

KnowItAll ソフトウェアトレーニング

LC Expert

自動 LC-MS 処理と分析

KnowItAll LC Expert を使用して自動 LC-MS 検索と分析を実行する方法

目的

これらの演習では、KnowItAll LC Expert を使用して LC-MS Chromatogram を自動的に分析する方法を説明します。

目的

これらの演習では、次の方法を学習します。

- KnowItAll LC Expert を使用して Chromatogram をピークに分解し、さらに分析します。
- 対象を絞らないデータベース検索を実行する
- ターゲットを絞った正確な質量検索を実行する
- MSforID 検索アルゴリズムを適用する

背景

LC-MS Chromatogram には豊富な情報が含まれています。分析は困難で、厳選されたライブラリを検索するには時間がかかります。LC Expert アプリケーションでは、Chromatogram をピークに自動的にデコンボリューションし、さらに分析して既知および未知のターゲットを検索できます。高精度の LC-MS 検索のために、MSforID 検索アルゴリズムが含まれています。LC Expert のユーザーは、社内の化合物でユーザー ライブラリを作成し、KnowItAll を使用してワークフローを合理化することが推奨されます。


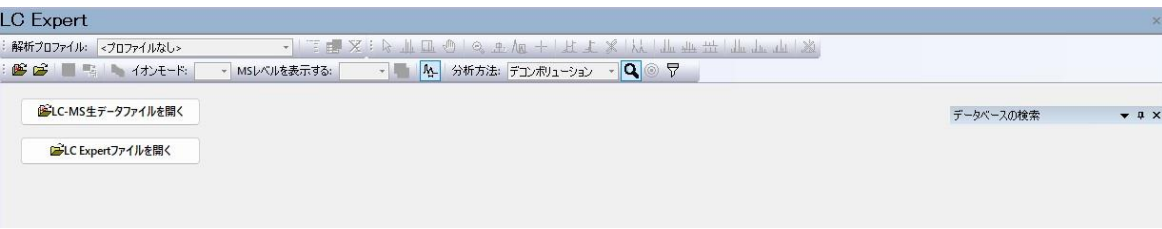
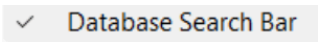
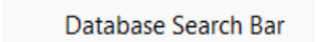
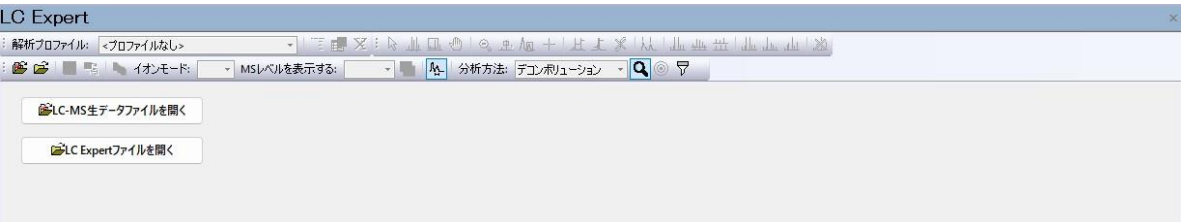
このレッスンで使用するトレーニング ファイル

- C:\Users\Public\Documents\Wiley\KnowItAll\Samples\LC-MS 内のフォルダー ファイル

使用する KnowItAll アプリケーション

- KnowItAll LC Expert
- KnowItAll SearchIt
- KnowItAll MineIt

例: LC Expert で Chromatogram を開く

	アクション	結果
1	<p>スペクトル処理ツールボックスにあるアイコン () をクリックして、LC Expert アプリケーションを開きます。</p>	<p>LC Expert アプリケーションが表示されます:</p>  <p><i>注記:</i> アプリケーションにアクセスするには、LC Expert が現在のライセンスに含まれている必要があります。</p>
2	<p>トレーニングの次の部分を簡素化するには、[表示] > [データベース検索バー] をクリックしてチェックマークを削除し、データベース検索パネルを非表示にします (下の図を参照)。</p> <p>選択解除前:</p>  <p>選択解除後:</p> 	<p>データベース検索バーの選択を解除すると、パネルは非表示になります。</p>  <p><i>注:</i> データベース検索バーについては、次のセクションで説明します。</p>

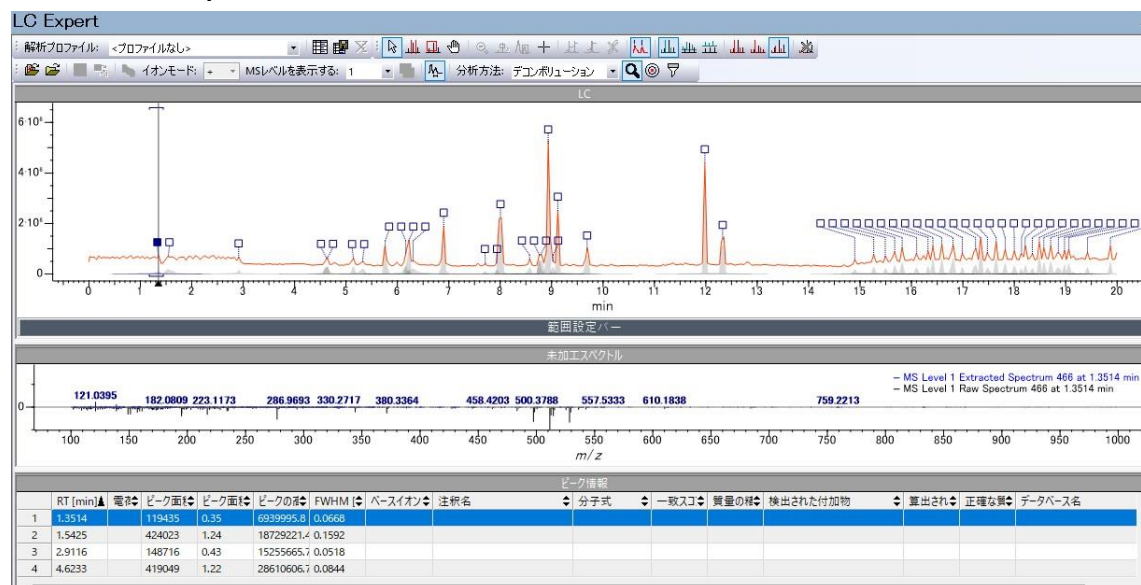
アクション

3 「Open Raw LC-MS Data File」 ボタンをクリックします。「C:\Users\Public\Public Documents\Wiley\KnowItAll\Samples\LC-MS」に移動します。

「TESTMIX2_180504_MAS011_06.mzXML」を選択し、アプリケーションで開きます。


結果

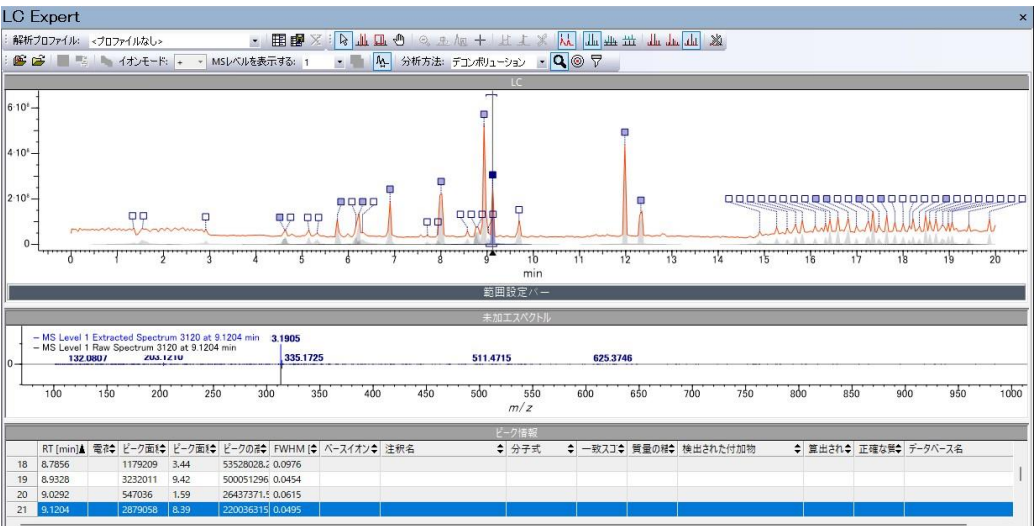
ファイルは **LC Expert** アプリケーションで開きます:

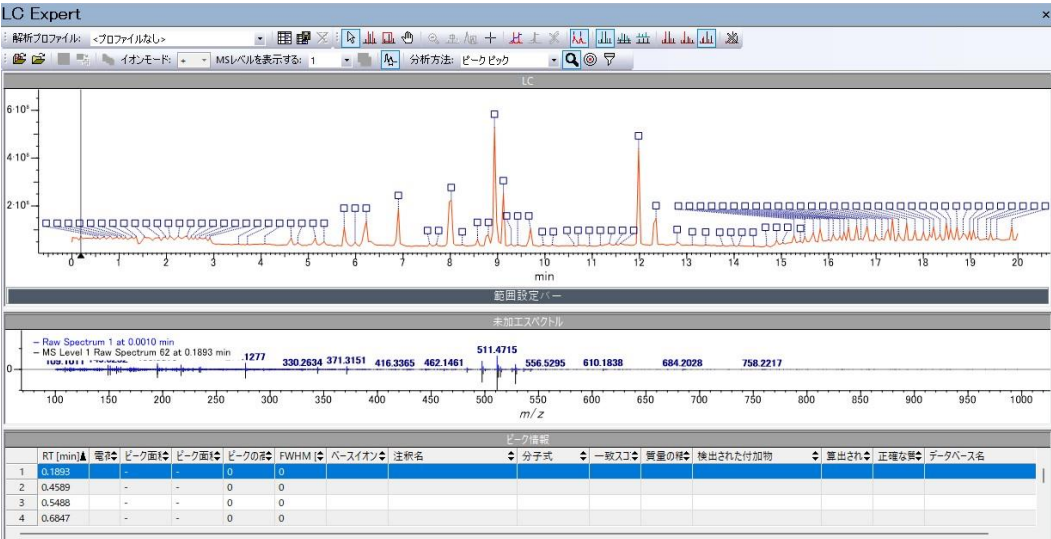




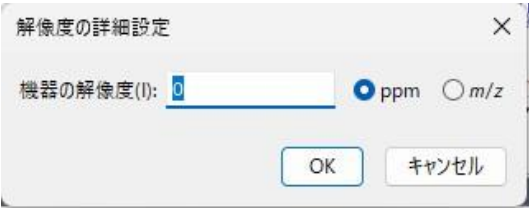
- 上部のパネルには、各ピークを表すピークボックスを含む **Chromatogram** が表示されます。
- 中央のパネルは、抽出されたスペクトルと生のスペクトルが表示される **Raw Spectrum** パネルです。
- 下のパネルは **ピーク**です **Chromatogram** から生成されたデコンボリューションされたピークを示す表。表の各行には、各ピークに関する情報が含まれています。
- 検出されたイオン極性は、標準ツールバーにあるイオンモードパネルに表示されます。


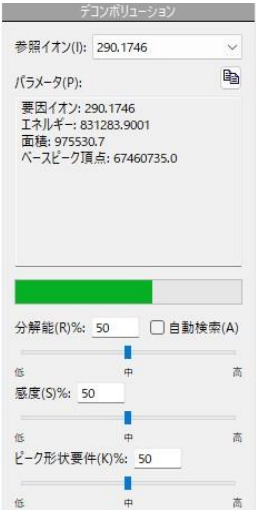
アクション	結果																																																																						
<p>4 包含範囲バーをマウスの左ボタンでクリックし、左または右にドラッグして分析する領域を選択します。</p> <p>注:これは、マウスの右ボタンで範囲バーを含めるをクリックしても実行できます。表示される範囲を含めるダイアログで、追加をクリックします。低範囲の下に、値を手動で入力するためのスペースが表示されます。高範囲の下で同じ操作を行い、値を手動で入力します。OKをクリックします。</p>	<p>包含範囲バーを使用すると、Chromatogram 内の分析領域を分離できます。これらの領域 (Chromatogram 上で灰色で表示) の外側では、デコンボリューションや追加の分析は行われません。</p>  <table border="1" data-bbox="730 743 1562 831"> <thead> <tr> <th>RT (min)</th> <th>電圧</th> <th>ピーク面積</th> <th>ピーク高さ</th> <th>FWHM</th> <th>ベースライン</th> <th>注釈</th> <th>分子式</th> <th>一致スコア</th> <th>質量の幅</th> <th>抽出された化合物</th> <th>抽出された</th> <th>正確な質量</th> <th>データベース</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>4.6233</td> <td>419049</td> <td>1.53</td> <td>2861006.1</td> <td>0.0844</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>4.6584</td> <td>204814</td> <td>0.75</td> <td>27706207.1</td> <td>0.0835</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>5.1453</td> <td>329043</td> <td>1.20</td> <td>28404383.1</td> <td>0.0520</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>5.3272</td> <td>587581</td> <td>2.15</td> <td>20053455.1</td> <td>0.0939</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> </tbody> </table>	RT (min)	電圧	ピーク面積	ピーク高さ	FWHM	ベースライン	注釈	分子式	一致スコア	質量の幅	抽出された化合物	抽出された	正確な質量	データベース	4.6233	419049	1.53	2861006.1	0.0844										4.6584	204814	0.75	27706207.1	0.0835										5.1453	329043	1.20	28404383.1	0.0520										5.3272	587581	2.15	20053455.1	0.0939									
RT (min)	電圧	ピーク面積	ピーク高さ	FWHM	ベースライン	注釈	分子式	一致スコア	質量の幅	抽出された化合物	抽出された	正確な質量	データベース																																																										
4.6233	419049	1.53	2861006.1	0.0844																																																																			
4.6584	204814	0.75	27706207.1	0.0835																																																																			
5.1453	329043	1.20	28404383.1	0.0520																																																																			
5.3272	587581	2.15	20053455.1	0.0939																																																																			
<p>5 包含範囲バーから分離された領域を削除するには、包含範囲バーの右側にあるゴミ箱アイコン (🗑️) をクリックします。</p>	<p>分離された領域は Chromatogram から削除され、完全なクロマトグラフ領域がデコンボリューションされます。</p>  <table border="1" data-bbox="730 1263 1562 1331"> <thead> <tr> <th>RT (min)</th> <th>電圧</th> <th>ピーク面積</th> <th>ピーク高さ</th> <th>FWHM</th> <th>ベースライン</th> <th>注釈</th> <th>分子式</th> <th>一致スコア</th> <th>質量の幅</th> <th>抽出された化合物</th> <th>抽出された</th> <th>正確な質量</th> <th>データベース</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>1.3514</td> <td>119435</td> <td>0.35</td> <td>6939995.3</td> <td>0.0665</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>1.5425</td> <td>434023</td> <td>1.24</td> <td>18728231.4</td> <td>0.1582</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>2.9116</td> <td>148716</td> <td>0.43</td> <td>15255665.1</td> <td>0.0516</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>4.6233</td> <td>419049</td> <td>1.22</td> <td>2861006.1</td> <td>0.0844</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> </tbody> </table>	RT (min)	電圧	ピーク面積	ピーク高さ	FWHM	ベースライン	注釈	分子式	一致スコア	質量の幅	抽出された化合物	抽出された	正確な質量	データベース	1.3514	119435	0.35	6939995.3	0.0665										1.5425	434023	1.24	18728231.4	0.1582										2.9116	148716	0.43	15255665.1	0.0516										4.6233	419049	1.22	2861006.1	0.0844									
RT (min)	電圧	ピーク面積	ピーク高さ	FWHM	ベースライン	注釈	分子式	一致スコア	質量の幅	抽出された化合物	抽出された	正確な質量	データベース																																																										
1.3514	119435	0.35	6939995.3	0.0665																																																																			
1.5425	434023	1.24	18728231.4	0.1582																																																																			
2.9116	148716	0.43	15255665.1	0.0516																																																																			
4.6233	419049	1.22	2861006.1	0.0844																																																																			

	アクション	結果																																			
6	<p>最も高いピーク（8.93分に位置）のピークボックス(□)をクリックします。</p>	<p>8.93分のピークを選択すると、次のようになります。</p> <ul style="list-style-type: none"> ピークボックスが影付きで表示されます。 ピーク領域は青色で網掛けされ、デコンボリューションされたピーク領域が表示されます。 ピークの保持時間領域を視覚化するために、ピークの下にブラケットがあります。 Peaksの関連行 テーブル が強調表示されます。  <p>The screenshot shows the LC Expert interface. At the top, there's a menu bar and a toolbar. The main window displays a chromatogram with several peaks. The peak at 8.9328 min is highlighted with a blue box. Below the chromatogram, there's a mass spectrum plot showing peaks at m/z 235.1801, 278.0929, 301.0749, and 557.2783. At the bottom, there's a peak table with columns for RT (min), 電位, ピーク面, ピーク高さ, ピークのFWHM, ベースイオン, and 注釈. The row for RT 8.9328 is highlighted in blue.</p> <table border="1" data-bbox="730 893 1627 982"> <thead> <tr> <th>RT (min)</th> <th>電位</th> <th>ピーク面</th> <th>ピーク高さ</th> <th>ピークのFWHM</th> <th>ベースイオン</th> <th>注釈</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>16</td> <td>8.5725</td> <td>337708</td> <td>0.98</td> <td>24653653.4</td> <td>0.0583</td> <td></td> </tr> <tr> <td>17</td> <td>8.7637</td> <td>582643</td> <td>1.70</td> <td>51684092.2</td> <td>0.0652</td> <td></td> </tr> <tr> <td>18</td> <td>8.7856</td> <td>1179209</td> <td>3.44</td> <td>53529828.2</td> <td>0.0976</td> <td></td> </tr> <tr style="background-color: #e0f0ff;"> <td>19</td> <td>8.9328</td> <td>3232011</td> <td>9.42</td> <td>500051296</td> <td>0.0454</td> <td></td> </tr> </tbody> </table>	RT (min)	電位	ピーク面	ピーク高さ	ピークのFWHM	ベースイオン	注釈	16	8.5725	337708	0.98	24653653.4	0.0583		17	8.7637	582643	1.70	51684092.2	0.0652		18	8.7856	1179209	3.44	53529828.2	0.0976		19	8.9328	3232011	9.42	500051296	0.0454	
RT (min)	電位	ピーク面	ピーク高さ	ピークのFWHM	ベースイオン	注釈																															
16	8.5725	337708	0.98	24653653.4	0.0583																																
17	8.7637	582643	1.70	51684092.2	0.0652																																
18	8.7856	1179209	3.44	53529828.2	0.0976																																
19	8.9328	3232011	9.42	500051296	0.0454																																

	アクション	結果
7	<p>ピークの別の行をクリックします 表 (例: 行 21)。</p>	<p>Chromatogram 内の関連するピークが選択されます。</p> <ul style="list-style-type: none"> • ピークボックスは暗い色でシェーディングされます。 • ピークエリアは網掛けされています。 • 保持時間領域は括弧で示されます。  <p>注: ピークのコンポーネントをユーザーが識別できる場合は、その名前を手動でピークに入力できます。テーブル 注釈名列の関連するセルをダブルクリックします。</p>

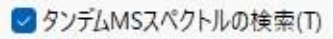
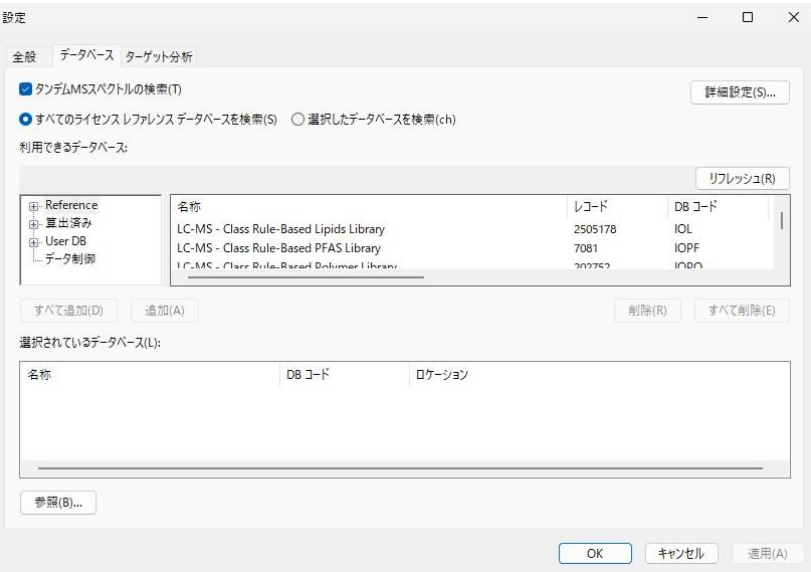
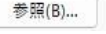
	アクション	結果																																																																						
8	<p>注記: デフォルトでは、分析方法は標準ツールバーのドロップダウンメニューはデコンボリューションモードに設定されます。デコンボリューションモードでは、関連のある MS スキャンがグループ化され（ピークに）、ピークの平均 MS1 スキャンが MS レベル 1 抽出スペクトルとして Raw Spectrum ペインに表示されます。ピーク情報（例: ピーク面積、ピーク面積パーセント[%]）がピークに表示されます。テーブル。</p> <p>必要に応じて、単一の時点の生の MS スペクトル情報をピークで分析することができます。テーブル 分析方法をピークピッキングメニューオプションに変更します。</p>	<p>分析方法がピークピッキングに設定されている場合、（生の MS スペクトルからの）単一の時間点がピークを特徴付けるために使用される。ピーク面積とピーク面積[%]の列は「-」記号に置き換えられます。逆に、デコンボリューションモードを分析方法として使用すると、関連する MS スキャンがグループ化され、ピーク、したがってピーク面積とピーク面積[%]の情報はピークで利用可能である。テーブル。</p>  <table border="1" data-bbox="730 901 1774 998"> <thead> <tr> <th>RT [min]</th> <th>電荷</th> <th>ピーク面積</th> <th>ピークの高さ</th> <th>FWHM</th> <th>ベースイオン</th> <th>注釈名</th> <th>分子式</th> <th>一致スコア</th> <th>質量の差</th> <th>検出された付加物</th> <th>算出され</th> <th>正確な算</th> <th>データベース</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>0.1893</td> <td>-</td> <td>-</td> <td>0</td> <td>0</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>0.4589</td> <td>-</td> <td>-</td> <td>0</td> <td>0</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>0.5488</td> <td>-</td> <td>-</td> <td>0</td> <td>0</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>0.6847</td> <td>-</td> <td>-</td> <td>0</td> <td>0</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> </tbody> </table>	RT [min]	電荷	ピーク面積	ピークの高さ	FWHM	ベースイオン	注釈名	分子式	一致スコア	質量の差	検出された付加物	算出され	正確な算	データベース	0.1893	-	-	0	0										0.4589	-	-	0	0										0.5488	-	-	0	0										0.6847	-	-	0	0									
RT [min]	電荷	ピーク面積	ピークの高さ	FWHM	ベースイオン	注釈名	分子式	一致スコア	質量の差	検出された付加物	算出され	正確な算	データベース																																																											
0.1893	-	-	0	0																																																																				
0.4589	-	-	0	0																																																																				
0.5488	-	-	0	0																																																																				
0.6847	-	-	0	0																																																																				
9	<p>ステップ 10 に進む前に、分析方法がデコンボリューションメニューオプションに設定されていることを確認します。</p>	<p>分析方法のデコンボリューションオプションが選択されています:</p> <p>分析方法: デコンボリューション</p>																																																																						

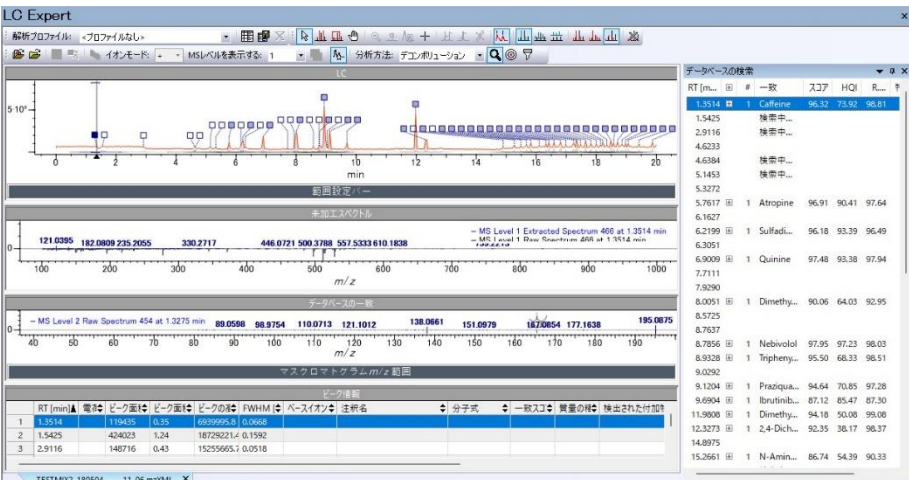
アクション	結果																																																												
<p>10 ピークデコンボリューション設定を調整するには、[表示] > [デコンボリューション設定]バーを選択します。</p>	<p>デコンボリューション設定バーが開きます。デコンボリューション設定バーを使用して、デコンボリューションと機器の解像度を調整できます。</p>  <table border="1" data-bbox="730 836 1554 933"> <thead> <tr> <th>RT [min]</th> <th>高さ</th> <th>ピーク面積</th> <th>ピーク面積%</th> <th>FWHM</th> <th>ベースイオン</th> <th>注釈名</th> <th>分子式</th> <th>一致スコア</th> <th>質量の割合</th> <th>検出された付加物</th> <th>量</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>1</td> <td>1.3514</td> <td>119435</td> <td>0.35</td> <td>4939995.8</td> <td>0.0668</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>2</td> <td>1.5425</td> <td>424023</td> <td>1.24</td> <td>18729221.4</td> <td>0.1592</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>3</td> <td>2.9116</td> <td>148716</td> <td>0.43</td> <td>15255665.7</td> <td>0.0518</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>4</td> <td>4.6233</td> <td>419049</td> <td>1.22</td> <td>28610606.7</td> <td>0.0844</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> </tbody> </table>	RT [min]	高さ	ピーク面積	ピーク面積%	FWHM	ベースイオン	注釈名	分子式	一致スコア	質量の割合	検出された付加物	量	1	1.3514	119435	0.35	4939995.8	0.0668							2	1.5425	424023	1.24	18729221.4	0.1592							3	2.9116	148716	0.43	15255665.7	0.0518							4	4.6233	419049	1.22	28610606.7	0.0844						
RT [min]	高さ	ピーク面積	ピーク面積%	FWHM	ベースイオン	注釈名	分子式	一致スコア	質量の割合	検出された付加物	量																																																		
1	1.3514	119435	0.35	4939995.8	0.0668																																																								
2	1.5425	424023	1.24	18729221.4	0.1592																																																								
3	2.9116	148716	0.43	15255665.7	0.0518																																																								
4	4.6233	419049	1.22	28610606.7	0.0844																																																								
<p>11 機器解像度を変更するには、デコンボリューション設定バーに移動し、機器解像度パネルの「詳細」の横にあるチェックボックスをクリックします。</p> 	<p>詳細な解像度設定ポップアップが表示されます。</p> 																																																												
<p>12 ポップアップの「Cancel」をクリックしてダイアログを閉じます。</p>	<p>ポップアップが閉じます。</p>																																																												

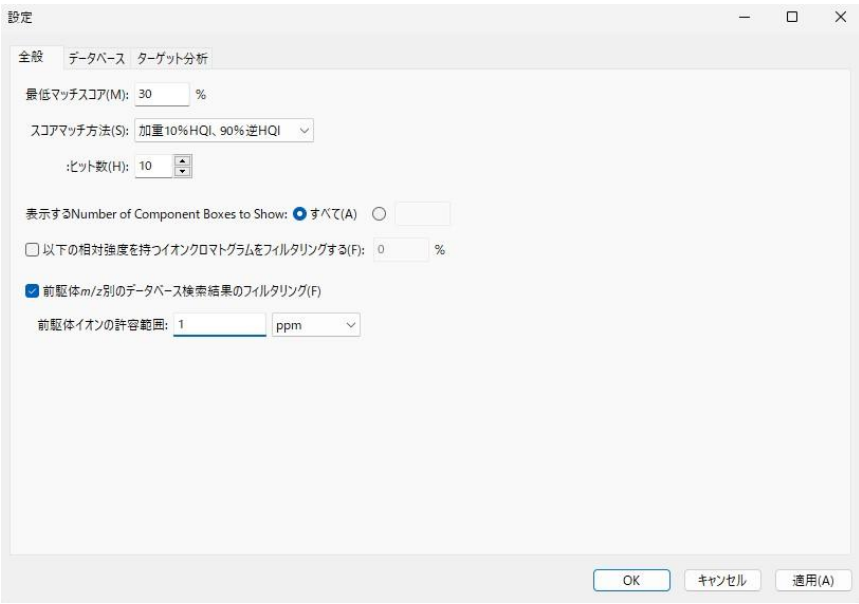
	アクション	結果
13	<p>デコンボリューション設定バーに移動し、デコンボリューションパネルの「自動」の横にあるチェックボックスをオフにします。</p> 	<p>解像度、感度、ピーク形状の要件が調整可能になります。スライダーバーまたは数値を使用して、デコンボリューション設定を制御できます。デコンボリューション設定を変更すると、ピークのピーク数が変わります。テーブル Chromatogram 上のピークボックスが変更されます。</p> 
14	<p>【自動】の横にあるチェックボックスをクリックして再度選択します。 デコンボリューション設定パネルの終了アイコン (X) を選択して、パネルを非表示にします。</p>	<p>アプリケーションはピークの自動デコンボリューションを再開します。デコンボリューション設定パネルは非表示になります。</p>
15	<p>ファイルを保存するには、「ファイル」>「LC Expert の保存」を選択します。ファイル。</p>	<p>LC エキスパート分析ファイルは、選択した場所に保存されます。</p>  <p>このファイルを再度開いてデータセットを再分析したり、将来的に処理を続行したりできます。</p>



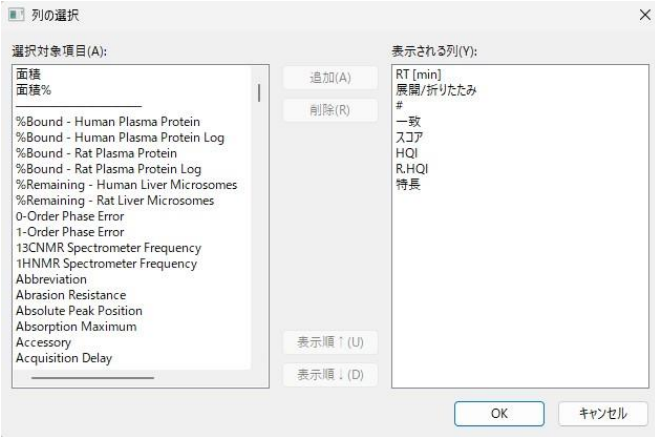
例: ターゲットを絞らない MS2 検索を実行する

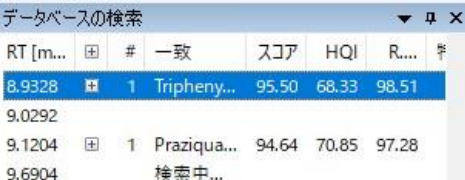

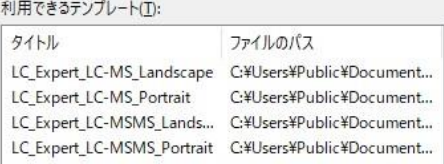
n データの非ターゲット ライブラリ検索を実行する方法について説明します。


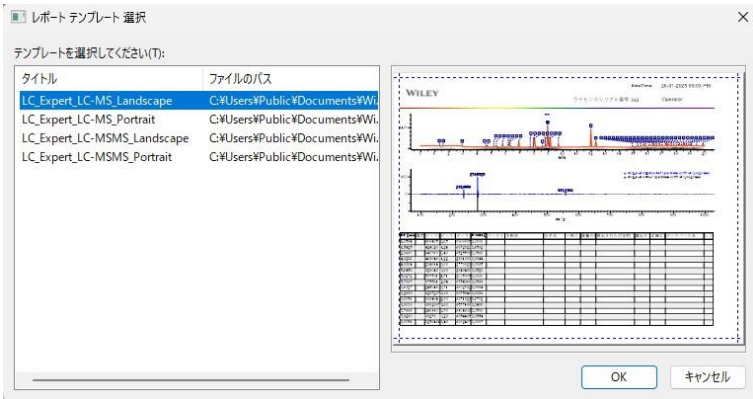
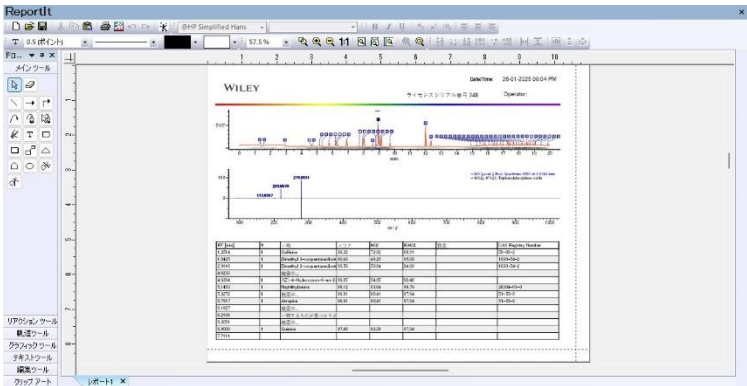
	アクション	結果
16	<p>手順 2 の Chromatogram ファイルを使用して続行します。</p> <p>設定ポップアップで、「ファイル」>「設定」を選択します。「データベース」タブを選択します。</p> <p>「タンデム MS スペクトルの検索」チェックボックスが選択されていることを確認します。</p> 	<p>設定ダイアログが開きます。データベースメニューには検索設定が表示されます。「検索可能」の下のパネルに表示される特定のデータベースは、ユーザーライセンスによって異なります。</p> 
17	<p>「ライセンスされたすべての参照データベースを検索」のラジオ ボタンを選択します。</p> <p>検索」のラジオ ボタンを使用して、必要なライブラリを個別に追加することで、選択したデータベースを検索することもできます。</p>	<p>「すべてのライセンスされた参照データベースを検索」のラジオ ボタンが選択されている場合、「検索対象として選択」ウィンドウは使用できません。「選択したデータベースを検索」のラジオ ボタンが選択されている場合、「検索対象として選択」ウィンドウは使用できます。</p> <p>注:使用可能なデータベースは、ユーザーのライセンスによって異なります。ユーザー データベースを検索対象に追加するには、【参照して選択】ボタン () を選択し、目的のデータベースファイル (.sdbx) に移動します。</p>




アクション	結果
<p>18 「適用」をクリックし、「OK」をクリックして、設定ダイアログで行った変更を保存します。</p> <p>[表示] > [データベース検索バー]を選択します。</p>	<p>設定ダイアログが閉じます。データベース検索パネルが表示ウィンドウの右側に表示されます。</p> <ul style="list-style-type: none"> • 選択されたライブラリを使用して、デコンボリューションされたピークが検索されます。 • データベース検索パネルのピーク保持時間 (RT [分]) は、Peaks Table 内のピークと一致します。 • データベース検索パネルの行をクリックすると、ピークの関連行がハイライト表示されます。表、および Chromatogram のピーク。 • MS2 スペクトルに最適な検索一致が、各ピーク保持時間のトップヒットとして表示されます。  <p>ソフトウェアは、適用されたデータベースに対して MSⁿ スペクトルを一致させるためにコサイン類似度検索を実行します。デフォルト設定を使用すると、データベース検索結果は次のようにフィルタリングされます。</p> <ul style="list-style-type: none"> • Chromatogram に適用されたイオン極性を使用してイオン極性を一致させます。 • 前駆体イオン m/z。 <p>注:データベース検索パネルでの特定のデータベースの一致は、検索に使用されるライセンスされたデータベースと、手順 19 で構成する設定によって異なります。</p>

	アクション	結果
19	<p>「ファイル」>「設定」に移動します。「全般」タブのまま、前駆体イオン許容値を1 ppm に変更します。</p>	<p>設定ダイアログが起動します。最後に適用された設定はアプリケーションに保持されます。コサイン類似度検索の実行には次の設定があります。</p> <ul style="list-style-type: none"> • HQI または R.HQI (リバース HQI) のどちらを優先するかを定義する マッチスコアメソッド。 <ul style="list-style-type: none"> ○ LC Expert では R.HQI に重点が置かれます。 ○ スコアリング方法はドロップダウンメニューを使用して変更できます。 • 「データベース検索結果を前駆体 m/z でフィルタリング」チェックボックスをオンにすると、データベース検索結果がクエリスペクトルの前駆体 m/z でフィルタリングされます。 <ul style="list-style-type: none"> ○ 選択を解除すると、クエリ結果は前駆体 m/z によってフィルタリングされず、すべての m/z 値が受け入れられます。 • 前駆体イオン許容値は、前駆体イオン m/z の一致許容値を提供します。 

	アクション	結果
20	<p>ダイアログ ウィンドウで[OK]をクリックし、データベース検索パネルの検索一致の横にある展開アイコン()をクリックします。</p>	<p>最も一致した上位 10 件が表示されます (10 件未満の一致が特定された場合は 10 件未満が表示されます)。具体的な一致は、適用されたライセンス データベースと、手順 19 で構成された設定によって異なります。</p>  <p>注: メモを追加するには、[メモ]列の目的の行の隣のセルをダブルクリックします。</p>
21	<p>データベース検索テーブルを右クリックし、コンポーネント テーブル列の編集を選択します。</p>	<p>列選択ダイアログ ウィンドウが起動します。</p> 



	アクション	結果										
22	<p>「使用可能な列」リストから列を選択します（例: 「CAS レジストリ番号」）。</p> <p>利用可能な列をクリックし、追加を選択します。</p> <p>「OK」をクリックして続行します。</p>	<p>列は、リストの下部にある[表示列]セルに追加されます。【OK】をクリックすると、ダイアログ ウィンドウが閉じます。新しい列は、データベース検索テーブルに列として追加されます。</p>  <p>データベース検索テーブルに追加の列を追加できます。</p>										
23	<p>【ファイル】>【Reporttitl の編集】に移動します。</p>	<p>レポートテンプレートダイアログ ウィンドウが起動します。ダイアログにすでにテンプレートがある場合は、次の手順をスキップしてください。</p> 										
24	<p>【追加】をクリックし、「C:\Users\Public\Documents\Wiley\KnowItAll\Report Templates\LC Expert」に移動します。</p> <p>フォルダー内の 4 つの Report をすべて選択します。</p> <p>「開く」をクリックします。</p>	<p>Report が[使用可能なテンプレート]ボックスに追加されます。</p>  <table border="1"> <thead> <tr> <th>タイトル</th> <th>ファイルのパス</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>LC_Expert_LC-MS_Landscape</td> <td>C:\Users\Public\Document...</td> </tr> <tr> <td>LC_Expert_LC-MS_Portrait</td> <td>C:\Users\Public\Document...</td> </tr> <tr> <td>LC_Expert_LC-MSMS_Lands...</td> <td>C:\Users\Public\Document...</td> </tr> <tr> <td>LC_Expert_LC-MSMS_Portrait</td> <td>C:\Users\Public\Document...</td> </tr> </tbody> </table>	タイトル	ファイルのパス	LC_Expert_LC-MS_Landscape	C:\Users\Public\Document...	LC_Expert_LC-MS_Portrait	C:\Users\Public\Document...	LC_Expert_LC-MSMS_Lands...	C:\Users\Public\Document...	LC_Expert_LC-MSMS_Portrait	C:\Users\Public\Document...
タイトル	ファイルのパス											
LC_Expert_LC-MS_Landscape	C:\Users\Public\Document...											
LC_Expert_LC-MS_Portrait	C:\Users\Public\Document...											
LC_Expert_LC-MSMS_Lands...	C:\Users\Public\Document...											
LC_Expert_LC-MSMS_Portrait	C:\Users\Public\Document...											


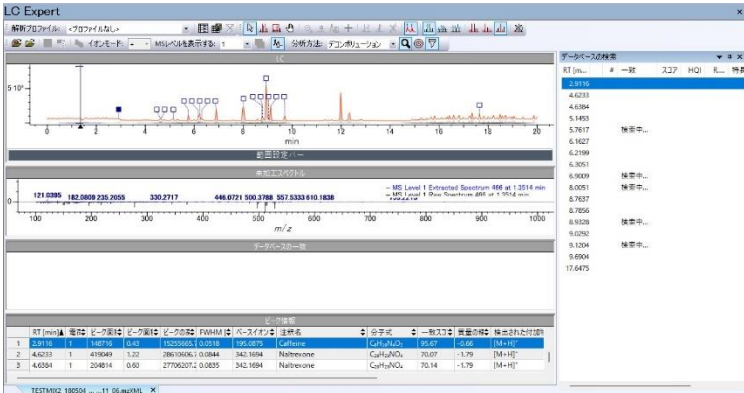


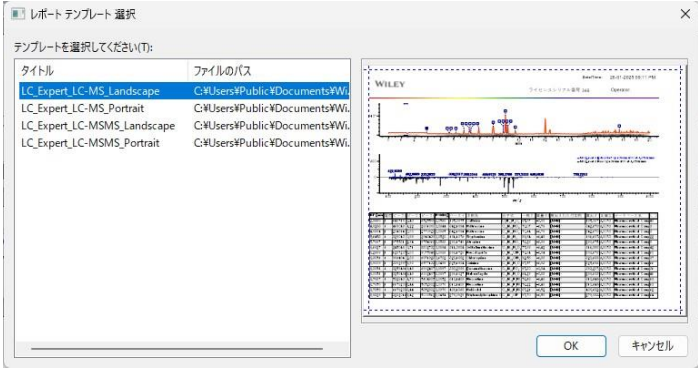
	アクション	結果
25	<p>ダイアログ ウィンドウで[閉じる]をクリックします。</p> <p>転送先 (送り先:) バーを使用して、ReportIt () をクリックします。</p>	<p>選択した Report でアクティブな Chromatogram がプレビューされた状態で、[ReportIt の選択] ダイアログ ウィンドウが起動します。</p> 
26	<p>「LC_Expert_LC-MSMS_Landscape」 をクリックし、ダイアログ ウィンドウで 「OK」 をクリックします。</p>	<p>レポートが生成され、データベース検索からの MSⁿ 検索情報が表示されます。 テーブル:</p> 

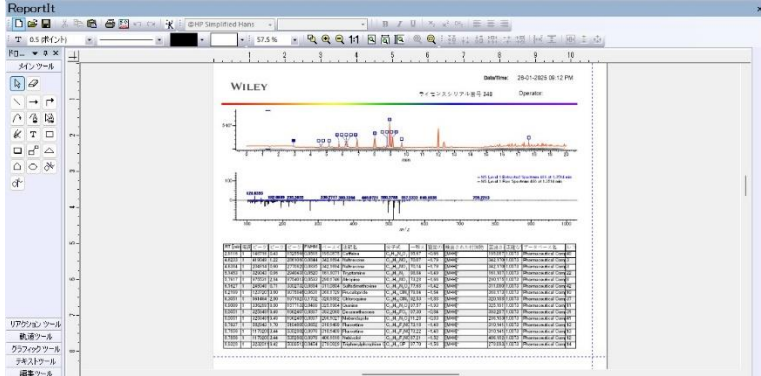


	アクション	結果																																																
27	LC Expert に戻るには、 Back Arrow アイコン()を使用します。	LC Expert がオープンしました。																																																
28	<p>注:ソフトウェアのバックグラウンドでデータベース検索が行われないようにするには、標準ツールバーにある関連アイコン() の選択を解除します。または、手順 16 で指定したデータベース検索設定をオフにします。</p> <p>次のセクションでは、データベース検索が選択されたままになります。</p>	<p>設定の選択を解除すると、データベース検索テーブルの検索結果が削除されます。</p>  <table border="1"><thead><tr><th>RT [m...]</th><th>#</th><th>一致</th><th>スコア</th><th>HQI</th><th>R...</th></tr></thead><tbody><tr><td>1.3514</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td>1.5425</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td>2.9116</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td>4.6233</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td>4.6384</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td>5.1453</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td>5.3272</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr></tbody></table>	RT [m...]	#	一致	スコア	HQI	R...	1.3514						1.5425						2.9116						4.6233						4.6384						5.1453						5.3272					
RT [m...]	#	一致	スコア	HQI	R...																																													
1.3514																																																		
1.5425																																																		
2.9116																																																		
4.6233																																																		
4.6384																																																		
5.1453																																																		
5.3272																																																		

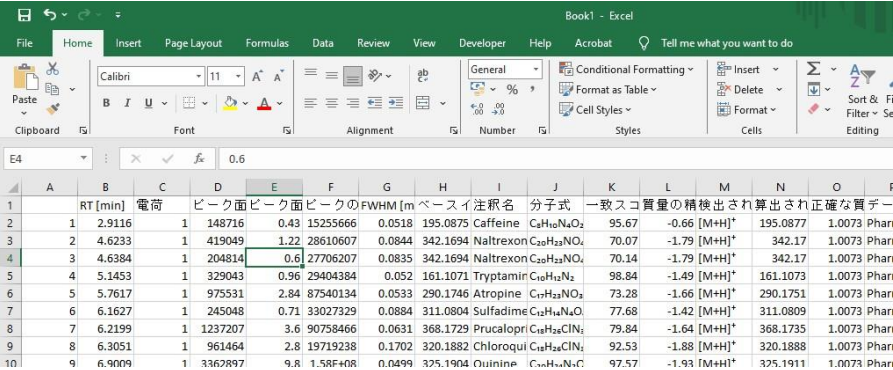
例: 正確な質量検索

このセクションでは、Chromatogram ファイル内で正確な質量検索を実行する方法について説明します。LC Expert の ターゲット分析ワークフロー ターゲットの正確な質量を使用して、ターゲットリスト内の化合物のリストを Chromatogram で検索します。

	アクション	結果
29	<p>前のセクションの Chromatogram を続けます。</p> <p>ターゲットアイコン () をクリックするか、分析 > ターゲット分析を選択します。</p> <p>「C:\Users\Public\Public Documents\Wiley\KnowItAll\Samples\LC-MS\」に移動します。「Pharmaceutical Compounds.sdbx」を選択し、「開く」をクリックします。</p> <p>ターゲット検索結果ポップアップを読み終えたら、「OK」をクリックしてポップアップウィンドウを閉じます。</p> <p>注: sdbx ファイルは、Chromatogram で検索するターゲットとして化合物のリストをインポートします。転送先バーを使用して ChemWindow から LC Expert に構造を転送することで、個々のターゲットを検索することもできます。</p>	<p>[ターゲット]ボタンを選択すると、ファイル エクスプローラーウィンドウが開きます。sdbx ファイルを開いた後:</p> <ul style="list-style-type: none"> ターゲット検索結果ポップアップには、Chromatogram で見つかった化合物の数が表示されます。 <div data-bbox="1171 609 1499 818" style="border: 1px solid gray; padding: 5px; margin: 10px 0;"> <p style="text-align: center;">ターゲット検索の結果 ×</p> <p style="text-align: center;"> 検出されたターゲット: 16中39。</p> <p style="text-align: right;"><input type="button" value="OK"/></p> </div> <ul style="list-style-type: none"> Peaks Table テーブル 検出された化合物情報で更新されます: <ul style="list-style-type: none"> 注釈名は、sdbx ファイルの複合レコード名です。 ベースイオン [m/z] は、MS1 抽出スペクトルからの基本イオンです。 特定された化合物 (つまりターゲット) の分子式。 マッチ スコアは、ターゲットの正確な質量と計算された正確な質量を使用してマッチ スコアを計算します。 質量精度は、ターゲットの正確な質量と計算された正確な質量を使用して計算される質量精度です。 検出された付加物は、抽出されたスペクトルで検出され、正確な質量計算に適用される付加物です。 計算された質量は、検出された付加物を含むターゲットの正確な質量です。 データベース名は、ターゲットリストとして使用されるインポートされた sdbx ファイルの名前です。 レコード ID は、検出されたターゲットを識別するための sdbx ファイルからの特定のレコード ID です。 <p>注記: Peaks Table テーブルとデータベースの検索 このステップではテーブルをフィルタリングできます。これについてはステップ 30 で説明します。</p>


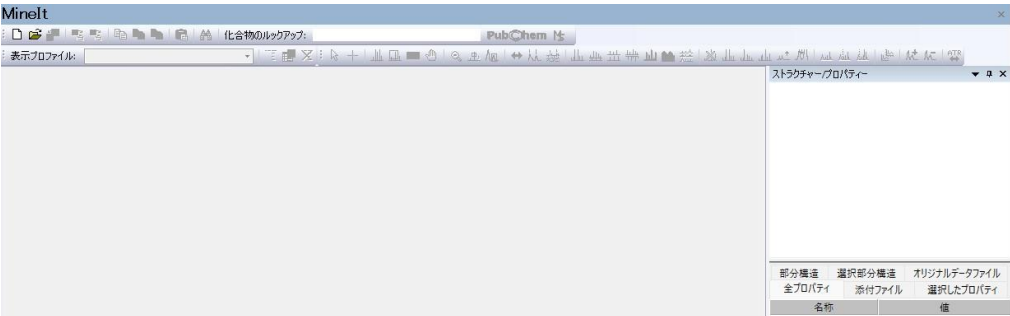

	アクション	結果
30	<p>Peaks Table テーブル フィルターアイコン () を選択/選択解除することで、フィルターを適用/適用解除できます。</p>	<p>フィルターを選択した場合:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Peaks Table テーブルでは、ターゲットが検出されない行は非表示になります。 • Chromatogram 上のピークボックスは、ピークに表示されている行と一致するようにフィルタリングされます。 テーブル。 • データベース検索テーブルには、Peaks Table に表示されるピークの一致のみが表示されます。 テーブル。  <p>The screenshot shows the LC Expert interface. At the top, there's a menu bar and toolbar. Below that is a chromatogram plot with peaks labeled. Underneath is a mass spectrum plot. At the bottom, there's a table of peaks with columns for RT, Abundance, and other parameters. The table shows three rows of data, with the first row highlighted.</p>
31	<p>ReportIt ()に転送するには、[転送先] () バーを選択します。</p>	<p>Report の選択ダイアログウィンドウが起動します。</p>  <p>The screenshot shows a dialog box titled 'レポートテンプレート 選択' (Report Template Selection). It has a list of templates on the left with columns for 'タイトル' (Title) and 'ファイルのパス' (File Path). The first template, 'LC_Expert_LC-MS_Landscape', is selected. On the right, there's a preview of a report showing a chromatogram and a table of data. At the bottom, there are 'OK' and 'キャンセル' (Cancel) buttons.</p>

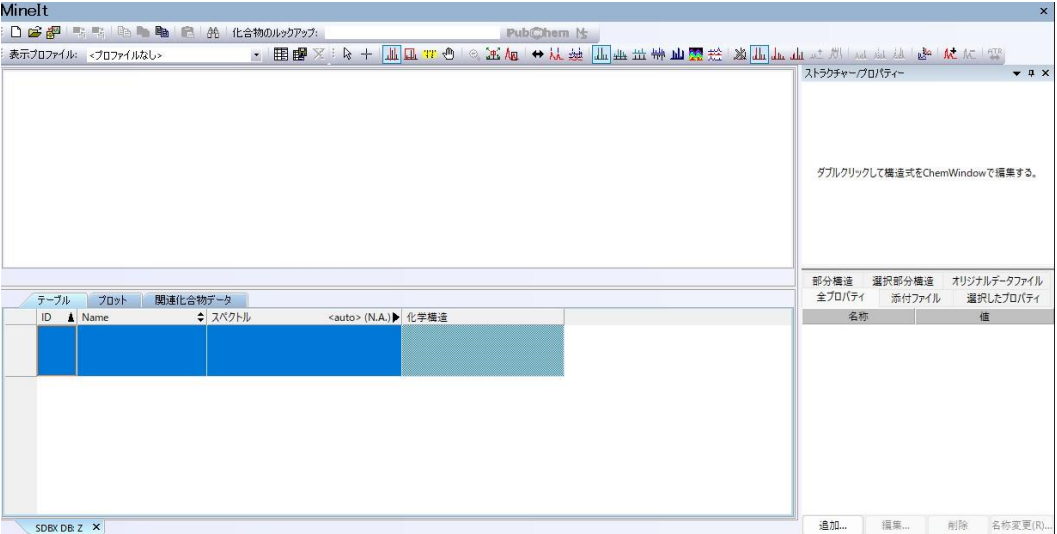

	アクション	結果
32	<p>ダイアログウィンドウで「LC_Expert_LC-MS_Landscape」を選択します。</p>	<p>Peaks Table からの正確な質量情報を表示するレポートが生成されます テーブル:</p>  <p>注:Chromatogram のアクティブな表示はレポートに保持されます (例:ステップ 30 のフィルターされた Chromatogram とフィルターされていない Chromatogram)。</p>
33	<p>LC Expert に戻るには、Back Arrow アイコン()を使用します。</p>	<p>LC Expert がオープンしました。</p>
34	<p>Peaks Table を変更するには、テーブルを直接右クリックし、Edit Column Display を選択します。</p> <p>ダイアログ ウィンドウを閉じるには、[Cancel]をクリックします。</p>	<p>列選択ダイアログ ウィンドウが起動し、列を非表示にしたり、列の順序を変更したりできるようになります。</p> 

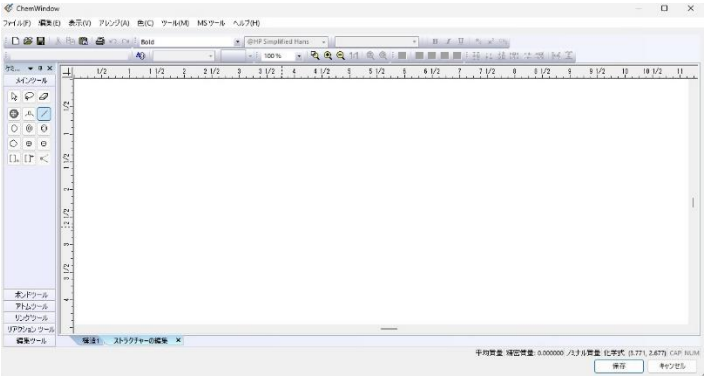
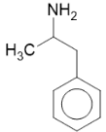
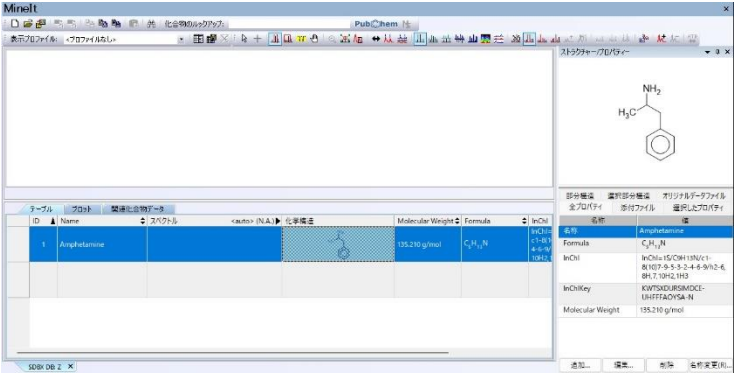
	アクション	結果
35	<p>Peaks Table は、テーブルを右クリックして [Copy Table to Clipboard.] を選択すると、ドキュメントにコピーできます。</p>	<p>テーブルがドキュメントにコピーされます:</p>  <p>Peaks Table のアクティブディスプレイ テーブル レポートに保持されます (例: ステップ 30 のフィルタリングされた Chromatogram とフィルタリングされていない Chromatogram) .</p>

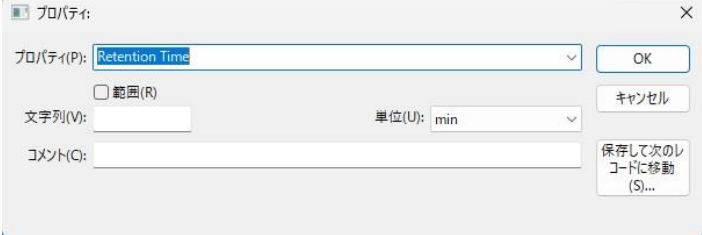

例: 正確な質量検索のためのユーザーデータベースを作成する

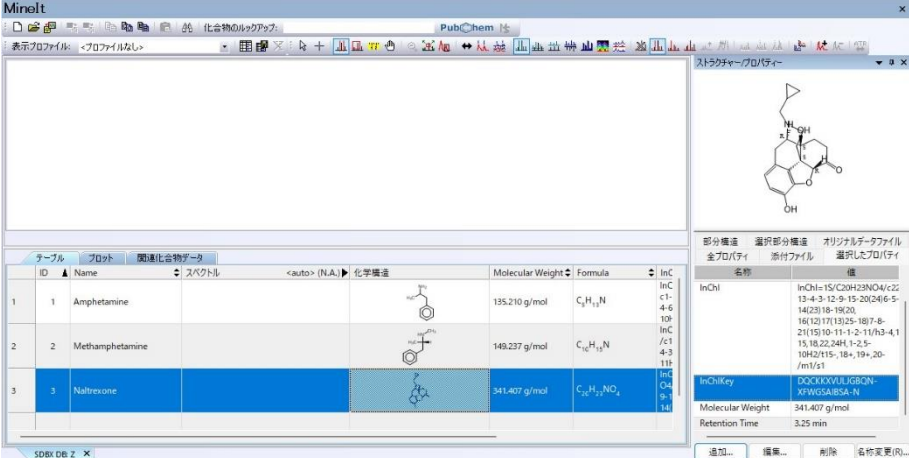
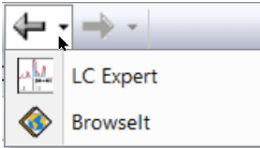
このセクションでは、前のセクションのサンプル ファイルなど、正確な質量検索に使用するユーザー データベースを準備する方法について説明します。


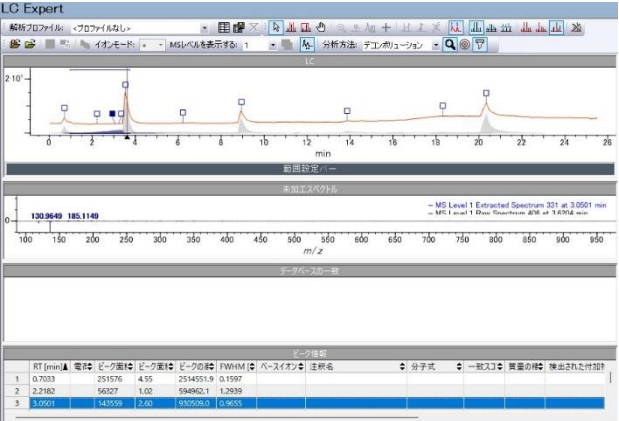


	アクション	結果
36	<p>Chromatogram 内で正確な質量検索を実行するには、検索用の化合物を含むユーザーデータベースが必要です。</p> <p>まず、通常はデータツールボックスにある Minelt アプリケーション () を開きます。</p>	<p>Minelt アプリケーションが表示されます:</p> 
37	<p>ユーザー データベースを作成します。</p> <p>データベース > 新規 を選択します。</p>	<p>新しいデータベース作成ダイアログ ウィンドウが起動します。</p> 

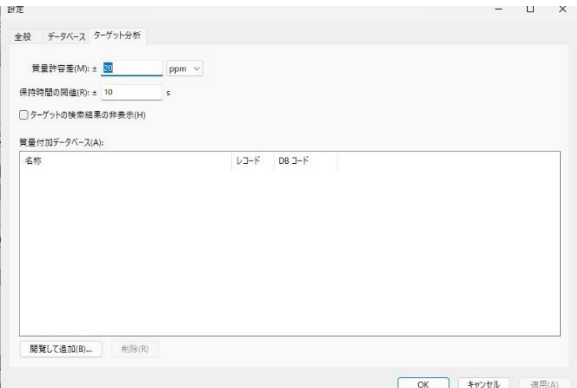
	アクション	結果
38	<p>必要なデータベース情報を入力します。</p> <ul style="list-style-type: none"> データベース ファイルの保存場所。 [Browse]をクリックして場所を選択します。 データベース名。 データベースの略語 (3 文字)。 [OK] をクリックして続行します。 	<p>Minelt で空のデータベースが開かれます:</p> 
39	<p>テーブルの最初の行にある名前セルをダブルクリックします。</p>	<p>プロパティダイアログ ウィンドウが起動します。</p>
40	<p>表示されるポップアップに「アンフェタミン」と入力します。「OK」を押して保存します。</p>	<p>最初のレコード (ID 1) の Name プロパティとして、アンフェタミンが表示されます。</p> 

	アクション	結果																								
41	<p>「ChemWindow で構造を編集するにはダブルクリックしてください」と表示されている構造/プロパティウィンドウでダブルクリックします。</p>	<p>ChemWindow はポップアウトウィンドウとして起動されます。</p> 																								
42	<p>指定された SMILES 文字列をクリップボードにコピーします。 <chem>c1(ccccc1)CC(N)C</chem> 次に、「編集」>「形式を選択して貼り付け」を選択し、「SMILES」を選択します。</p>	<p>アンフェタミンの構造は ChemWindow に表示されます。</p> 																								
43	<p>「保存」をクリックします。</p>	<p>構造は Minelt ユーザー データベースに表示されます。</p>  <table border="1" data-bbox="741 1211 1283 1373"> <thead> <tr> <th>ID</th> <th>Name</th> <th>製造会社</th> <th>Molecular Weight</th> <th>Formula</th> <th>InChI</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>1</td> <td>Amphetamine</td> <td>casmo (N.A.)</td> <td>151.20 g/mol</td> <td>C₉H₉N</td> <td>InChI=1S/C9H9N/c1-8/107-8-3-5-4-6-9/12-6/102-103</td> </tr> </tbody> </table> <table border="1" data-bbox="1283 1195 1461 1341"> <thead> <tr> <th>名称</th> <th>値</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>名称</td> <td>Amphetamine</td> </tr> <tr> <td>Formula</td> <td>C₉H₉N</td> </tr> <tr> <td>InChI</td> <td>InChI=1S/C9H9N/c1-8/107-8-3-5-4-6-9/12-6/102-103</td> </tr> <tr> <td>InChIKey</td> <td>QWTVDEURSMKQCE-10HTTADQ54-N</td> </tr> <tr> <td>Molecular Weight</td> <td>151.20 g/mol</td> </tr> </tbody> </table>	ID	Name	製造会社	Molecular Weight	Formula	InChI	1	Amphetamine	casmo (N.A.)	151.20 g/mol	C ₉ H ₉ N	InChI=1S/C9H9N/c1-8/107-8-3-5-4-6-9/12-6/102-103	名称	値	名称	Amphetamine	Formula	C ₉ H ₉ N	InChI	InChI=1S/C9H9N/c1-8/107-8-3-5-4-6-9/12-6/102-103	InChIKey	QWTVDEURSMKQCE-10HTTADQ54-N	Molecular Weight	151.20 g/mol
ID	Name	製造会社	Molecular Weight	Formula	InChI																					
1	Amphetamine	casmo (N.A.)	151.20 g/mol	C ₉ H ₉ N	InChI=1S/C9H9N/c1-8/107-8-3-5-4-6-9/12-6/102-103																					
名称	値																									
名称	Amphetamine																									
Formula	C ₉ H ₉ N																									
InChI	InChI=1S/C9H9N/c1-8/107-8-3-5-4-6-9/12-6/102-103																									
InChIKey	QWTVDEURSMKQCE-10HTTADQ54-N																									
Molecular Weight	151.20 g/mol																									

	アクション	結果														
44	化合物の予想される 保持時間 を追加するには、 構造/プロパティ に移動します。テーブルを選択し、 [追加] を選択します。プロパティダイアログ ウィンドウに 保持時間 を入力します。	<p>保持時間プロパティの値がダイアログ ウィンドウに表示されます。</p> 														
45	プロパティダイアログウィンドウの「 値 」の隣のセルに値「 3.7 」を入力します。単位はデフォルトの「分」のままにします。 [OK] を選択して続行します。	<p>保存期間がレコードに追加されます。</p> <table border="1" data-bbox="741 659 1123 906"> <thead> <tr> <th>名称</th> <th>値</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>名称</td> <td>Amphetamine</td> </tr> <tr> <td>Formula</td> <td>C₉H₁₃N</td> </tr> <tr> <td>InChI</td> <td>InChI=1S/C9H13N/c1-8(10)7-9-5-3-2-4-6-9/h2-6,8H,7,10H2,1H3</td> </tr> <tr> <td>InChIKey</td> <td>KWTSXDURSIMDCE-UHFFFAOYSA-N</td> </tr> <tr> <td>Molecular Weight</td> <td>135.210 g/mol</td> </tr> <tr> <td>Retention Time</td> <td>3.7 min</td> </tr> </tbody> </table> <p>注意: データベース ファイルには保持時間は必要ありません。保持時間の値が指定されていない場合は、化合物の完全な Chromatogram がスキャンされます。</p>	名称	値	名称	Amphetamine	Formula	C ₉ H ₁₃ N	InChI	InChI=1S/C9H13N/c1-8(10)7-9-5-3-2-4-6-9/h2-6,8H,7,10H2,1H3	InChIKey	KWTSXDURSIMDCE-UHFFFAOYSA-N	Molecular Weight	135.210 g/mol	Retention Time	3.7 min
名称	値															
名称	Amphetamine															
Formula	C ₉ H ₁₃ N															
InChI	InChI=1S/C9H13N/c1-8(10)7-9-5-3-2-4-6-9/h2-6,8H,7,10H2,1H3															
InChIKey	KWTSXDURSIMDCE-UHFFFAOYSA-N															
Molecular Weight	135.210 g/mol															
Retention Time	3.7 min															
46	データベースに化合物を追加します。まず、表の次の行をクリックします。	<p>表の次の行をクリックすると、その行が強調表示され、アクティブであることが示されます。</p> 														

アクション	結果																												
<p>47 手順 39 ~ 46 を繰り返して、次の化合物をユーザー データベースに追加します。</p> <p>名称: メタンフェタミン 笑顔: <chem>c1cccc(c1)C[C@H](C)NC</chem> 保持時間: 3.85 分</p> <p>名称: ナルトレキソン SMILES:結果セルに表示 保持時間: 3.25 分</p>	<p>ナルトレキソン スマイルズ: <chem>O[C@]12[C@@]3(N(CC[C@@]11C4=C(C(=CC=C4C3)O)O[C@]1(C(CC2=O)[H])CC1CC1)[H])</chem></p> <p>メタンフェタミンとナルトレキソンがデータベースに追加されました。</p>  <p>The screenshot shows the Minelt software interface. At the top, there's a browser window with the PubChem URL. Below it, a table lists compounds:</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>ID</th> <th>Name</th> <th>スペクトル</th> <th>化学構造</th> <th>Molecular Weight</th> <th>Formula</th> <th>InChI</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>1</td> <td>Amphetamine</td> <td></td> <td></td> <td>135.210 g/mol</td> <td>C₉H₉N</td> <td>InChI=1S/C9H9N/c1-4-6-10^</td> </tr> <tr> <td>2</td> <td>Methamphetamine</td> <td></td> <td></td> <td>149.237 g/mol</td> <td>C₁₀H₁₃N</td> <td>InChI=1S/C10H13N/c1-4-3-11^</td> </tr> <tr> <td>3</td> <td>Naltrexone</td> <td></td> <td></td> <td>341.407 g/mol</td> <td>C₁₇H₁₉NO₅</td> <td>InChI=1S/C17H19NO5/c22-4-3-12-9-15-20/46-5-14(23)18-19/20,16(12)17(13)25-18(7-8-21)15(10-11)-2-11/h3-4,11,15,18,22,24H,1-2,5-10H2/15,18+,19+,20-/m1/s1</td> </tr> </tbody> </table> <p>Below the table, a detailed view of Naltrexone is shown, including its InChI, Molecular Weight (341.407 g/mol), and Retention Time (3.25 min).</p> <p>この社内化合物のユーザー データベースは、LC Expert での正確な質量検索に使用できます。</p>	ID	Name	スペクトル	化学構造	Molecular Weight	Formula	InChI	1	Amphetamine			135.210 g/mol	C ₉ H ₉ N	InChI=1S/C9H9N/c1-4-6-10^	2	Methamphetamine			149.237 g/mol	C ₁₀ H ₁₃ N	InChI=1S/C10H13N/c1-4-3-11^	3	Naltrexone			341.407 g/mol	C ₁₇ H ₁₉ NO ₅	InChI=1S/C17H19NO5/c22-4-3-12-9-15-20/46-5-14(23)18-19/20,16(12)17(13)25-18(7-8-21)15(10-11)-2-11/h3-4,11,15,18,22,24H,1-2,5-10H2/15,18+,19+,20-/m1/s1
ID	Name	スペクトル	化学構造	Molecular Weight	Formula	InChI																							
1	Amphetamine			135.210 g/mol	C ₉ H ₉ N	InChI=1S/C9H9N/c1-4-6-10^																							
2	Methamphetamine			149.237 g/mol	C ₁₀ H ₁₃ N	InChI=1S/C10H13N/c1-4-3-11^																							
3	Naltrexone			341.407 g/mol	C ₁₇ H ₁₉ NO ₅	InChI=1S/C17H19NO5/c22-4-3-12-9-15-20/46-5-14(23)18-19/20,16(12)17(13)25-18(7-8-21)15(10-11)-2-11/h3-4,11,15,18,22,24H,1-2,5-10H2/15,18+,19+,20-/m1/s1																							
<p>48 前のアプリケーションアイコン (⇄) にマウスを移動し、下向きボタン (▼) をクリックします。LC Expert を選択すると、選択したアプリケーションに戻ります。</p> 	<p>LC Expert アプリケーションが開きます。</p>																												

	アクション	結果																																
49	<p>標準ツールバーにある RAW ファイルを開くアイコン () を使用して、LC Expert の場合は、「C:\Users\Public\Public Documents\Wiley\KnowItAll\Samples\LC-MS」に移動します。</p> <p>生の Chromatogram ファイルの 1 つを開きます。</p> <ul style="list-style-type: none"> • Compound_1_POS.mzML • Compound_2_POS.mzML • Compound_3_POS.mzML 	<p>選択した Chromatogram が LC Expert で開きます(例: Compound_1_POS.mzML)。</p>  <table border="1" data-bbox="737 711 1352 781"> <thead> <tr> <th>ピーク番号</th> <th>RT [min]</th> <th>電荷</th> <th>ピーク面積</th> <th>ピーク高さ</th> <th>FWHM</th> <th>ベースライン</th> <th>注釈</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>1</td> <td>0.7033</td> <td></td> <td>251576</td> <td>4.55</td> <td>2514551.9</td> <td>0.1597</td> <td></td> </tr> <tr> <td>2</td> <td>2.2182</td> <td></td> <td>50327</td> <td>1.00</td> <td>504962.1</td> <td>1.2639</td> <td></td> </tr> <tr> <td>3</td> <td>3.9203</td> <td></td> <td>842559</td> <td>23.63</td> <td>8329500.3</td> <td>83255</td> <td></td> </tr> </tbody> </table>	ピーク番号	RT [min]	電荷	ピーク面積	ピーク高さ	FWHM	ベースライン	注釈	1	0.7033		251576	4.55	2514551.9	0.1597		2	2.2182		50327	1.00	504962.1	1.2639		3	3.9203		842559	23.63	8329500.3	83255	
ピーク番号	RT [min]	電荷	ピーク面積	ピーク高さ	FWHM	ベースライン	注釈																											
1	0.7033		251576	4.55	2514551.9	0.1597																												
2	2.2182		50327	1.00	504962.1	1.2639																												
3	3.9203		842559	23.63	8329500.3	83255																												
50	<p>手順 29 で実行したように、ターゲットアイコン () をクリックするか、分析 > ターゲット分析を選択します。</p> <p>手順 38 で保存した構造データベースファイルに移動して選択します。</p>	<p>データベースからの 1 つのターゲットが Chromatogram に見つかりました。</p>  <ul style="list-style-type: none"> • 「Compound_1_POS.mzML」でアンフェタミンが検出されました。 • 「Compound_2_POS.mzML」でメタンフェタミンが検出されました。 • 「Compound_3_POS.mzML」でナルトレキソンが検出されました。 																																

	アクション	結果
51	<p>注:ターゲット分析のユーザー設定は、[File > Setting]を選択し、[Target Analysis]タブを選択することで更新できます。</p>	<p>利用可能なターゲット分析設定は次のとおりです。</p> <ul style="list-style-type: none"> ● 質量許容値。 ● 保持時間許容値の秒単位の保持時間しきい値。 ● [ターゲット検索結果を非表示] チェックボックスをオンにすると、ターゲット検索結果ポップアップが表示されなくなります。 ● 質量付加物データベースを使用すると、ユーザーは sdbx ファイルで追加の付加物をインポートし、正確な質量検索に使用することができます。 <ul style="list-style-type: none"> ○ デフォルトでは、Chromatogram では [M+H] または [MH] 付加物のみがスキャンされます。 ○ 追加の付加物を追加するには、「参照して追加」ボタンをクリックし、LC-MS サンプルフォルダーにある「Additional Adducts.sdbx」に移動します (詳細については、手順 52 を参照してください)。 
52	<p>注:ユーザーは、LC-MS サンプル フォルダ (「C:\Users\Public\Public Documents\Wiley\KnowItAll\Samples\LC-MS\」) のサンプル sdbx ファイル「Additional Adducts.sdbx」を変更するか、このサンプル ファイルで提供されている標準に従って独自のデータベース ファイルを作成することにより、独自のアダクト ライブラリを作成できます。</p>	<p>付加物ライブラリを準備するには、次の情報が必要です。</p> <ul style="list-style-type: none"> ● 名前: 付加物のラベルに使用されます。 ● 式: 同位体付加物の放射を計算するために使用されます。 <ul style="list-style-type: none"> ○ KnowItAll は、減算 (-) 記号を組み込むことで付加体の損失を認識するように設計されています。たとえば、付加体 [MH] は -H として表され、付加体 [M+Cl-H] は Cl-H として表されます。 ● 選択されたイオン電荷: 付加物をスキャンするイオン電荷と極性を示します。 <ul style="list-style-type: none"> ○ 例えば、付加物 [MH] と [M+Cl-H] はそれぞれ -1 と -2 になります。 ○ 付加物は正であると想定されるため、正イオンにはプラス (+) 記号は必要ありません (負の付加物を表す - 記号が指定されていない限り)。

MSforID 検索

MSforID 検索の概要

未知化合物の同定のためのタンデム MS 検索ライブラリとアルゴリズムを準備するための多くの課題はよく知られており、文書化されています。それでもなお、検索ツールとデータベースはタンデム MS ワークフローの重要な部分であり続けます。MSforID 検索方法は、品質データベースの検索時に機器の変動に対する堅牢性や、ピークの断片化パターン (つまり、正しいデータベースの一致と実験スペクトル間の変動) に対する高い許容度を示すなど、これらの課題に対処するために設計されました³ MSforID は、さまざまなメーカーのさまざまな研究室で、さまざまな機器 (QqTOF、QqLIT、QqQ、LIT、LIT-FTICR、QTRAP など) を使用して肯定的に評価されました^{2,4}

MSforID 検索のアプローチは、検索クエリを、各化合物レコードに複数の CID スペクトルが存在する化合物ライブラリと比較することです。化合物レコードには、異なる衝突エネルギーで測定された複数のスペクトルが含まれており、化合物のスペクトル シリーズが作成されます。次に、MSforID 検索アルゴリズムは、クエリ スペクトルを化合物の CID スペクトル シリーズと比較します (図 A)。これは、一致ごとにクエリを 1 つのスペクトルと比較する一般的なデータベース検索アルゴリズムとは異なります (図 B)。

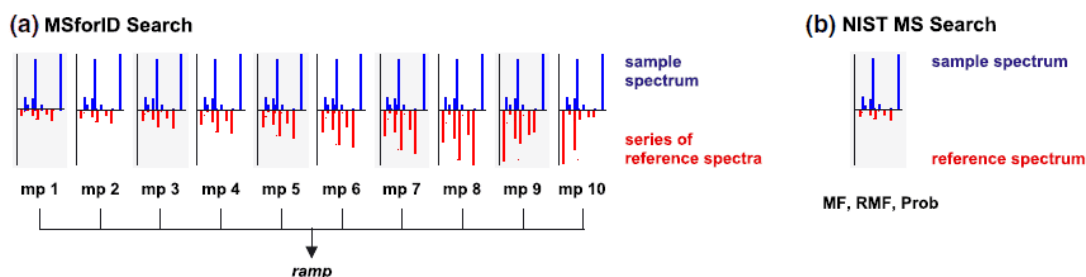


図 A) MSforID と B) NIST MS Search は検索方法を識別します。(文献 3 より転載)

MSforID アルゴリズム

MSforID アルゴリズムは、クエリ スペクトルと一連の化合物参照スペクトルの平均類似度を測定します。これは、次のことを分析する確率ベースのマッチングアルゴリズムです。

- クエリスペクトルとデータベース化合物レコード間の前駆体イオンの質量偏差。
- クエリとデータベース スペクトル間の一致するフラグメントの数。
- 一致するフラグメントの質量偏差と強度差。

検索結果ごとに、アルゴリズムは、一連のスペクトルを含む化合物のデータベース レコードの平均一致確率 (AMP)を計算します。その後、特定のクエリ (つまり、0 ~ 100)の検索結果と比較した正規化された AMP 値である相対平均一致確率 (RAMP)が計算されます³。検索結果は、KnowItAll の Minelt で降順の RAMP 値で表示され、最も高い RAMP 値が最適な一致と見なされます。RAMP 値が 40.0 を超えると、非常に良好な一致スコアと見なされます⁵。

KnowItAll の MSforID 検索ツールの使用

KnowItAll の SearchIt アプリケーションでは、MSforID 検索に次の 3 つの検索方法を使用できます: (1)標準検索(デフォルト)、(2)複合検索、(3)直接検索。推奨される検索アルゴリズムは、公開されている主要なアルゴリズムを適用する標準検索です³。標準検索では、データベース レコード内のすべてのスペクトルをクエリ スペクトルと比較して (図 A のように) RAMP を計算します。これに対し、複合検索では、MSforID アルゴリズムの適応バージョンを使用して、データベース レコード内のすべてのスペクトルの単一の平均スペクトルをクエリ スペクトルと比較します。平均スペクトルは検索中にリアルタイムで計算され、非常に大規模なデータベースを使用する場合は複合検索の方が高速になります。直接検索は、ヒットリストから誤検知を除去することを目的とした MSforID アルゴリズムの改訂版です。

社内 MSforID ライブラリの準備

「[Wiley Registry of Tandem Mass Spectral Data – MS for ID](#)」データベースには、SearchIt の MSforID 検索で使用するために厳選されたスペクトルが含まれています。正確な MSforID 検索のために厳選されたユーザー ライブラリを社内 で準備するには、MSforID データベース標準¹が推奨されます。


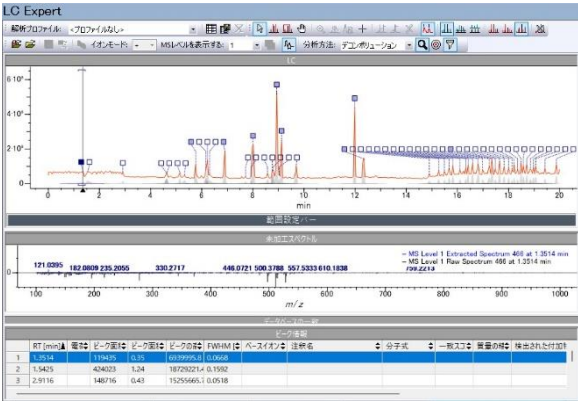
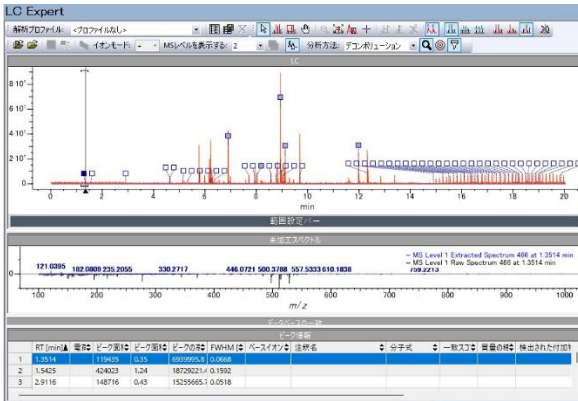
1. 例えば、5~50 eV)で標準化合物の質量スペクトルを測定します。
2. 標準スペクトル内の低濃度シグナル (例えば、0.01% 未満)をフィルタリングします。
3. 1 つの前駆イオン (例: M+H) を使用して、Minelt でデータベース レコードを準備します。異なる付加物から検出された化合物のスペクトルがライブラリで使用できる場合は、これらを異なるレコードに分けます (例: 1 つのレコードに M+H スペクトル、2 番目のレコードに M+Na スペクトル)。

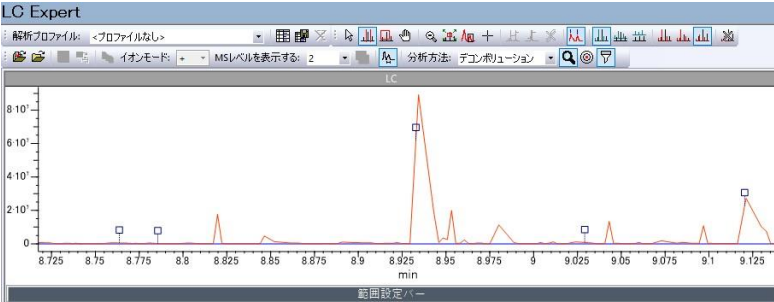
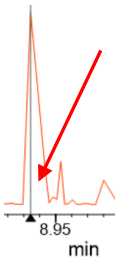
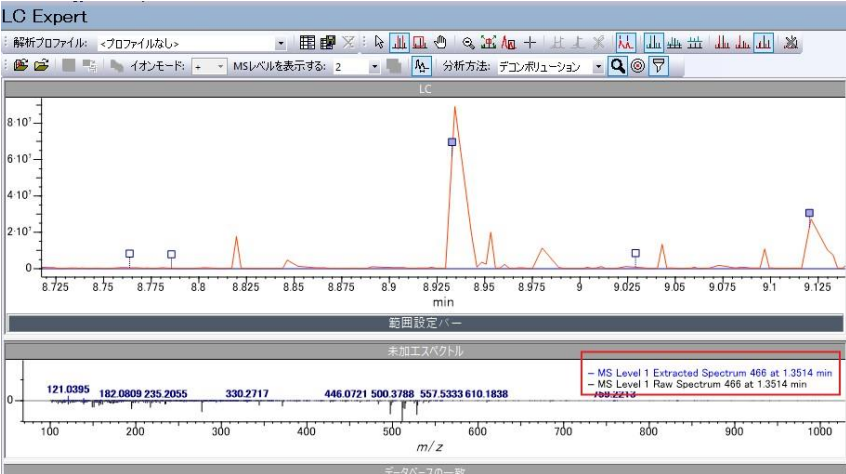
MSforID に関する参考資料と追加資料


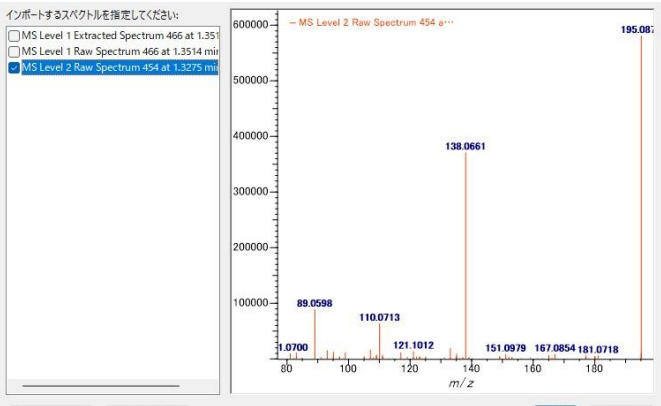

1. M. Pavlic, K. Libiseller, H. Oberacher. 薬物の定性分析のための ESI-QqTOF-MS と ESI-QqTOF-MS/MS の質量スペクトルライブラリ検索との併用。Anal. Bioanal. Chem. 2006、386、62-82。doi: [10.1007/s00216-006-0634-8](#)
2. H. Oberacher, M. Pavlic, K. Libiseller, B. Schubert, M. Sulyok, R. Schuhmacher, E. Csaszar, H. Köfeler. タンデム質量スペクトル参照ライブラリの機器間および研究室間の転送可能性について: 1. オーストリアの多施設研究の結果。J. Mass Spectrom. 2008、44、485-493。doi: [10.1002/jms.1545](#)
3. H. Oberacher, M. Pavlic, K. Libiseller, B. Schubert, M. Sulyok, R. Schuhmacher, E. Csaszar, H. Köfeler. タンデム質量スペクトル参照ライブラリの機器間および研究室間の転送可能性について: 2. 検索アルゴリズムの最適化と特性評価。J. Mass Spectrom. 2008、44、494-502。doi: [10.1002/jms.1525](#)
4. H. Oberacher, W. Weinmann, S. Dresen. タンデム質量スペクトルライブラリの品質評価。Anal. Bioanal. Chem. 2011、400、2641-2648。土井: [10.1007/s00216-010-4598-3](#)
5. H. Oberacher, G. Whitley, B. Berger, W. Weinmann. 「Wiley Registry of Tandem Spectral Data、MSforID」を使用した化合物識別のための代替検索アルゴリズムのテスト。J. Mass Spectrom. 2013、48、497-504。土井: [10.1002/jms.3185](#)


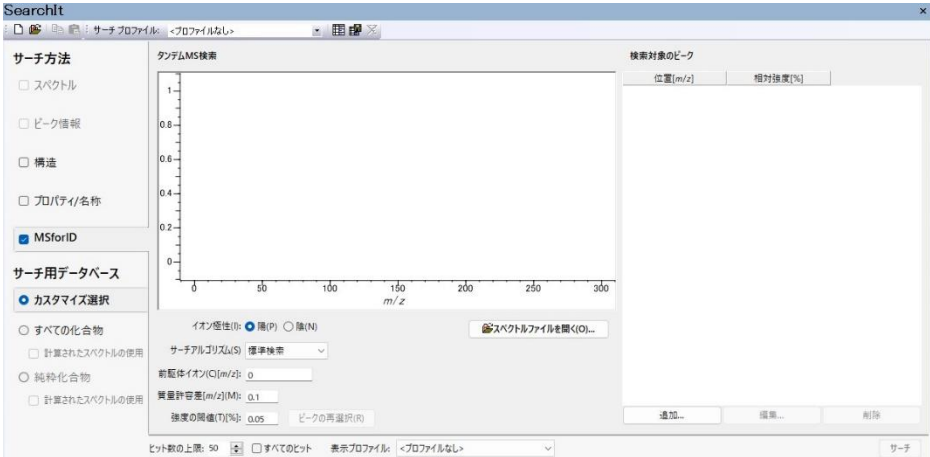
例: MSforID 検索

、SearchIt アプリケーションを使用して、MSforID 検索アルゴリズムを使用して MSn library を実行する方法について説明します。

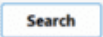
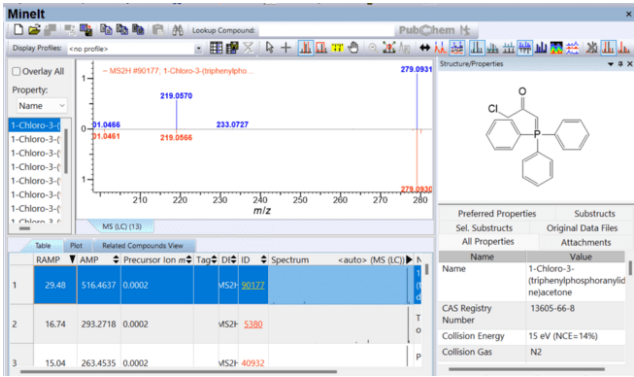

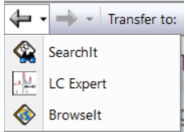
	アクション	結果
1	<p>LC Expert の標準ツールバーにあるオープン RAW ファイル アイコン () を使用して、「C:\Users\Public\Public Documents\Wiley\KnowItAll\Samples\LC-MS\」に移動します。</p> <p>「TESTMIX2_180504_MAS011_06.mzXML」 (C:\Users\Public\Public Documents\Wiley\KnowItAll\Samples\LC-MS\) を開きます。</p>	<p>LC Expert で Chromatogram が開きます:</p> 
2	<p>標準ツールバーにある [MS レベルの表示] ドロップダウンメニューを使用して、「2」を選択します。</p>	<p>[MS レベルを表示] ドロップダウンメニューの値を「2」に変更すると、Chromatogram MS2 スキャンが表示されます。MS レベルパネルを使用して、MS1 レベルと MSn レベルのスペクトル表示を切り替えます。</p> 

	アクション	結果
3	<p>Chromatogram を右クリックし、水平ズームモードを選択します。9分付近の領域でマウスの左ボタンをクリックしてドラッグし、8.93分のピークを拡大します。</p> <p>Chromatogram を左クリックし、選択モードを選択してズームカーソルを非アクティブにします。</p>	<p>Chromatogram は 8.93 分のピークに拡大表示されています。</p> 
4	<p>高いピークがある 8.93 分の Chromatogram を直接左クリックします。</p>  <p>注意: ピークボックスはコンポーネント化された MS1 ピーク用に予約されているため、ピークボックスを選択せず、代わりに Chromatogram を直接クリックしてください。</p>	<p>8.93 分に測定された生の MS2 スキャンが選択され、黒い縦線がアクティブな MS2 スキャンの位置を表示します (前の画像と同じ)。生のスペクトル(黒いフォント) ペインで MS2 スペクトルが選択されていることを確認するには、生のスペクトルのヘッダー情報を確認します。ヘッダー情報は「MS レベル 2 生のスペクトル」と表示されている必要があります。抽出されたスペクトル(青いフォント)は、MS1 コンポーネント化スペクトルのままです。生のスペクトル(黒いフォント)に「MS レベル 1 生のスペクトル」と表示されている場合は、Chromatogram をもう一度クリックして、MS スキャンを MS2 スペクトルに更新します。</p> 

	アクション	結果
5	<p>転送先バー (送り先:) で、 SearchIt ( SearchIt) を選択します。</p>	<p>複数スペクトルのインポートダイアログウィンドウが表示されます。デフォルトでは「MS レベル 2 生スペクトル」オプションが選択されています。</p>  <p>注: このダイアログは、【転送先】 バーを使用して転送する MS スペクトル スキャン (MS1 抽出スペクトルまたは MSn 生スペクトルのいずれか) を指定するために使用されます。</p>
6	<p>複数スペクトルのインポートダイアログウィンドウで、デフォルトの選択「MS レベル 2 生のスペクトル」を保持します。</p> <p>「OK」を選択してください。</p>	<p>SearchIt インポートダイアログ ウィンドウに、2つの異なる検索オプションが表示されます。</p> <ul style="list-style-type: none"> • SearchIt で新しい MSforID 検索タブが開きます。 • 「スペクトル検索」では、代替の検索アルゴリズム (例: コサイン、適応など) を使用します。 

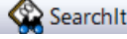
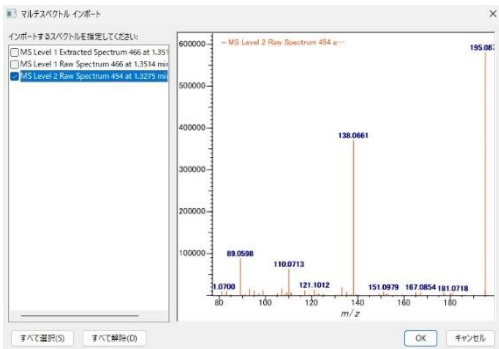

アクション	結果
<p>7 SearchIt ダイアログ ウィンドウで MSforID を選択します。</p> <p>注意:強度しきい値 (%) は増減できます。更新されたしきい値を使用して検索するピークのリストを更新するには、ピークの再選択ボタン () を選択します。三角形の記号 () は、最小ピークの高さを示します。</p>	<p>MS2 生スペクトルは SearchIt の MSforID 検索 ウィンドウで開きます。MSforID 検索 ウィンドウには次の情報が事前に入力されます:</p> <ul style="list-style-type: none"> • イオン極性。これは、生の Chromatogram ファイルに含まれている場合、生のファイル内のイオン極性情報です。 <ul style="list-style-type: none"> ○ この情報が RAW ファイルに含まれていない場合は、デフォルトで正が選択され、反対のラジオ ボタンを選択することで負に更新できます。 • 検索方法は、検索に適用される特定の MSforID アルゴリズムです。最後に使用した検索がメニュー オプションとして選択されます。 <ul style="list-style-type: none"> ○ 標準検索 (デフォルト) ○ 複合検索 ○ 直接検索 • 前駆体イオン (m/z) は、生ファイルに含まれている場合の MS2 スキャンの前駆体イオン情報です。 • 質量許容値 (m/z)パラメータは、MS スペクトル ピークの m/z 偏差の許容値を設定します。 • 強度しきい値 (%)パラメータは、MS スペクトル ピークの最小ピーク高さを設定します。  <p>注:生のスペクトルが MS2 スペクトルとして検出されない場合は、警告ダイアログ ウィンドウにポップアップ警告が表示されます。これは、生のファイルに MS レベル情報が含まれていないこと (例: インポートされた .jdx ファイルなど)、または MS レベルが間違っていること (例: MS レベル = 1) が原因である可能性があります。[確認]をクリックして警告をバイパスし、MS スペクトルをウィンドウにインポートするか、[Cancel] をクリックします。プロセスを停止します。</p>

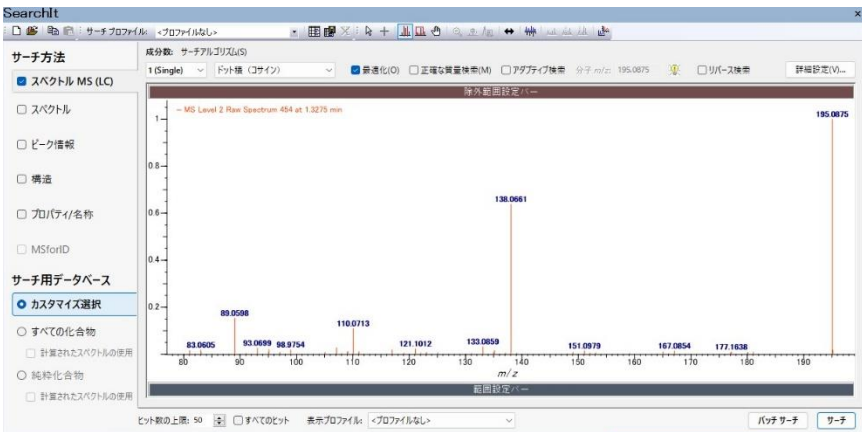

アクション	結果
<p>8 MSforID では 検索 ウィンドウで、質量許容値の値を「0.01" m/z」に変更します。</p>	<p>質量許容度が減少します:</p> <p>質量許容差[m/z](M): 0.01</p> <p>注:質量許容値は計算と最終的な検索結果に大きな影響を与えます。</p>
<p>9 [データベースの検索]タブで、[ユーザー選択]オプションをクリックします。</p> <p>[追加]をクリックし、[ユーザー選択データベース]タブを使用して検索するデータベースを定義します。</p>	<p>データベース選択ダイアログ ウィンドウが表示されます。利用可能な LC-MS データベースは、特定のユーザーライセンスによって異なります。</p> 

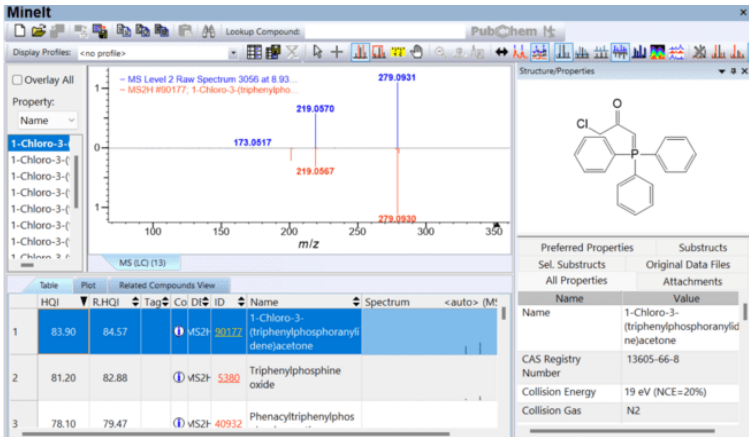
	アクション	結果
10	検索を実行するには、 検索 ボタン () を選択します。	<p>スペクトルクエリに最適な一致が Minelt に表示されます。テーブルには次の列が表示されます:</p> <ul style="list-style-type: none"> • AMP (平均一致確率) は、参照化合物レコードがクエリ スペクトルである可能性がある平均確率です。 • RAMP (相対平均マッチ確率) は、検索結果全体に対する AMP 値。 <ul style="list-style-type: none"> ○ デフォルトでは、検索結果は RAMP 値の減少順に整理されます。 • 前駆体イオンの m/z 差。これは、クエリの前駆体イオンとデータベースレコード間の m/z 差です。  <p>注記: 検索結果テーブルの各行は、化合物レコードのスペクトルのシリーズに対する一致を表し、各化合物レコードは一致結果として 1 回だけ返されます。テーブルでは、各化合物レコードの MS スペクトルは、データベース内に存在する順序を保持します。つまり、シリーズの最初のスペクトルが常に検索結果の最初に表示されます。</p>
11	前のアプリケーションアイコンに移動し、下向きボタン () をクリックします。 LC Expert を選択して、選択したアプリケーションに戻ります。 	LC Expert アプリケーションが開きます。


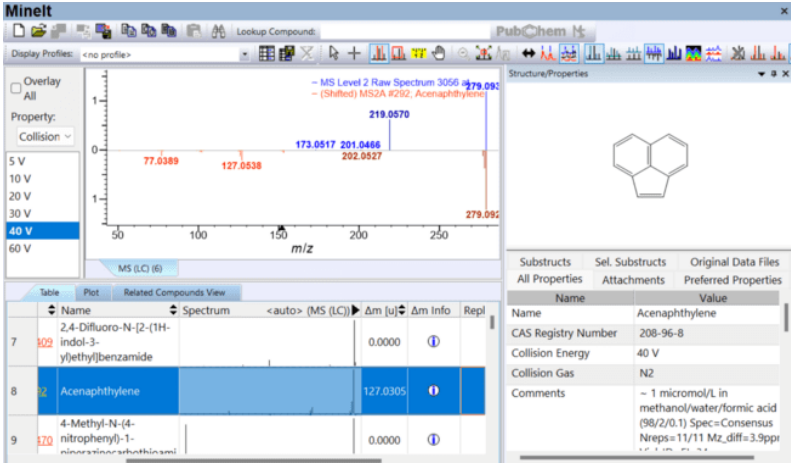
例: Spectrum MSn SearchIt を使用した検索

ⁿライブラリ検索を実行する方法について説明します。

	アクション	結果
12	<p>前のセクションの Chromatogram を続行します。LC Expert で、手順 4 のスクリーンを選択したまま、[転送先] バー(Transfer to:)を使用してスペクトルを SearchIt () に送信します。</p>	<p>複数スペクトルのインポートダイアログウィンドウが表示されます。デフォルトでは、「MS レベル 2 生のスペクトル」オプションが選択されています。</p>  <p>注:このダイアログは、転送先バーを使用してどの MS スペクトル スキャンを転送するか(つまり、MS1 抽出スペクトルまたは MSn 生スペクトルのいずれか)を示すために使用されます。</p>
13	<p>複数スペクトルのインポートダイアログウィンドウで、デフォルトの選択「MS レベル 2 生のスペクトル」を保持します。</p> <p>「OK」を選択してください。</p>	<p>SearchIt インポート ダイアログ ウィンドウが表示され、3 つの異なる検索オプションが表示されます。</p> <ul style="list-style-type: none"> • SearchIt の既存の検索を上書きします。 • SearchIt で新しい検索ウィンドウが開きます。 • 「新しいドキュメントでスペクトル検索を開く」を選択すると、代替の検索アルゴリズム (コサイン、アダプティブなど) が使用されます。 

アクション	結果
<p>14 「スペクトル検索を新しいドキュメントで開く」を選択します。</p>	<p>MS2 生のスペクトルが SearchIt のスペクトル検索ダイアログ ウィンドウで開きます。SearchIt はスペクトル検索タイプが LC-MS であることを認識し、「スペクトル MS (LC)」と表示されます。</p>  <p>スペクトル検索をさらに制御するには:</p> <ul style="list-style-type: none"> • 詳細設定をクリックすると、より多くの検索コントロールを備えたダイアログウィンドウが開きます (例: 精密質量検索のための機器の解像度)。 • 範囲バーを含めると範囲バーを除外すると、スペクトル上の指定された領域を含めたり除外したりできます。
<p>15 「スペクトル MS (LC)」ウィンドウで、「正確な質量検索」の横にあるチェックボックスを選択します。</p>	<p>正確な質量検索が選択されています:</p>  <p>KnowItAll Accurate Mass Search は、検索を実行するときに、スペクトル クエリとデータベース レコードに含まれる高解像度の情報を保持します。</p>

アクション	結果
<p>16 【データベースの検索】タブの【ユーザー選択】オプションをクリックします。</p> <p>検索するデータベースを選択するには、「ユーザー選択データベース」タブを使用します。検索する LC-MS データベースを選択するには、「追加」をクリックします。</p> <p>注:利用可能な LC-MS データベースは、特定のユーザー ライセンスによって異なります。</p>	<p>データベース選択ダイアログ ウィンドウが表示されます。</p> 
<p>17 「検索」をクリックします。</p>	<p>スペクトルクエリに最適な一致が Minelt に表示されます。</p> 

	アクション	結果
18	<p>前のアプリケーション矢印 (←) を使用して SearchIt に戻ります。</p>	<p>以前のクエリが読み込まれた状態で SearchIt アプリケーションが開きます。</p>
19	<p>スペクトル検索設定を変更するには、「スペクトル MS (LC)」をクリックします。</p> <p>「適応検索」チェックボックスを選択し、まだ検出されていない場合は分子の m/z の値として「279.0931」を入力します。</p>	<p>適応検索が選択されています。</p>  <p>適応検索方法を使用すると、クエリ スペクトルとデータベース スペクトル間で利用可能な官能基または分子置換のスペクトル ピークをスキャンして、利用可能なスペクトル空間にない類似の化合物にデータベース ライブラリを拡張できます。</p> <p>注記: 「正確な質量検索」チェックボックスをオフにすると、低解像度データに対して適応検索メソッドが利用できるようになります。</p>
20	<p>「検索」をクリックします。</p>	<p>スペクトルクエリに最適な一致が Minelt に表示されます。</p>  <p>適応型検索の結果については、スペクトル クエリとデータベース レコードに関して次のようになります。</p> <ul style="list-style-type: none"> • Δm 列は、クエリとデータベース化合物間の化合物質量の差を示します。 • Δm 情報列には、クエリ結果を作成するために発生したピークシフトを通知する選択可能な情報アイコン (i) が含まれています。 • 置換列には、既知の場合のグループ置換が表示されます。