISTD variation
- Flag a results columns : ISTD variation



⑥ Process & Close をクリックすると Warning が表示されますので Yes を選びます。

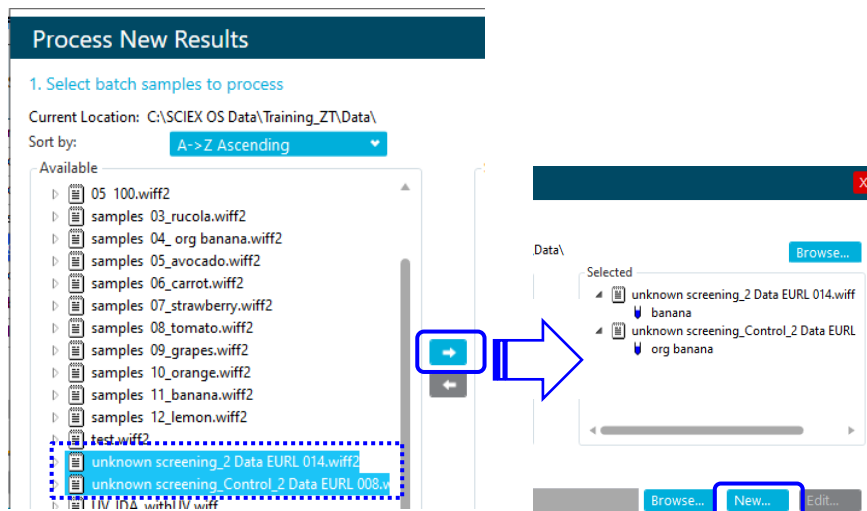
⑦ Results table が再計算されます。Results table には ISTD variation の欄が追加され、IS 面積の変動について許容値外のはハイライトされます。

Calculated Concentration	Accuracy	Replicates	*ISTD variation
0.07	N/A	☑	17.066
0.09	91.42	☑	104.051
1.08	108.19	☑	97.497
10.05	100.52	☑	105.932
99.88	99.88	☑	92.520
0.44	N/A	☑	1276.339
0.59	N/A	☑	10631.348

5.4 ノンターゲットスクリーニング

5.4.1 解析メソッドの作成

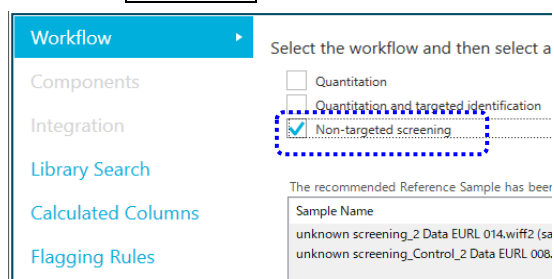
- ① **Results** をクリックし New を選択します。
- ② 解析するデータをすべて選択し、=> アイコンで画面右側にサンプルを移動します。
 - * Training では下図を参考に選びます。



- ③ 2. Select a processing method の **New...** をクリックします。

※ 2 回目以降の解析の際は、Select a processing method の **Browse...** から既存のファイルを選択します。

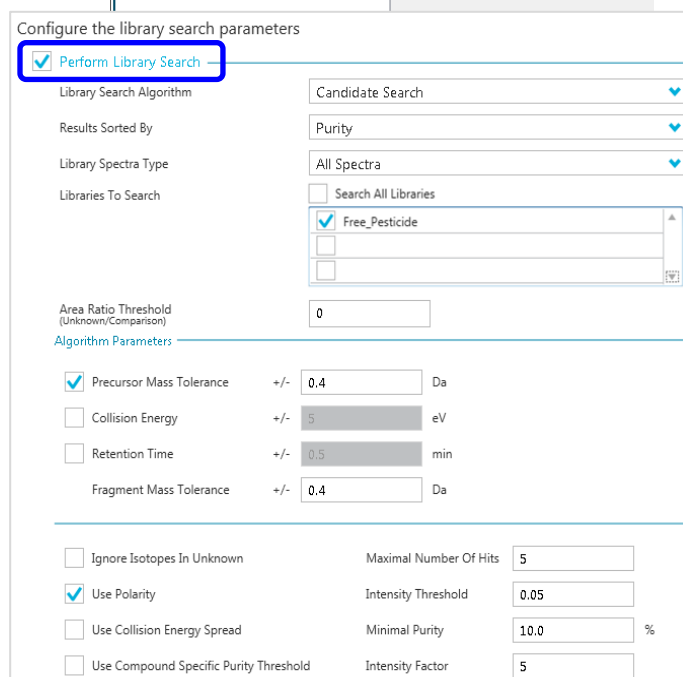
- ④ **Workflow** では解析するワークフローとして、Non-targeted screening にチェックを入れます。



- ⑤ **Library Search** では、Perform Library Search にチェックを入れ、図を参考に使用するライブラリーや各種パラメータを設定します。

* Training では、Candidate Search、Search All Libraries を選択します。

- ⑥ Library Search Algorithm では Candidate Search を選択します。



- ⑦ **Flagging Rules** では、Qualitative Rules にチェックを入れ、その文字列をクリックすると設定画面が表示されます。ライブラリースコア、組成解析結果における信頼度の設定を行います。
- 各項目の値は適宜変更します。Combined Score Weight は合計 100 になるように各項目に値を入力します。
 - Flagging Rules の画面に戻るには、**Accept changes and return to Flagging Rules** をクリックします。
- * Training では、図を参考に設定します。

Apply	Qualitative Rule	Acceptable Difference	Marginal Difference	Unacceptable Difference	Combined Score Weight (%)
<input type="checkbox"/>	Mass Error (ppm)	< 5	< 10	>= 10	20
<input type="checkbox"/>	Fragment Mass Error (ppm)	< 5	< 10	>= 10	0
<input type="checkbox"/>	Error in Retention Time	< 2.5	< 40	>= 40	20
<input type="checkbox"/>	% Difference Isotope Ratio	< 5	< 20	>= 20	20
<input checked="" type="checkbox"/>	Library Hit Score	> 50	> 30	<= 30	50
<input checked="" type="checkbox"/>	Formula Finder Score	> 50	> 20	<= 20	50

- ⑧ **Formula Finder** では自動組成解析時の組成の上限と Tolerance を設定します。

Use Formula Finder にチェックを入れ、Synthetic Compounds を選びます。Limits の Max Element、Mass Tolerance は適宜変更します。

* Training では図を参考にを入力します。

- ⑨ **Non-targeted Peaks** では解析する保持時間の範囲とピーク抽出条件を設定します。

- Exhaustive に近いほど、微量なピークも検出するので解析時間がかかります。
- Area Ratio Threshold : 差分比較する場合に設定します。②でデータを2つ以上選び、かつ一方をコントロールとする場合にその比を入力します。設定した値以上のものが検索対象となります。
- Group Peaks by adduct or charge にチェックを入れると、付加体や多価イオンを特定し、関連した成分としてグループ化されます。

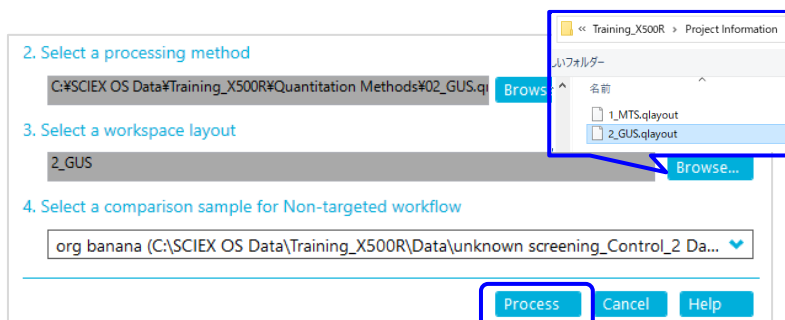
* Training では図を参考に設定します。

⑩ **Save** をクリックし、解析メソッドに名前を付けて保存します。

* Training では GUS と入力します。

⑪ Process New Results の画面に戻り、3. Select a workspace layout では **Browse...** をクリックし、2_GUS を選びます。

※ 保存先例 : D:\SCIEX OS Data\Training_X500ZT76\Project Information



⑫ 4. Select a Comparison sample... では、差分解析をする場合のコントロールデータを選択します。

➤ 差分解析をしない場合は、何も選択しません。

* Training では図を参考に、org banana を選びます。

⑬ **Process** をクリックし解析を実行します。

5.4.2 結果の確認

① 解析が終わると、Results Table が表示されます。

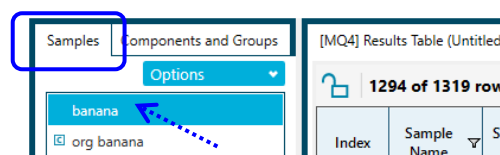
② 必要に応じてレイアウトおよび表示するカラムや桁数を変更します。


※ 詳細は【5.3.2 結果の確認】をご参照ください。

* Training では変更しません。

■ 陽性の確認例


① Results Table の Sample タブをクリックし、解析するデータ（ここでは banana）を選択します。




- ② Library および Formula Finder の Confidence カラムでは、解析メソッド作成時の Qualitative Rules で設定した項目についてパスしたかどうかが表示されます。
- ③ Area Ratio comparison カラムを選択し、 (Sort selected column from largest to smallest) アイコンをクリックしてスコアの高い順に並び替えます。

* Training では図を参考に 202.042 / 5.30 をクリックします。

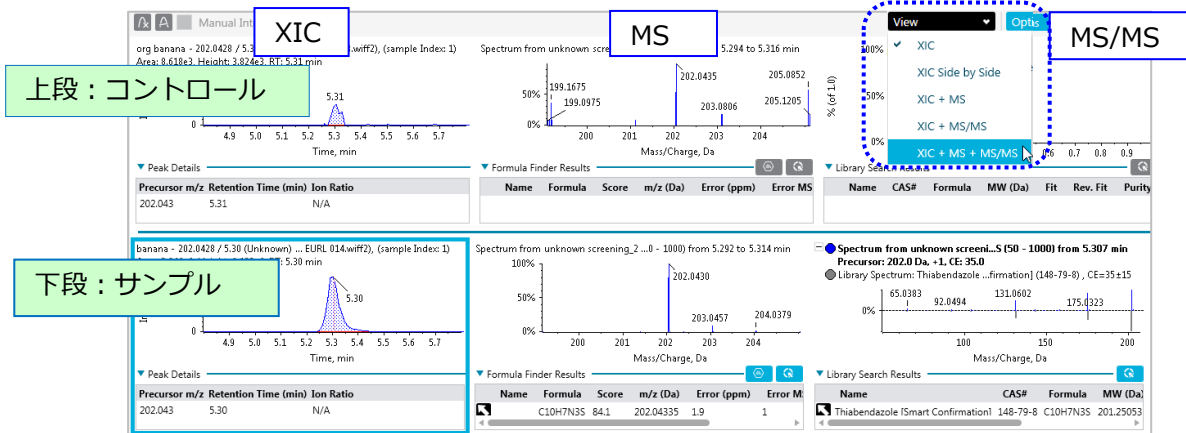
Index	Sample Name	Component Na...	Area	Found At Mass	Retent... Time	Library Confi...	Form...	Library Hit	Library Score	Formula Finder Results	Formula Finder...	Area Ratio of comparison
228	banana	300.0556 / 8.30	3.989e5	300.056	8.29			No Acquired MSMS	N/A	C8H12F2N3O5P	99	1093.499
225	banana	301.0487 / 8.29	3.663e5	301.049	8.29			No Match	0	C6H9N10OP5	87	674.930
102	banana	202.0428 / 5.30	3.837e6	202.043	5.30			Thiabendazole	88	C2H3N9O3	87	443.126
720	banana	562.5931 / 15.08	4.741e5	562.593	15.07			No Match	0	C3H28rCISiO3...	93	361.315
168	banana	368.1635 / 7.01	6.320e4	368.164	7.02			No Match	0	C19H22N5OP	90	361.058
224	banana	299.0525 / 8.29	3.734e6	299.053	8.29			No Match	0	C11H12FN4OP5	92	205.604


- ライブラリーサーチの結果を確認する場合は、Library Score カラムを選択し、 アイコンをクリックしてスコアの高い順に並び替えます。

- ④ クロマトやスペクトルが表示されていない場合は  (Display the Peak Review) アイコンをクリックします。


- ⑤ MS および MS/MS が表示されない場合は **View** をクリックし、XIC+MS+MS/MS を選びます。

- MS (青色 : 実測)、MS/MS (青色 : 実測、灰色 : ライブラリー) を表します。



- ⑥ 組成解析結果を確認するには MS 下の Formula Finder Results をクリックします。候補とする組成式を Results Table に反映するには  をクリックします。

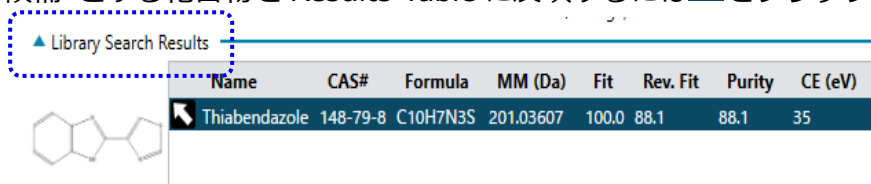
Name	Formula	Score	m/z (Da)	Error (ppm)	Error MSMS (ppm)	Hit Count
C8H9FNO2P		85.1	202.04277	1	2.5	0
C10H7N3S		84.1	202.04335	1.9	1	131
C4H6F3N3O3		82.8	202.0434	2.2	0.9	0
C7H5F2N3O2		72.8	202.04226	3.5	1.2	3
C5H10F2NO3P		56.8	202.04391	4.7	3.6	0

- ※ ChemSpider のライセンスを購入された方は  をクリックすると ChemSpider 上でヒットした化合物名および構造式が確認できます (ヒットしない場合は何も表示されません)。

ヒットした構造式で構造解析を行う場合は、【4.5 フラグメントの帰属 (Fragments Pane)】を参照してください。

⑦ ライブラリーサーチの結果を確認するには MS/MS 下の Library Search Results をクリックします。

⑧ 候補とする化合物を Results Table に反映するには  をクリックします。

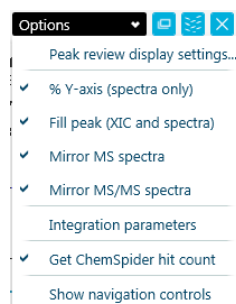


⑨ ライブラリーサーチや組成解析など条件を変えて再度解析するには、解析メソッドを変更します。Process Method から Edit embedded method... を選び、条件を変更して最後に Process & Close をクリックします。

➤ 解析メソッドを保存するには、Process Method から Save embedded method as... を選び、既存のものに上書きするには既存のファイルを選択、あるいは別名を入力して Save をクリックします。

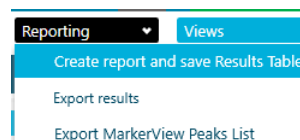
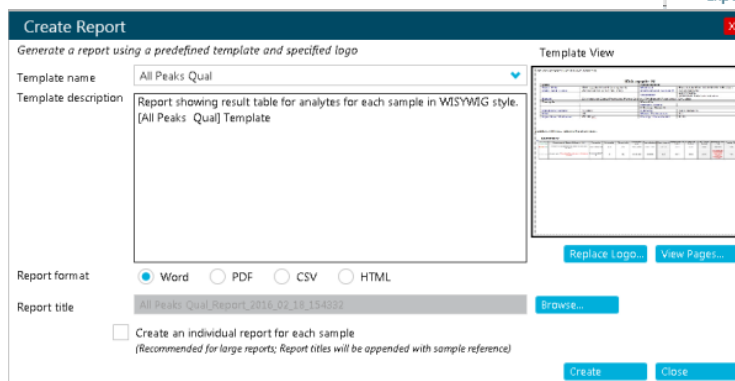
⑩ クロマトの表示数の変更は Options で設定します。

※ 積分パラメータを非表示にするには、Integration Parameter のチェックを外します。

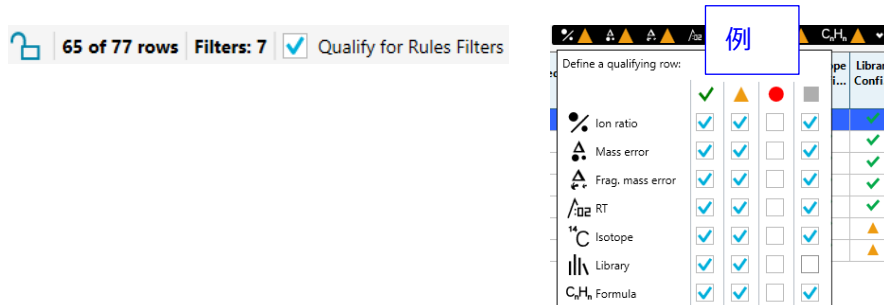


⑪ 結果を保存するには、Results から Save を選び名前を付けて保存します。

⑫ 必要に応じて Report を作成します。Reporting から Create report and save Results Table... を選び、目的のテンプレート (All Peaks Qual)、出力形式を選択し、名前を付けて OK をクリックします。

※ レポートは Result Table で表示されているすべての結果が出力対象となりますので必要に応じて Result Table 上でレポート対象とする成分のみを抽出します。Define a qualifying row: をクリックして非表示とする項目のチェックを外します。



5.5 ライブラリー追加方法

5.5.1 ライブラリーファイルの新規登録

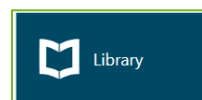
お客様用インハウスライブラリーを作成することができます。

- ※ LibraryView™ソフトウェアがインストールされているお客様が対象です。
- ※ 新規登録はせずに既存のライブラリーを活用される場合はこの操作は不要です。

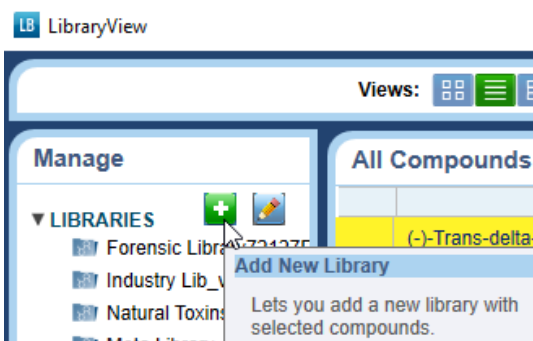
- ① LibraryView™ソフトウェアを起動します。デスクトップにある、[LibraryView]アイコンをクリックします。





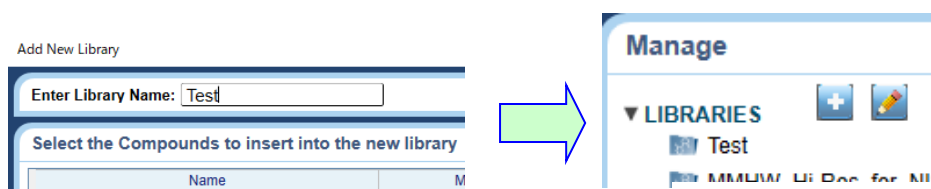
- ※ SCIEX OS 上の[Library]をクリックしても開きます。



- ② Manage 上の  アイコン (Add New Library) をクリックします。



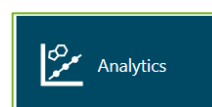
- ③ Enter Library Name には名称を入れ、右下の  を選びます。メッセージが表示されたら  をクリックします。これにより Test のライブラリーが保存できます。



5.5.2 MS/MS の登録

- ※ すべてのお客様が設定可能です。
- ※ 登録後に化合物情報の編集や削除をする場合は LibraryView™ソフトウェアが必要となります (LibraryView™ソフトウェアがインストールされていないお客様も MS/MS 登録は可能ですが、登録後の化合物情報の編集や削除はできません)。

- ① Home 上の Analytics をクリックします。



② ライブラリーに登録する MS/MS を表示します。

- * Training では、[5.4.2 結果の確認] で使用した MS/MS を表示します。
- * ここでは適当な成分を選びます。

The screenshot shows the software interface with a results table and two peak review windows. The table lists components with their retention times and mass ratios. The peak review windows show chromatograms and mass spectra for specific peaks, with one window highlighting the 'Add spectrum to library' button.

Index	Sample Name	Component N...	Area	Retenti... Time	Found At Mass	Us...	Area Ratio of comparison	Library Confi...	Library Hit
641	banana	301.0487 / 8.29	3.662e5	8.29	301.049		666.287		No Match
1314	banana	903.7385 / 14.41	6.724e5	14.25	903.738		497.746		No Match

③ MS/MS 上を右クリックし、**Add spectrum to library** を選びます。

④ Add spectrum to library の画面では化合物名や登録するライブラリファイル、スペクトル情報を入力して OK します。

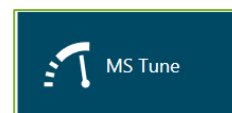
The dialog box for adding a spectrum to the library. It contains fields for Compound Name, Library, Formula, Charge, Theoretical Mass, Precursor m/z, Polarity, MS/MS Fragmentation, Collision Energy, and CE Spread. A mass spectrum plot is also displayed at the bottom.

⑤ LibraryView™ ソフトウェアがインストールされているお客様は、登録したスペクトル情報などが編集できます。LibraryView™ ソフトウェアを開き、該当成分をダブルクリック> 右下の Edit Mode で編集します。

The screenshot shows the LibraryView software interface. It displays a table of libraries with columns for Name and CAS. The entry '301.0487 / 8.29' is highlighted in yellow.

Name	CAS
301.0487 / 8.29	

6 MS Tuneの実施



- ※ この章ではよく使われる機能をご紹介します。
- ※ これ以外の設定は別冊の補足資料をご参照ください。

6.1 準備

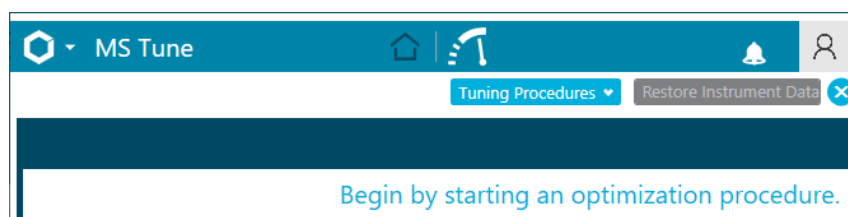
MS Tune では基準値を元にした質量分析装置の評価と調整を行うための機能をまとめています。各システムに応じた調整メソッドがあらかじめ用意されており、「Tuning Procedures」から確認することができます。

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。

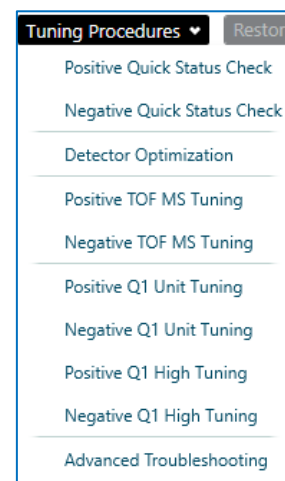
CDS channel	試薬名称	部品番号
1 (左) Positive	X500 ESI Positive Calibration Solution	5049910 (1x100mL) 5032735 (5x100mL)
2 (右) Negative	X500 ESI Negative Calibration Solution	5042913 (1x100mL) 5042917 (5x100mL)

6.2 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。



- 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
- Detector Optimization : 検出器の電圧調整
- 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
- Advanced troubleshooting システム調整用 (SCIEX スタッフ向け)



6.3 Positive/Negative Quick Status Check


本機能は【2.6 MS Check の実施】をご参照ください。

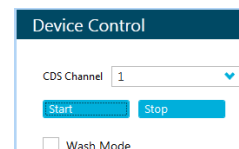
6.4 Detector Optimization

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。

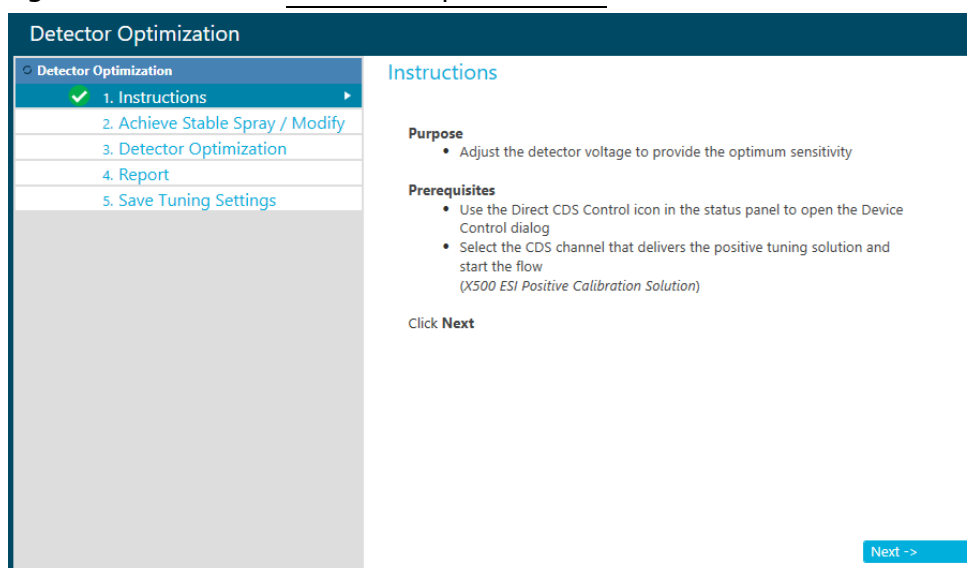
検出器の最適化は**月 1 回**を目安に実施して下さい。また、感度低下時や真空を解除したシステム全体の洗浄を実施した後なども実施します。

標準溶液は「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 のポトルに調整した時期を御確認下さい。

① Direct CDS Control アイコンをクリックし、CDS channel 1 を選んで OK します。



② Tuning Procedures より Detector Optimization を選択します。



③ 「1.Introduction」の内容を確認の上、 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てから  で停止し、 を選択します。

- 左下の TIC のトレーズで強度変動を %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。


* 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。

6.5 Positive/Negative TOF MS Tuning

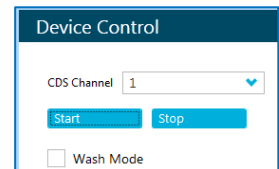
本機能では TOF MS と TOF MS/MS の分解能と感度に関わるパラメータの最適化を行います。弊社標準溶液を使用して実施します。

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。

Positive Mode の場合

- ① Direct CDS Control アイコンをクリックし、CDS channel 1 を選んで OK します。

※ 設定の詳細は【2.6 MS Check の実施】をご参照ください。



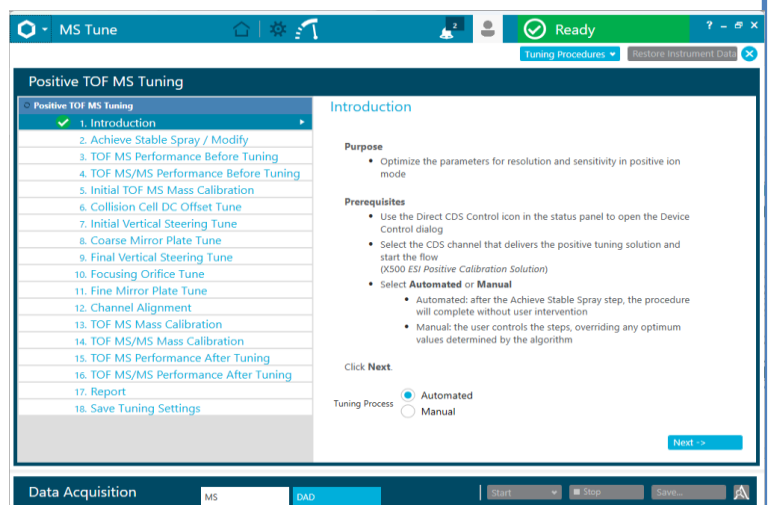
- ② Tuning Procedures より Positive TOF MS Tuning を選択します。
- ③ 「1 .Introduction」の内容を確認して Automated を選択し、**Next ->** をクリックします。

➤ 記載内容の日本語訳

目的：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 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。

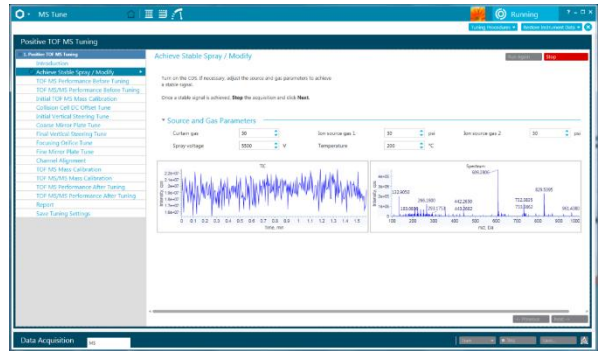


④ 「2. Achieve Stable Spray / Modify」では、標準溶液が CDS より安定に送液されているかを確認します。

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

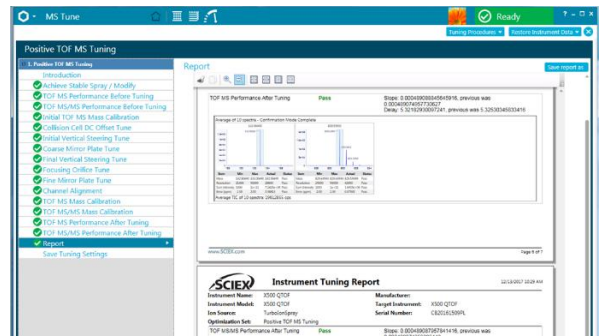
⑤ シグナルの安定化後 **Stop** で停止し、**Next ->** を選択します。

これ以降は自動的に進行します。



⑥ 「17. 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** を選んでレポートとして保存します。

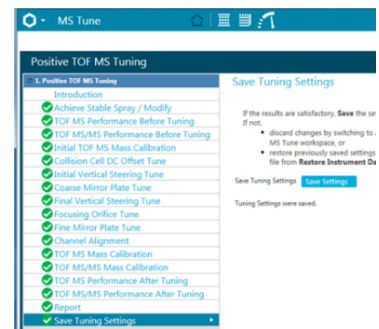
⑦ **Next ->** で次に進んで下さい。




⑧ 「18. Save Tuning Settings」の **Save Settings** で結果を保存します。

⑨ 画面上部の ✕ を選択して画面を閉じます。

➤ この画面を閉じると CDS ポンプの送液は自動的に停止します。



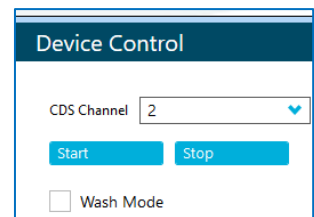
▪ Negative の場合

⑩ Direct CDS Control アイコン  をクリックし、CDS channel 2 を選んで OK します。

※ 設定の詳細は【2.6 MS Check の実施】をご参照ください。

⑪ Tuning Procedures より Negative TOF MS Tuning を選択します。

これ以降は前頁を参考に操作します。



7 その他 - MRM HR メソッドの作成と解析

7.1 MS Method の作成

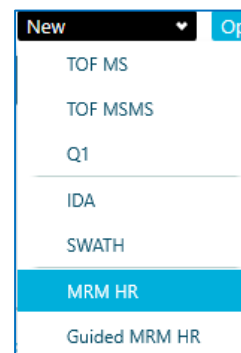
7.1.1 MRM HR メソッドの作成

MRM HR メソッドでは、MS と指定成分の MS/MS を繰り返し分析してデータ取得します。TOF MS 分析にてプリカーサーイオンの確認と、MS/MS フラグメントを使った定量分析に主に使用されます。

メソッド作成の流れ

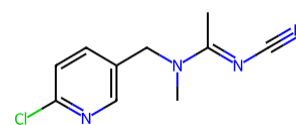
- ① ホーム画面上の「MS Method」を選択し、右上の **New** から「MRM HR」を選択します。

- IDA など他メソッドから MRM HR メソッドにタイプを変更する場合は、「Experiment」右のプルダウンメニューから「MRM HR」を選択します。この時、「Source and Gas Parameters」の条件はそのまま維持されます。



MRM HR 分析の設定

ここではアセタミプリドの MRM HR 測定メソッド作成例を解説します。分子式 C₁₀H₁₁ClN₄、モノアイソトピック質量 223.074。[M+H]⁺分子イオン *m/z* 223.07450 で、MS/MS フラグメントとして *m/z*126.02, 72.99 を選択した MRM HR メソッドを作成します。



アセタミプリド

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設定します。

* Training では下図を参考に設定します。

- ② Source and Gas Parameters の項目では下図を参考に設定しますが必要に応じて変更してください。

- 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考慮して入力します。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ので適宜変更してください。

④ TOF MSMS (MRM HR) の設定は表中に必要な項目を入力します。

- Compound ID は化合物名 (複数ある場合は各行で異なる名称を入力)、Group name は任意で入力します。
- Precursor Ion、特定の Fragment Ion、Accumulation time , Declustering Potential 及び Collision energy はあらかじめ決定して入力してください。
- ※ Fragment Ion は設定値±10Da の幅でデータを取得します。
- ※ Mass table の内容はコピーして Excel などにペーストすることができます。オリジナルの MRM HR カタログの作成や他成分のトランジションのマージをすることが可能になります。

Compound ID	Group name	Precursor Ion (Da)	Fragment Ion (Da)	Accumulation Time (sec)	Declustering Potential (V)	Collision energy (V)	Q1 resolution	
1	Acetamidrid 1	Acetamidrid	223.07000	126.01810	0.5000	80	30	Unit
2	Acetamidrid 2	Acetamidrid	223.07000	72.98610	0.5000	80	75	Unit

1) **Apply TOF start/stop mass** : MS/MS を指定の範囲で測定する場合に使用します。使用する表中の「Fragment Ion (Da)」から、Start / Stop を個別に入力するセルに変更されますので、任意の測定範囲を設定します。

Compound ID	Group name	Precursor Ion (Da)	TOF Start Mass (Da)	TOF Stop Mass (Da)	
1	Acetamidrid 1	Acetamidrid	223.07000	50.00000	620.00000
2	Acetamidrid 2	Acetamidrid	223.07000	50.00000	620.00000

2) **Q1 resolution** : Q1 の分解能を変更できます。非表示の場合右上の **Advanced** より「Show Advanced Parameters」を選択すると「Mass table」に追加されます。

3) **Import and autofill...** : 1) を使用していない場合に使用できます。ライブラリーに収録された情報を読み込んで、MRM HR のメソッドを作成することができます。

* Training では実施しません。

- 選択すると「Import and Autofill MSMS Scan Information」(下図) が開きます。
- データ読み込み設定を行います。

- Accumulation time : 積算時間
- Default declustering potential : DP
- Number of fragments to include : 選択するトランジション数
- Populate the MSMS table :
- Append to existing list : 既存の「Mass table」に追加
- Overwrite exiting list : 「Mass table」を上書き

4) **Sort by precursor ion** : プレカーサーイオンの並び替えます。

5) **Apply Scan Schedule** : 次項の「sMRM HR」をご参照ください。

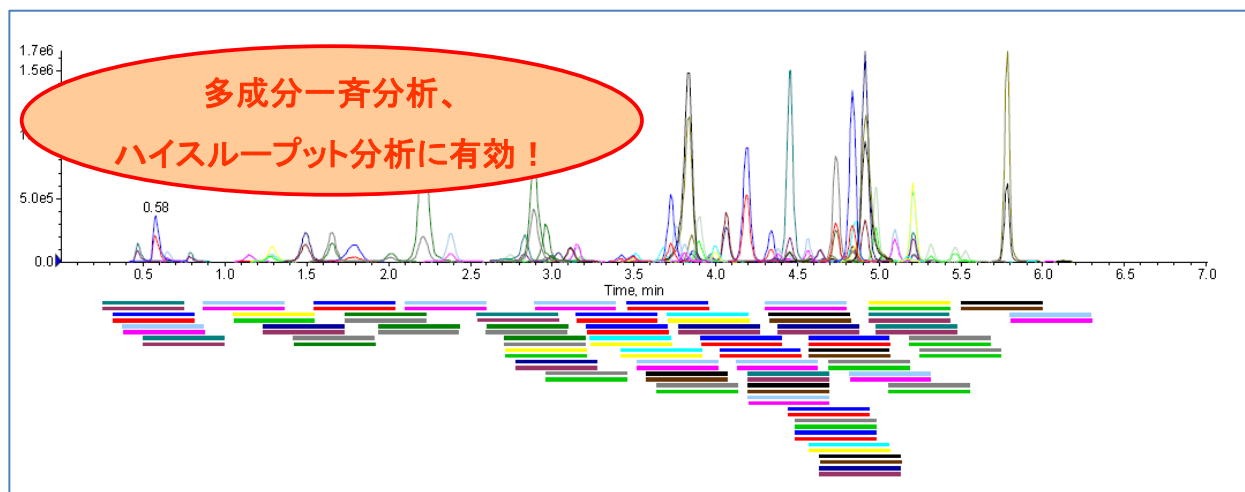
6) **Enhance Dynamic range** : 高濃度サンプルにおいてダイナミックレンジを改善します。

⑤ 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 : MRMHR)

7.1.2 sMRM HR (scheduled MRM HR) メソッドの作成

多数のトランジションを重複して設定すると、サイクルタイムと Accumulation time を十分に確保することが難しくなることが考えられます。そのため、各化合物の溶出時間前後のみ MRM HR 分析を行うことでこれを回避することが可能で、S/N 比、データ再現性、LLOQ, %CV の向上が見込めます。

- 分析条件に応じて、あらかじめ溶出時間を確認しておきます。



- 前項を参考に MRM HR メソッドを作成し、sMRM HR メソッドに変換します。

- ① 「Apply Scan schedule」を選択すると、項目が追加されます。
- ② 「Retention time (min)」と「Retention time tolerance (+/- s)」を入力します。
 - 事前に確認した溶出時間を入力します。
 - 必要に応じて Accumulation time や tolerance 等の調整を行ってください。
 - Mass table の内容はコピーして Excel などにペーストすることができます。オリジナルの MRM HR カタログの作成や他成分のトランジションのマージをすることが可能になります。

TOF MSMS

Enhance dynamic range

Mass Table Apply TOF start/stop mass Apply scan schedule [Import and autofill...](#) [Sort by precursor ion](#)

例

	Compound ID	Group name	Precursor Ion (Da)	Fragment Ion (Da)	Accumulation Time (sec)	Declustering Potential (V)	Collision energy (V)	Retention time (min)	Retention time tolerance (+/- s)
1	Aldicarb 1	Aldicarb	208.10000	116.05280	0.0500	26	11	1.50	30
2	Aldicarb 2	Aldicarb	208.10000	89.04190	0.0500	26	20	1.50	30
3	Aldoxycarb 1	Aldoxycarb	223.10000	86.05950	0.0500	45	20	2.10	30
4	Aldoxycarb 2	Aldoxycarb	223.10000	149.02180	0.0500	45	12	2.10	30
5	Azoxystrobin 1	Azoxystrobin	404.10000	372.09790	0.0500	51	19	5.50	30
6	Azoxystrobin 2	Azoxystrobin	404.10000	344.10300	0.0500	51	29	5.50	30
7	Bendiocarb 1	Bendiocarb	224.10000	167.07030	0.0500	48	12	8.30	30
8	Bendiocarb 2	Bendiocarb	224.10000	109.02840	0.0500	48	25	8.30	30

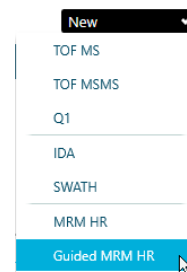
- ③ 右上の アイコンより名前をつけて保存します (例: sMRM)。

7.1.3 Guided MRM HR を使用したトランジションの作成

標準品を使用して、化合物に最適な MRM HR の各種パラメータ（プレカーサーイオン、フラグメントイオン、DP, CE）を自動最適化で作成することが出来ます。

- 標準物質の溶液（メタノールまたはアセトニトリル）を 100~10ng/mL、500uL 程度用意します。
- 外付けのシリンジポンプおよび 1mL のガラスシリンジを用意します。

① MS Method を選択し、**New** より「Guided MRM HR」を選択します。



■ **Preparation の項目を設定します。**

② Automatic（自動最適化）もしくは Guided（手動最適化）を選択します。

③ Polarity（Positive、Negative）を選択します。

④ 「Find transitions automatically」（トランジション自動作成）もしくは「Use known transitions」（既知トランジションの最適化）を選択してください。

➤ 「Find transitions automatically」（トランジション自動作成）

- Compound Name、Charge(価数)、Precursor Ion を入力します。
- Number of Fragments to Use では作成するトランジション数の選択します

➤ 「Use known transitions」（既知トランジションの最適化）

- Compound ID(化合物名)、Precursor Ion(Q1 で選択するイオン)、Fragments to Use(プロダクトイオン)を指定します。

Compound ID	Compound	Precursor Ion (Da)	Fragment to Use (Da)
1	Compound 1	829.50000	200.00000

⑤ 入力が終わったら、右上の「Continue」をクリックします。

■ **シリンジおよびスプレーのポジションの設定**

⑥ 標準溶液を 1 mL のガラスシリンジに詰め、シリンジポンプにセットします。

⑦ シリンジから繋がるピークチューブをスプリッターを経由しイオンソースへ接続します。

⑧ シリンジポンプにて 10 $\mu\text{L}/\text{min}$ 程度で送液します。

■ Initial Conditions の設定

⑨ 「Source and Gas Parameters」 は初期値を使用します。

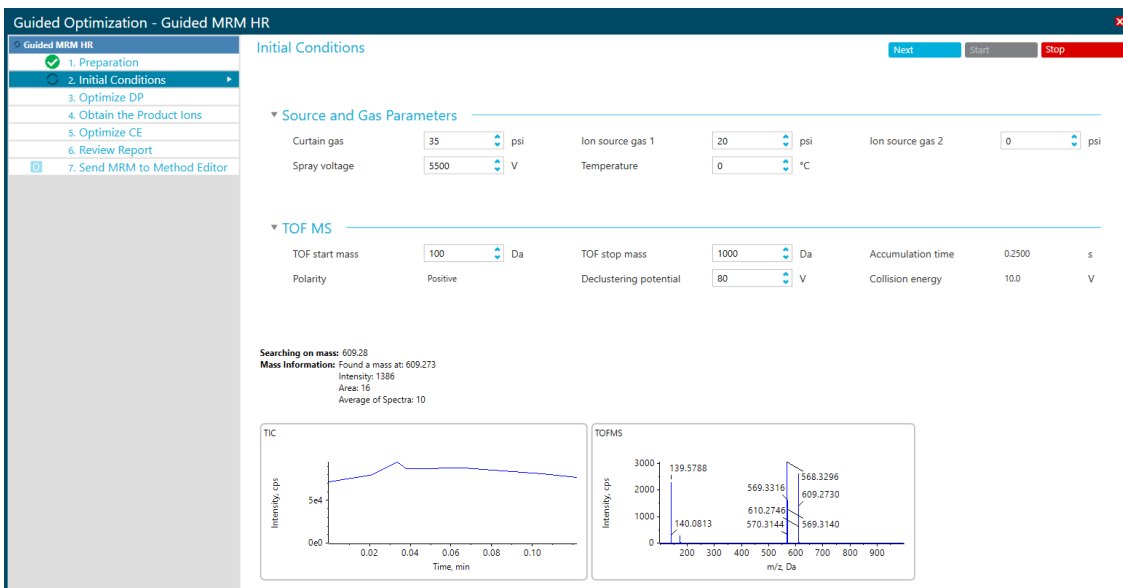
⑩ 「TOF MS」 は「TOF start/stop mass」 で目的の分子イオンが検出される範囲を設定し、「Declustering potential」 は初期値を使用します。

⑪ **Start** を選択し、測定を開始します。

➤ TIC が安定し、目的の分子イオンが観測されていることを確認します。

※ 最初はチューブの中のエアにより、スペクトルが不安定になることがありますが、しばらく経つと安定します。急ぐ場合は、シリンジを少し手で押すか、流速を一時的に 20 $\mu\text{L}/\text{min}$ 程に上げることで、安定するまでの時間を短縮することができます。

➤ 上記が確認できない場合は一旦 **Stop** し、⑥および⑦のパラメータを調整して下さい。



⑫ 目的の分子イオンが安定に検出されていることを確認し、**Next** を選択します。

■ トランジション作成と自動最適化


以降の「Optimize DP」、「Obtain the Product Ions」、「Optimize CE」 は自動的に進みます。

⑬ 終了後「Review Report」が表示されます。結果を確認し、最適化のレポートを保存するには **Save report as** をクリックし、名前を付けて保存します。

⑭ **Continue** をクリックすると MRM HR メソッドが自動作成されます。内容を確認し名前を付けて保存します。

➤ Mass table の内容はコピーして Excel などにペーストすることができます。オリジナルの MRM HR カタログの作成や他成分のトランジションのマージをすることが可能になります。

➤ LC 条件に応じて、Source and Gas Parameters を設定して下さい。

⑮ 右上の  アイコンよりメソッドを保存して下さい。

7.2 MRM HR の定量解析

7.2.1 初期設定の変更

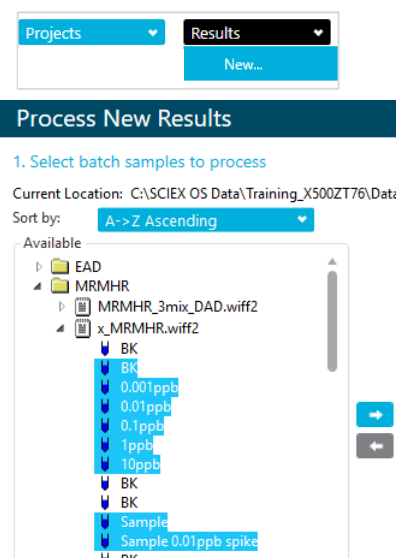
- ① **Projects** をプルダウンし、該当するプロジェクトを選択します。
- ② 初期設定を変更するには【5.2.1 初期設定の変更】をご参照ください。

7.2.2 解析メソッドの作成-1 Fragment Mass 固定

- ① **Results** をクリックし **New** を選択します。
- ② 解析するデータを選択し、=> アイコンで画面右側にサンプルを移動します。

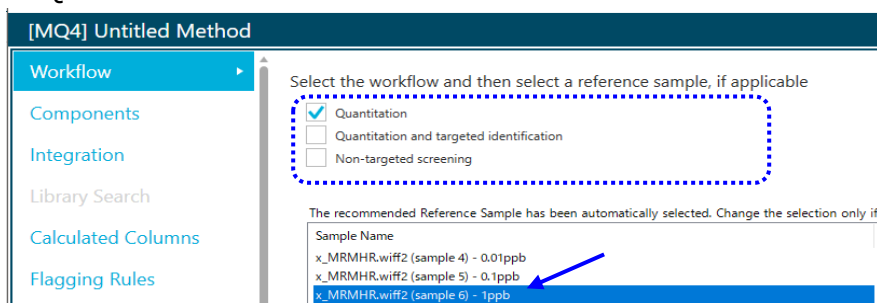
* Training では図を参考に選びます。

- ③ **2. Select a Processing Method** では **New** をクリックします。
 - 2 回目以降の解析の際は、**Select a Processing Method** の **Browse...** から既存のファイルを選択します。



- ④ **Workflow** では解析するワークフローを選択します。定量とターゲットスクリーニングは、Quantitation and target identification にチェックを入れます。

- 定量のみの解析の場合は、Quantitation にチェックを入れます。
- 代表サンプルを選択します。選択しない場合は自動選択されません。



- ⑤ **Components** で表示される情報は、MS method で入力した MRM HR の化合物情報が自動的に反映されます。必要に応じて Group, Name, Fragment (Q3) Mass を変更します。

- Fragment (Q3) Mass および Experiment Index カラムが表示されない場合は、Options > Table settings から Fragment Mass および Experiment Index にチェックをいれます。

Row	IS	Group	Name	Che... Form...	Add...	Precursor (Q1) Mass (Da)	Fragment (Q3) Mass (Da)	XIC Width (...)	Reten ... Time...	Retention Time (...)	IS N...	Experiment Index
1	<input type="checkbox"/>	Acetamidrid	Acetamidrid 1			223.07	126.0181	0.02	RT val...			2 +TOF MSMS of 223.1 (...)
2	<input type="checkbox"/>	Acetamidrid	Acetamidrid 2			223.07	72.9861	0.02	RT val...			3 +TOF MSMS of 223.1 (...)
3	<input type="checkbox"/>	Acetamidrid	MS			223.07		0.02	RT val...			1 +TOF MS (100 - 620)

- ⑥ 新規入力する場合は、Name と Fragment (Q3) Mass を入力後、Precursor (Q1) Mass に値を入力すると、該当する Experiment Index が自動で選択されます。

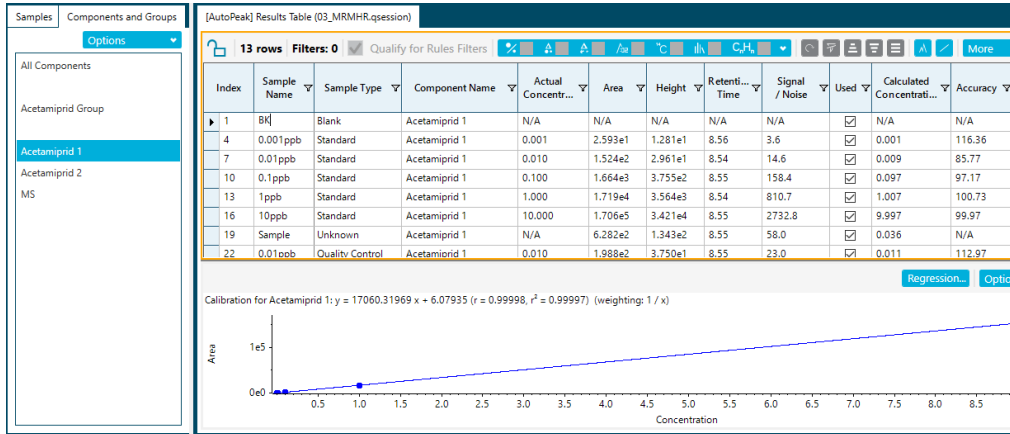
- TOF MS による定量も可能です。その場合は Name と Precursor (Q1) Mass を入力します。
- Experiment Index が空欄の場合はプルダウンから該当するデータを選択します。

- Excel からのコピー&ペーストも可能です。
- ライブラリーから Fragment Mass の値をインポートすることも可能です (以降参照)。

⑦ Integration 以降の操作は、【5 Analytics によるデータ解析】をご参照ください。

7.2.3 結果の確認

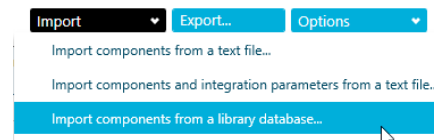
※ 詳細は基本操作マニュアルの【5 Analytics によるデータ解析】をご参照ください。



【Tips】HR-MS/MS ライブラリーから Fragment Mass の値をインポートする方法

- Fragment Mass の精密質量情報がない場合、ライブラリー情報からインポートできます。
* Training では実施しません。

- ① Import から Import components from a library database をクリックします。
- ② 追加するトランジション数にチェックを入れます。
- ③ Library 一覧から該当する Library を選択します。
- ④ 化合物一覧から解析する化合物の先頭に✓を入れます。
- ⑤ OK をクリックすることで、Components に追加されます。



Processing Method - Import Compounds from LibraryView Database

Select libraries, compounds and related fragment masses (and intensity level) for the processing method component list

Include fragment mass(Da) of intensity | 1st (highest) 2nd 3rd

1747 of 7535 selected (total) 1747 of 1747 selected (Forensic_HR-MS/MS_2.1) Show Selected < Find Component >

Compound Name	Formula	Mass (Da)	(1st) Fragment Mass (Da)	(2nd) Fragment Mass (Da)	(3rd) Fragment Mass (Da)
<input checked="" type="checkbox"/> 1-Hydroxytriazolam	C17H12Cl2N4O	358.0388	331.0272	176.0259	341.0352
<input checked="" type="checkbox"/> 1,3-Dimethylamylamine	C7H17N	115.1361	57.0692	41.0385	43.0543
<input checked="" type="checkbox"/> 10,11-Dihydro-10-hydroxycarbamazepine	C15H14N2O2	254.1055	194.0965	237.1030	192.0813
<input checked="" type="checkbox"/> 11-Hydroxy-THC	C21H30O3	330.2195	313.2157	193.1220	201.0907
<input checked="" type="checkbox"/> 11-Hydroxy-THC Negative	C21H30O3	330.2195	311.2012	268.1465	173.0969
<input checked="" type="checkbox"/> 17-alpha-Methyltestosterone	C20H30O2	302.2246	109.0916	97.0988	285.2216
<input checked="" type="checkbox"/> 17-Hydroxyprogesterone	C21H30O3	330.2195	97.0645	109.0645	98.9839
<input checked="" type="checkbox"/> 2-Amino-5-chlorobenzophenone	C13H10ClNO	231.0451	154.0055	105.0680	126.0255
<input checked="" type="checkbox"/> 2-Amino-5-nitrobenzophenone	C13H10N2O3	242.0691	165.0295	226.0638	119.0480
<input checked="" type="checkbox"/> 2-Benzothiazole acid	C11H10O2	190.0620	112.0224	95.0285	57.0224

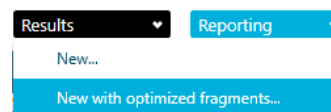
OK Cancel Help

7.2.4 解析メソッドの作成-2 Fragment Massの自動選択

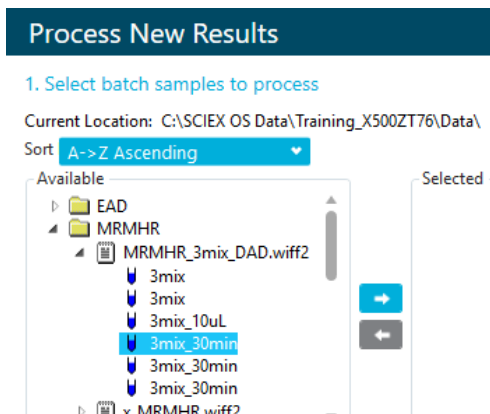
- MS/MSの測定範囲を広げて測定 (MS Method で Apply TOF start/stop mass を設定) したデータの場合で、最適なフラグメントイオンを自動で選択する機能です。

* Training では実施しません。

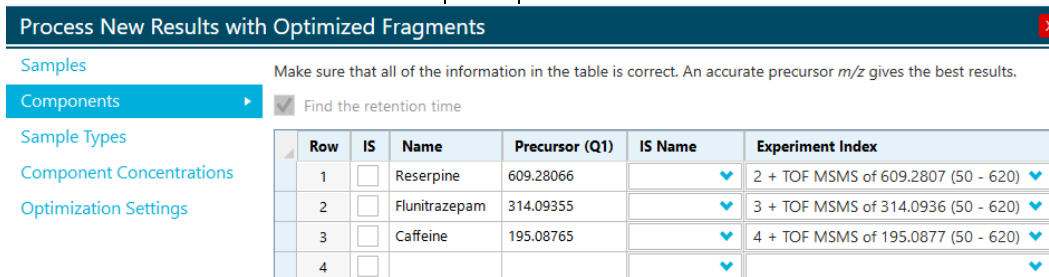
- ① **Results** をクリックし New with optimized fragments... を選択します。



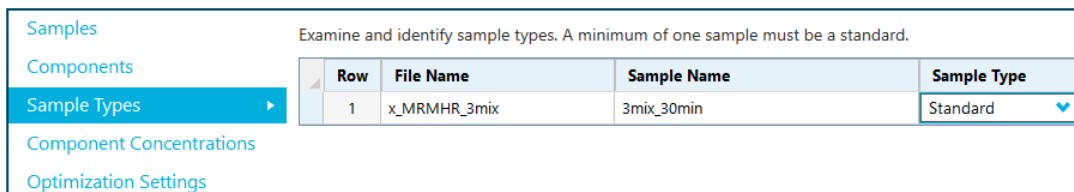
- ② 解析するデータを選択し、=> アイコンで画面右側にサンプルを移動し、**Next** をクリックします。



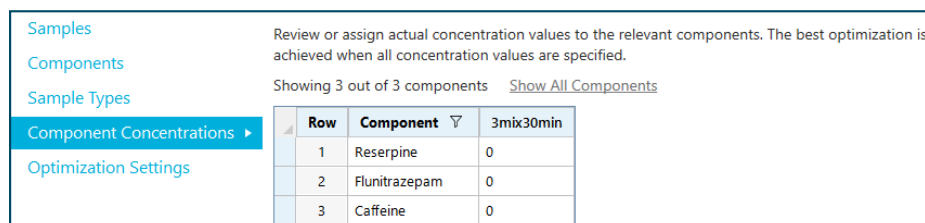
- ③ **Components** で表示される情報は、MS method で入力した MRM HR の化合物情報が自動的に反映されます。変更がなければ **Next** をクリックします。



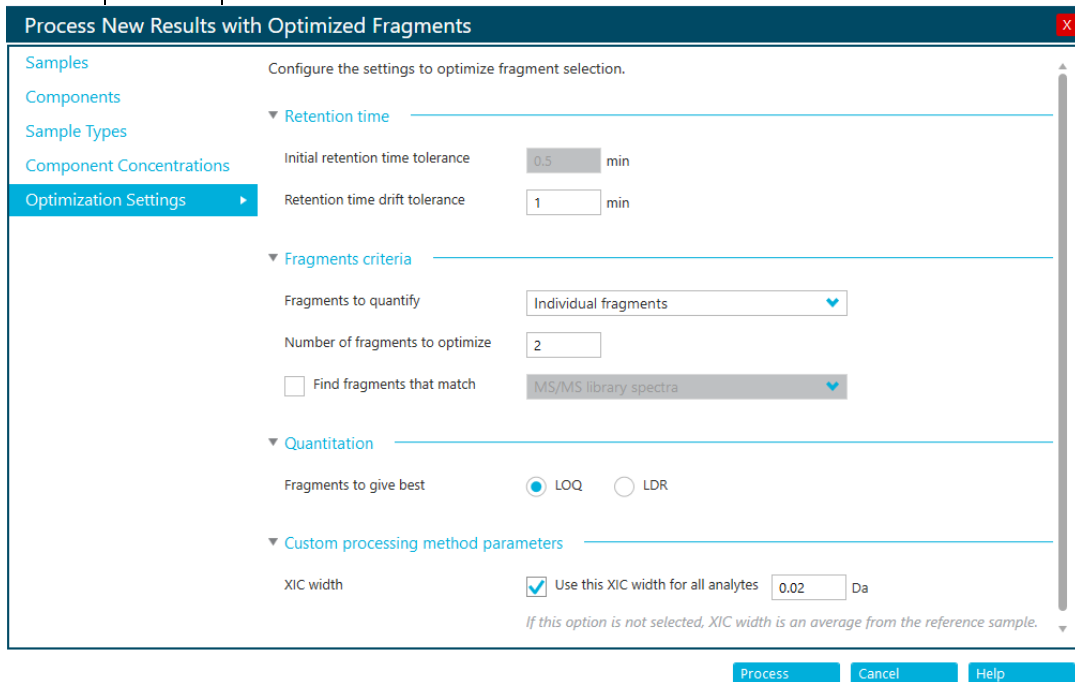
- ④ **Sample Types** では検量線に該当するデータについてプルダウンから Standard を選択し **Next** をクリックします。該当するデータがなくても少なくとも1つは Standard と設定します。



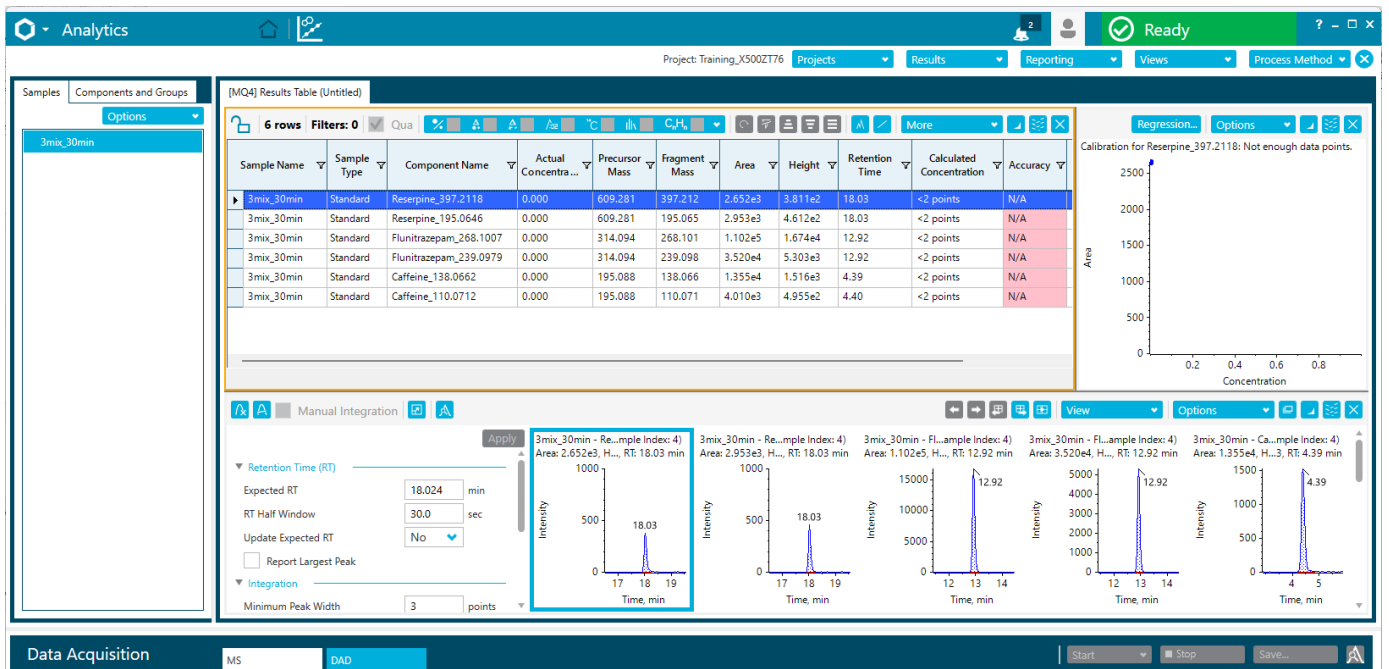
- ⑤ **Component Concentrations** では検量線あるいは QC サンプルについて実際の濃度を入力し **Next** をクリックします。



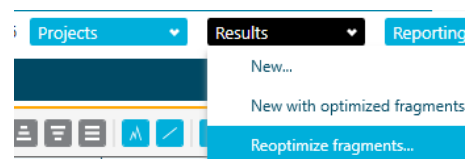
- ⑥ **Optimization Settings** では下図を参考にフラグメントイオンの選択や解析法などを設定し、最後に **Process** をクリックします。



- ⑦ 結果の確認は基本操作マニュアルの【Analyticsによるデータ解析】をご参照ください。



- フラグメントイオンや解析法を変更する場合は **Results** から Reoptimize fragments... を選択、条件を変更したら **Process** をクリックします。



◆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

◆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

◆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