

KnowItAll ソフトウェアトレーニング

LC エキスパート

自動 LC-MS 処理および分析

KnowItAll LC Expert を使用して **LC-MS** コンポーネントの自動識別を実行する方法

目的

これらの演習では、KnowItAll LC Expert を使用して、自動および手動ツールを使用して生の LC-MS クロマトグラムを分析する方法を示す。

目的

これらの練習は方法を教える:

- KnowItAll LC Expert を使用してクロマトグラムをピークにデコンボリューションし、さらなる分析を行う
- ターゲットを指定しないデータベース検索を実行する
- 正確な質量によるターゲット解析検索の実行
- 手動ツールを使用して、ユーザー誘導のピーク選択を可能にする

背景

LC - MS クロマトグラムは情報に富む。分析は困難であり、キュレーションされたライブラリは検索に時間がかかる。LC Expert アプリケーションにより、クロマトグラムをピークに自動的にデコンボリューションすることができ、さらに分析して既知および未知のターゲットを検索することができる。LC Expert のユーザーは、KnowItAll を使用してワークフローを合理化するために、社内化合物を使用してユーザーライブラリを作成することが推奨されている。

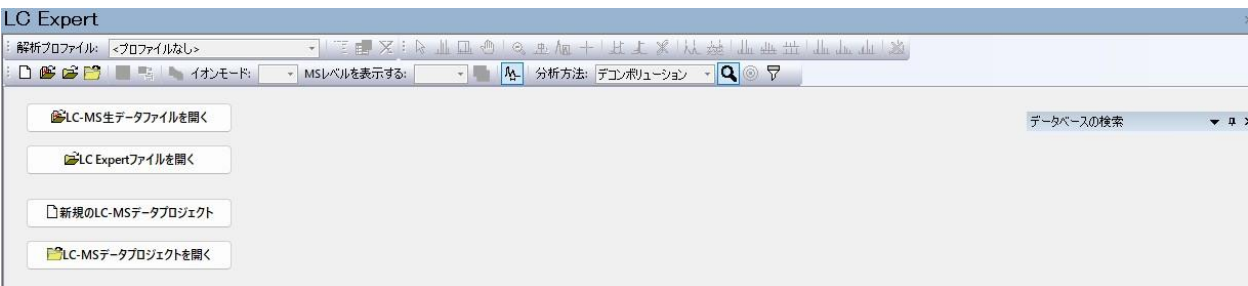
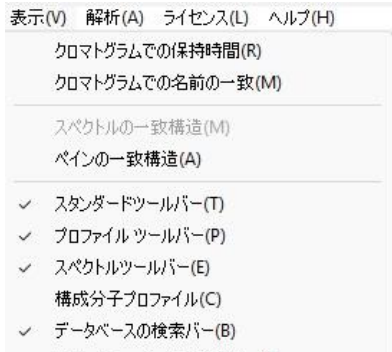
このレッスンで使用するトレーニングファイル

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

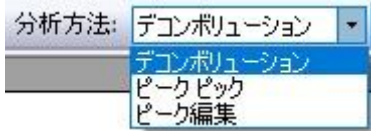
KnowItAll 使用されるアプリケーション

- KnowItAll LC エキスパート
- KnowItAll Minelt (ノウイトオール・マイネイット)
- KnowItAll ReportIt (ノウイトオール・レポー

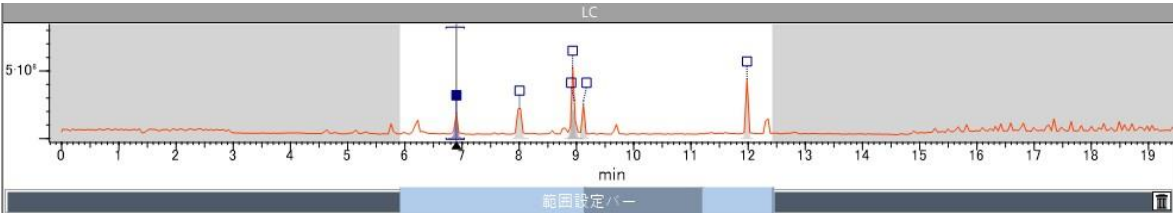
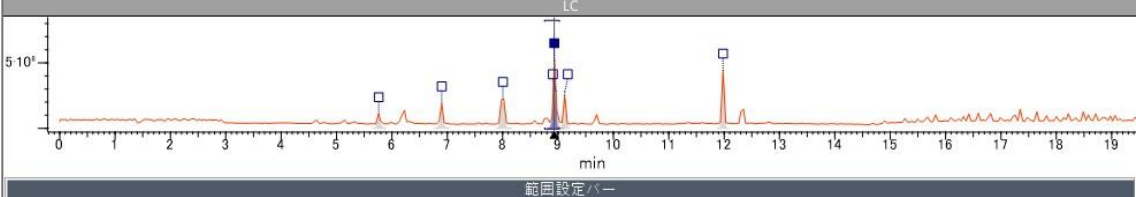
例：LC Expert でクロマトグラムを開く

アクション	結果
1 通常、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 エキスパートアプリケーションを開く。	LC Expert アプリケーションが表示される：  注：LC エキスパートは、アプリケーションへのアクセスを持つために、現在のライセンスにしなければならない。
2 [表示 (View)] パネルに移動し、[データベース検索バー (Database Search Bar)] がチェックマーク付きで選択されていることを確認する。チェックマークが付いていない場合は、下でハイライト表示されている行をクリックして選択する。 	前の手順で示したように、データベース検索バーはアプリケーション内で、通常は画面の右側に表示される。注：パネルの青色のタイトルバーをクリックすることで、ドッキングを解除して移動することができる。

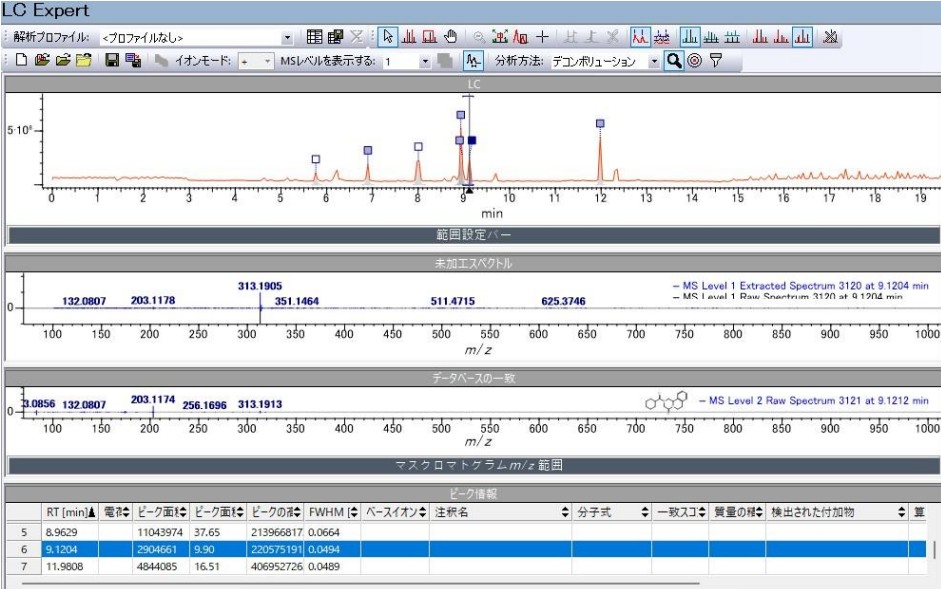
アクション	結果
3 Open Raw LC-MS Data File ボタンをクリックする。「C:\Users\Public\Public Documents\Wiley\KnowItAll\Samples\LC-MS\」に移動する。 「TESTMIX2_180504_MAS011_06.mzXML」を選択してアプリケーションで開く。	LC-MS ファイルが LC エキスパート アプリケーションで開く。  The screenshot shows the LC Expert application window. The top panel displays a chromatogram with peaks labeled with retention times. The bottom panel shows a mass spectrum with peaks labeled with m/z values. The application title bar reads 'LC Expert'.
4 LC Expert アプリケーションに表示されるさまざまなパネルを調べる。	- 検出されたイオン極性は、標準ツールバーのイオンモードパネル（イオンモード：+ -）インセット A）に表示される。 - 上部パネル（LC インセット B）には、各ピークのピークボックスを含むクロマトグラムが表示される。 2つ目のパネルは、Raw Spectrum パネル（未加工スペクトル、インセット C）で、抽出されたスペクトルと RAW スペクトルが表示される。 3番目のパネルは Database Match パネル（データベースの一致 のインセット D）で、選択したピークの検索マッチ MS/MS スペクトルを表示する。 - 下のパネルは ピーク表 ピーク情報、インセット E）で、クロマトグラム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。表の行には、各ピークに関する情報が含まれている。 データベース検索バー（データベースの検索 のインセット F）は右側にあり、ピークのタンデム MS 検索結果を表示する。 注：データベース検索マッチングについては、次のセクションで詳細に説明する。

	アクション	結果
5	標準ツールバーの解析方法ドロップダウンメニューがデコンボリューションモードに設定されていることを確認する。  注：LC エキスパートは最後に適用された方法を保持する。	解析方法 (Analysis Method) が デコンボリューション (Deconvolution) : 分析方法: デコンボリューション ドロップダウンメニューでは、3つの異なる解析方法オプションを使用できる。デコンボリューション、ピークピッキング、および手動。 - デコンボリューション：関連した MS スキャンは自動的にピークにグループ化される。ピークの平均 MS1 スキャンは、[Raw Spectrum] ペインに [MS Level 1 Extracted Spectrum] と表示される。ピークテーブルにはピーク情報が入力される（ピーク面積、ピーク面積パーセント[%]など）。 - ピークピッキング：ピークの特性化には単一の時間点が自動的に使用され、Peak Area および Peak Area [%] の列は「-」記号に置き換えられる。この方法を使用すると、Raw Spectrum は抽出された Spectrum と等価である。 - 手動によるピーク選択は、ユーザが手動で行うことが可能であり、以下のセクションで説明する。
6	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する。	デコンボリューション設定バーが開く。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インストゥルメントの解像度を調整することができる。 

	アクション	結果
7	インストルメント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、インストルメント解像度パネルの「詳細」の横にあるチェックボックスをクリックする。 	[Advanced Resolution Settings](詳細解像度設定)ポップアップが表示される。 
8	ポップアップの[キャンセル]をクリックしてダイアログを閉じる。	ポップアップが閉じる。
9	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チェックボックスの選択を解除する。 	解像度、感度、ピーク形状の要件が調整に使用できるようになる。スライダ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る。デコンボリューション設定を変更すると、クロマトグラムのピークテーブルとピークボックスのピーク数が変更される。 

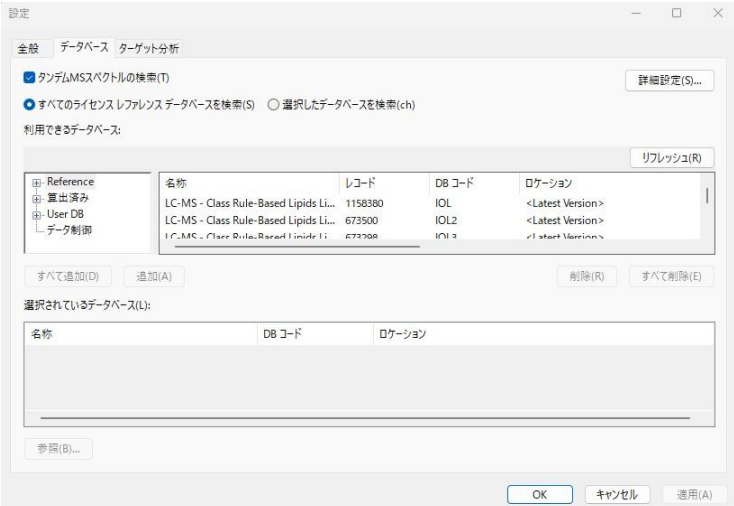
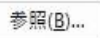
アクション	結果
10 [自動 (Automatic)] の横にあるチェックボックスをクリックして再選択する。 デコンボリューション設定 (Deconvolution Settings) パネルの終了アイコン (✕) を選択して、パネルを非表示にする。	アプリケーションがピークの自動デコンボリューションを再開する。デコンボリューション設定 (Deconvolution Settings) パネルが非表示になる。
11 [範囲バーを含む (Include Range Bar)] を左マウスボタンでクリックし、左右にドラッグして解析する領域を選択する。 注：これは、マウスの右ボタンで Include Range Bar をクリックすることによっても達成することができる。進行中のポップアップの[包含範囲]ダイアログで、[追加]をクリックする。ローレンジの下にスペースが表示され、手動で値を入力する。手動で値を入力するには、ハイレンジの下で同じ操作を行う。[OK]をクリックする。	Include Range Bar は、クロマトグラム内の分析領域を分離するために使用できる。これらの領域 (クロマトグラムに灰色で表示) 以外では、デコンボリューションや追加の解析は行われていない。 
12 インクルードレンジバーから分離された領域を削除するには、インクルードレンジバーの右側にあるゴミ箱アイコン (🗑️) をクリックする。	分離された領域はクロマトグラムから削除され、完全なクロマトグラフィー領域はデコンボリューションされる。 

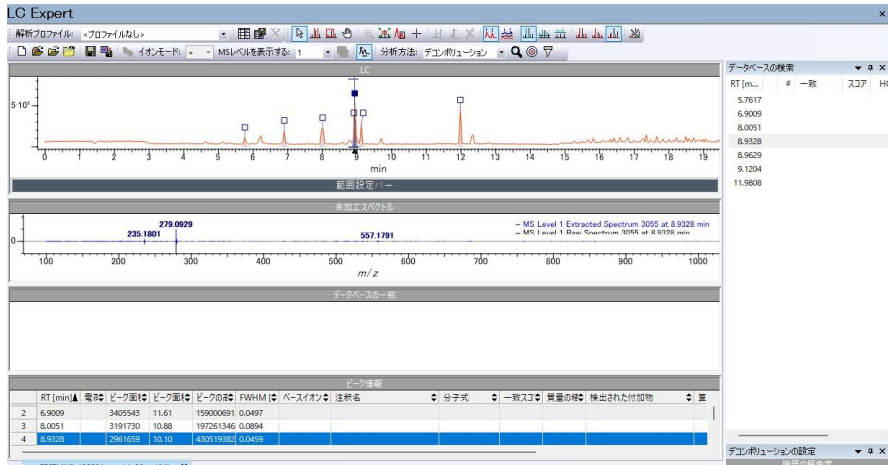
アクション	結果																																																								
13 最も高いピーク（8.93 分）のピークボックス (□)をクリックする。	8.93 min のピークのピーク選択時： - 選択を確認するためにピークボックスが網掛け表示される。 - ピーク面積は青色で色分けされ、デコンボリューションされたピーク面積を示す。 - ピークの下にブラケットがあり、ピークの保持時間領域を視覚化する。 - Peaks Table の関連する行が強調表示される。 LC Expert 解析プロファイル: <プロファイルなし> イオンモード: MSレベルを表示する: 1 分析方法: デコンボリューション 5.10⁶ min 範囲設定バー 未加工スペクトル 235.1801 279.0929 557.1791 — MS Level 1 Extracted Spectrum 3055 at 8.9326 min — MS Level 1 Raw Spectrum 3055 at 8.9326 min m/z データベースの一覧 ピーク情報 <table><thead><tr><th></th><th>RT [min]</th><th>電圧</th><th>ピーク面積</th><th>ピーク高さ</th><th>ピークの幅</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>質量の幅</th><th>検出された付加物</th><th>量</th></tr></thead><tbody><tr><td>3</td><td>8.0051</td><td></td><td>3191730</td><td>10.88</td><td>197261346</td><td>0.0894</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td>4</td><td>8.9326</td><td></td><td>2961659</td><td>10.10</td><td>430519382</td><td>0.0459</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td>5</td><td>8.9629</td><td></td><td>11043974</td><td>37.65</td><td>213966817</td><td>0.0664</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	ピークの幅	FWHM	ベースイオン	注釈名	分子式	一致スコア	質量の幅	検出された付加物	量	3	8.0051		3191730	10.88	197261346	0.0894								4	8.9326		2961659	10.10	430519382	0.0459								5	8.9629		11043974	37.65	213966817	0.0664							
	RT [min]	電圧	ピーク面積	ピーク高さ	ピークの幅	FWHM	ベースイオン	注釈名	分子式	一致スコア	質量の幅	検出された付加物	量																																												
3	8.0051		3191730	10.88	197261346	0.0894																																																			
4	8.9326		2961659	10.10	430519382	0.0459																																																			
5	8.9629		11043974	37.65	213966817	0.0664																																																			

アクション	結果
14 ピークテーブルの別の行（行 21 など）をクリックする。	クロマトグラム内の関連するピークが選択される。 - ピークボックスは、より暗い色で影が付けられている。 - ピーク領域は陰影付き。 - 保持時間領域はブラケットで示される。  注：ピークの成分がユーザーによって識別される場合は、Annotated Name カラムの関連セルをダブルクリックして、その名前を Peaks Table に手動で入力することができる。
15 ファイルを保存するには、ファイル> LC エキスパートファイルを保存を選択する。	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る。  TESTMIX2_180504_MAS011_06.lca 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、将来処理を続行したりすることができる。

例：ターゲットを指定しない MS2 検索を実行する

このセクションでは、MS/MS 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する。

	アクション	結果
1	ステップ 2 からのクロマトグラムファイルを引き続き使用する。LC エキスパートで、ファイル > 設定を選択する。表示される[設定]ポップアップで、[データベース]タブを選択する。 Search Tandem MS Spectra チェックボックスが選択されていることを確認する。 ☒ タンデムMSスペクトルの検索(T)	[設定]ダイアログが開く。[データベース]メニューに検索設定が表示される。  下のパネルに表示される検索に使用でき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る。
2	検索に使用できるすべてのデータベースを選択するには、[すべてのライセンス済みリファレンスデータベースを検索 (Search All Licensed Reference Databases)] のラジオボタンを選択する。 あるいは、選択したデータベースを検索 (Search Selected Databases) のラジオボタンを使用して、タイトルを個別にダブルクリックして目的のライブラリを追加することで、選択したデータベースを検索することができる。	[すべてのライセンス済みリファレンスデータベースを検索 (Search All Licensed Reference Databases)] ラジオボタンを選択すると、[検索用に選択 (Selected for Searching)] ウィンドウが使用できなくなる。[選択したデータベースを検索 (Search Selected Databases)] ラジオボタンを選択すると、[検索用に選択 (Selected for Searching)] ウィンドウが使用可能になる。 注：利用可能なデータベースはユーザーのライセンスに依存する。ユーザデータベースを検索用に追加するには、[Select by Browsing] ボタン () を選択し、目的のデータベースファイル (.sdbx) に移動する。
	アクション	結果

3 [適用 (Apply)] をクリックしてから [OK] をクリックし、[設定 (Settings)] ダイアログで行った変更を保存する。 注：データベース検索がソフトウェア内のバックグラウンドで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() の選択を解除するか、ステップ 1 からデータベース検索設定をオフにする。	設定ダイアログが閉じている。右側のデータベース検索 (Database Search) パネルで： - デコンボリューションされたピークは、選択したライブラリを使用して検索された。 - データベース検索パネルのピーク保持時間(RT[min])がピークテーブルのピークに合わせて調整されている。 - データベース検索パネルの行をクリックすると、ピーク表の関連する行とクロマトグラムのピークが強調表示される。 - 各ピーク保持時間のトップヒットとして、MS2 スペクトルの最適な検索一致が表示される。 このソフトウェアは、Dot-Product (コサイン) 検索を実行して、MS/MS スペクトルを適用されたデータベースと照合する。デフォルト設定を使用して、データベース検索結果は - クロマトグラム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る。 - 前駆体イオン m/z。  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、設定されたユーザー設定と、検索に使用できる適用されたライセンスデータベースによって異なる。
---	--

	アクション	結果
4	[ファイル]>[設定]の順に選択する。起動した設定ダイアログで、一般タブのままにする。[Filter Database Search Results by precursor m/z]チェックボックスが選択され、値が「5 ppm」に設定されていることを確認する。	起動された[設定 (Settings)] ダイアログには、コサイン類似性検索の実行に関する設定がある。 - Match Score Method は、HQI と R.HQI のどちらを優先するかを定義する。 - デフォルトでは、R.HQI は LC Expert でより重み付けされる。 - 採点方法はドロップダウンメニューを使用して変更できる。

- 正確な質量検索における機器分解能は、データベーススペクトルに対する MS/MS 検索マッチングの精度を制御する。
- **Filter Database Search Results by precursor m/z** の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はクエリースペクトルのプリカーサー m/z でフィルタされる。
 - 選択を解除すると、クエリ結果はプリカーサー m/z でフィルタされず、すべての m/z 値が受け入れられる。
- **Set minimum relative peak intensity for query peaks** (クエリピークの最小相対ピーク強度を設定する) のチェックボックスは、MS/MS マッチングのユーザーデータに対して定義された高さしきい値よりも低いピークをフィルタリングする。しきい値を下回るピークは、データベーススペクトルと一致しない。
- **Precursor Ion Tolerance** 前駆イオン m/z のマッチングトレランス。

設定

全般 データベース ターゲット分析

最低マッチスコア(M): 50 %

スコアマッチ方法(S): 加重10%HQI, 90%逆HQI

ビット数(H): 10

データベース検索アルゴリズム: ドット積 (コサイン)

正確な質量検索における機器の分解能: 0.001 m/z

☒ 重なるスペクトルを除外する(D)

☒ 重なる化合物を除外する(R)

☒ クエリピークの相対ピーク強度の最小値を設定: 0 %

表示するNumber of Component Boxes to Show: ☒ すべて(A) ☐

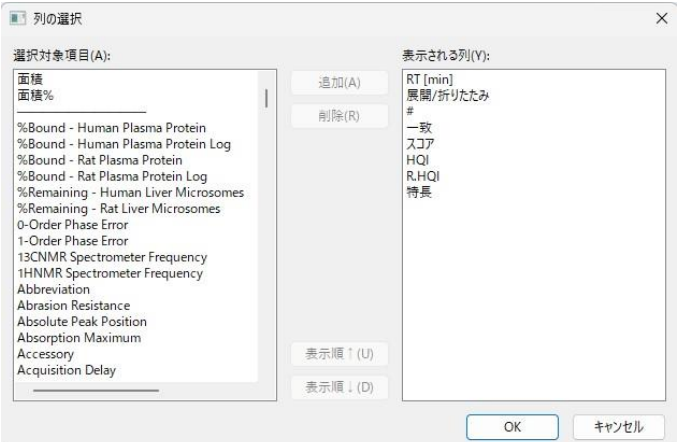
☐ 以下の相対強度を持つイオンクロマトグラムをフィルタリングする(F): 0 %

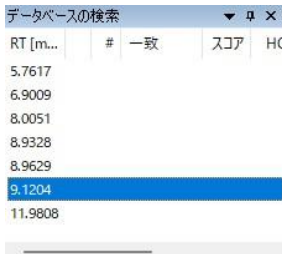
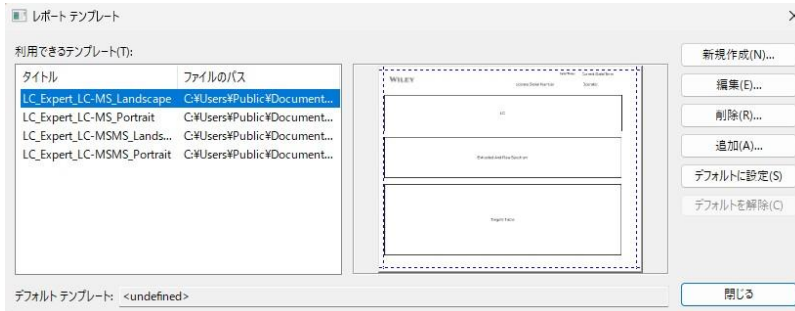
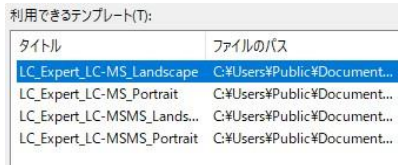
☒ 前駆体m/z別のデータベース検索結果のフィルタリング(F)

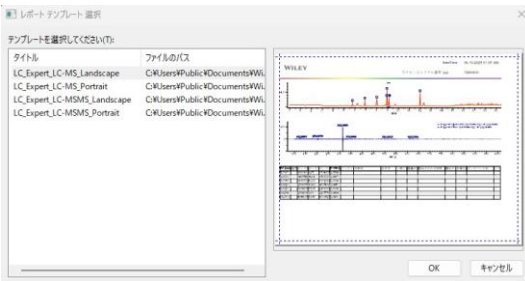
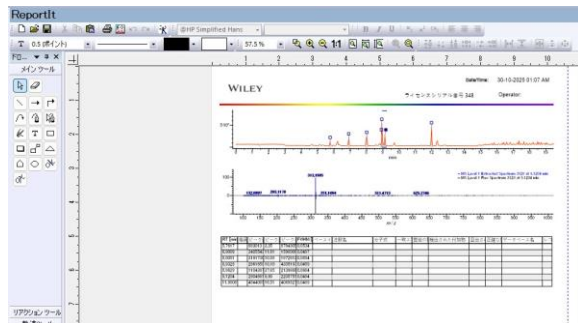
前駆体イオンの許容範囲: 5 ppm

デフォルト設定の復元

OK キャンセル 適用(A)

	アクション	結果
5	【設定ダイアログ (Settings Dialog)】ウィンドウで[OK]をクリックしてダイアログを閉じる。次に、データベース検索パネルで、検索一致の横にある展開アイコン (+) をクリックする。	上位 10 件の最適な一致が表示される (検索設定に従って 10 件未満のスペクトルが一致すると、10 件未満の一致が生成される)。特定の一致は、設定された検索設定と適用されたライセンスデータベースに依存する。  注：メモ 列の目的の行の横にあるセルをダブルクリックして、メモを追加する。
6	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を編集 (Edit Component Table Columns) を選択する。	【列の選択 (Column Selection)】ダイアログウィンドウが起動される。 

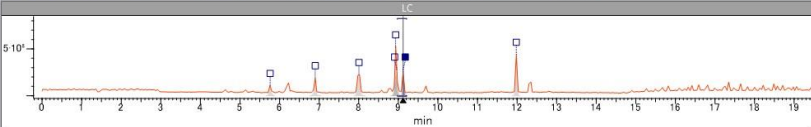
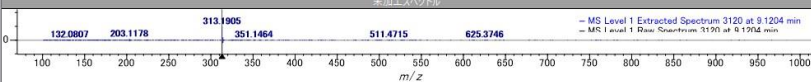
	アクション	結果
7	[Available Columns]リストで、[CAS Registry Number]などの列を選択する。[使用可能 (Available)]列をクリックして、[追加 (Add)] [OK]をクリックして続行する。	列がリストの下部にある表示された列 (Displayed Columns) セルに追加される。[OK]をクリックすると、ダイアログウィンドウが閉じられる。新しい列がデータベース検索テーブルに列として追加される。  データベース検索テーブルに列を追加して、検索結果をスキャンするときに役立つメタデータを追加できる。CTRL+Fを使用すると、一致結果をすばやく検索することができる。
8	[ファイル (File)]>[レポートテンプレートの編集 (Edit Report Templates)]を選択して、レポートテンプレートする。	[レポートテンプレートのダイアログ]ウィンドウが起動される。ダイアログにテンプレートが既にある場合は、次のステップをスキップする。 
9	[追加 (Add)]をクリックし、 “C:\Users\Public\Documents\Wiley\ KnowItAll\Report Templates\LC Expert” . フォルダ内の 5 つのレポートテンプレートをすべて 選択する。 開く (Open) をクリックする。	レポートテンプレートが[使用可能なテンプレート (Available Templates)]ボックスに追加される。 

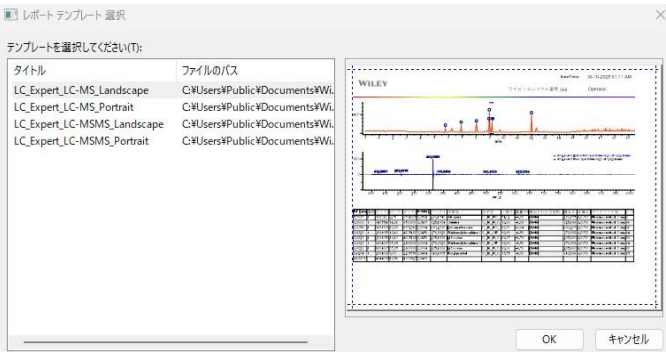
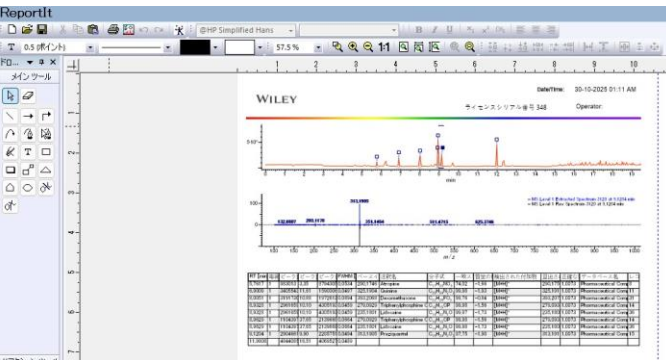
	アクション	結果
10	ダイアログウィンドウで閉じる (Close) をクリックする。 Transfer To (送り先) バーを使用して ReportIt (ReportIt) をクリックする。	選択したレポートテンプレートでアクティブなクロマトグラムがプレビューされた状態で、[レポートテンプレートの選択 (Select a Report Template)] ダイアログウィンドウが起動する。 
11	[LC_Expert_LC-MSMS_Landscape]テンプレートをクリックして選択する。次にダイアログウィンドウの OK ボタン(OK)をクリックする。	レポートが生成され、データベース検索テーブルから MS/MS 検索情報が表示される。 
12	LC エキスパートに戻るには、戻る矢印アイコン(戻る矢印アイコン)を使用する。	LC エキスパートがアクティブである。

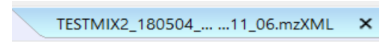
例：ターゲット分析の検索

本項では、クロマトグラムファイル内でターゲット分析検索を実行する方法について説明する。LC Expert の **Targeted Analysis** ワークフローは、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クロマトグラムで検索する。

	アクション	結果
1	前のセクションのクロマトグラムに進む。 Targeted Analysis アイコン  をクリックするか、Analysis > Targeted Analysis を選択する。「C:\Users\Public\Public Documents\Wiley\KnowItAll\Samples\LC-MS\」に移動する。「Pharmaceutical Compounds.sdbx」を選択し、「開く」をクリックする。ターゲット検索結果ポップアップを読んだ後、OK をクリックしてポップアップウィンドウを閉じる。 注：sdbx ファイルは、クロマトグラム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する。Transfer to bar を使用して ChemWindow から LC Expert に構造式を移すことで、個々の化合物を検索することもできる。	Targets ボタンを選択すると、File Explorer ウィンドウが開く。sdbx ファイルを開いた後： - Target Search Results ポップアップには、クロマトグラムで検出された化合物の数が表示される。 - 検出された化合物情報でピークテーブルが更新される。 - Annotated Name は、sdbx ファイルの複合レコード名である。 - ベースイオン[m/z]は MS1 抽出スペクトルからのベースイオンである。 - 分子式は同定された化合物（すなわち標的）の化学式を与える。 - Match Score 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たマッチスコアの計算である。 - 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た質量精度計算である。 - 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ある。 - 計算質量(Calculated Mass)は、検出された付加物を持つターゲットの正確な質量である。 - Database Name 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。 - 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 ファイルの特定のレコード ID である。

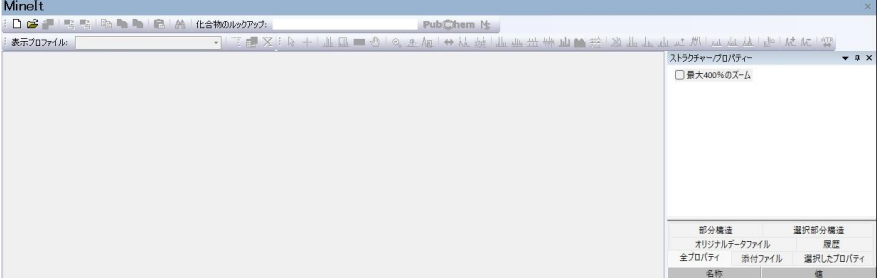
	アクション	結果																																																																																								
2	ピークテーブルは、標準ツールバーにあるフィルタアイコン()を選択/選択解除することでフィルタリング/フィルタリング解除できる。	フィルタが選択された場合： - ピークテーブルでは、検出されたターゲットがない行が非表示になる。 - クロマトグラム上のピークボックスは、ピーク表に表示されている行に一致するようにフィルタ処理される。 - データベース検索テーブルには、ピークテーブルに表示されているピークの一致のみが表示される。 LC Expert 解析プロファイル: <プロファイルなし> イオンモード: MSレベルを表示する: 1 分析手法: デモポリュション  範囲設定バー 追加エクストル MS Level 1 Extracted Spectrum 3120 at 9.1204 min MS Level 1 Raw Scan from 3120 at 9.1204 min  データベースの一覧 ピーク情報 <table><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>ベースイオン</th><th>名称</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</th></tr></thead><tbody><tr><td>6.9629</td><td>1</td><td>11043974</td><td>37.65</td><td>213966817</td><td>0.0664</td><td>Triphenylphosphine Oxide</td><td>C₁₈H₁₅OP</td><td>99.98</td><td>-1.56</td><td>[M+H]⁺</td><td>27</td></tr><tr><td>7.9629</td><td>1</td><td>11043974</td><td>37.65</td><td>213966817</td><td>0.0664</td><td>Lidocaine</td><td>C₁₄H₂₁N₃O</td><td>99.98</td><td>-1.73</td><td>[M+H]⁺</td><td>23</td></tr><tr><td>8.9629</td><td>1</td><td>2904661</td><td>9.90</td><td>220575191</td><td>0.0494</td><td>Prasquantel</td><td>C₁₈H₂₁N₃O₂</td><td>97.75</td><td>-1.90</td><td>[M+H]⁺</td><td>31</td></tr></tbody></table> データベースの検索 <table><thead><tr><th>RT (min)</th><th>#</th><th>一致</th><th>スコア</th><th>HC</th></tr></thead><tbody><tr><td>5.7617</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td>6.9009</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td>8.0051</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td>8.9328</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td>8.9629</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td>9.1204</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td>11.9808</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr></tbody></table> デモポリュションの設定 結果の解凍度 ☐ 高度な検索 デモポリュション 参照イオン (RT: 313.1905 ~ 235.106) パラメータ (P): 選択イオン: 313.1905 エネルギー: 82010.8036 率: none ☐ 自動検索 (A) 分解能 (R): 50 感度 (S): 50	RT (min)	電圧	ピーク面積	ピーク高さ	FWHM	ベースイオン	名称	分子式	一致スコア	質量の差	検出された付加物	算出	6.9629	1	11043974	37.65	213966817	0.0664	Triphenylphosphine Oxide	C ₁₈ H ₁₅ OP	99.98	-1.56	[M+H] ⁺	27	7.9629	1	11043974	37.65	213966817	0.0664	Lidocaine	C ₁₄ H ₂₁ N ₃ O	99.98	-1.73	[M+H] ⁺	23	8.9629	1	2904661	9.90	220575191	0.0494	Prasquantel	C ₁₈ H ₂₁ N ₃ O ₂	97.75	-1.90	[M+H] ⁺	31	RT (min)	#	一致	スコア	HC	5.7617					6.9009					8.0051					8.9328					8.9629					9.1204					11.9808				
RT (min)	電圧	ピーク面積	ピーク高さ	FWHM	ベースイオン	名称	分子式	一致スコア	質量の差	検出された付加物	算出																																																																															
6.9629	1	11043974	37.65	213966817	0.0664	Triphenylphosphine Oxide	C ₁₈ H ₁₅ OP	99.98	-1.56	[M+H] ⁺	27																																																																															
7.9629	1	11043974	37.65	213966817	0.0664	Lidocaine	C ₁₄ H ₂₁ N ₃ O	99.98	-1.73	[M+H] ⁺	23																																																																															
8.9629	1	2904661	9.90	220575191	0.0494	Prasquantel	C ₁₈ H ₂₁ N ₃ O ₂	97.75	-1.90	[M+H] ⁺	31																																																																															
RT (min)	#	一致	スコア	HC																																																																																						
5.7617																																																																																										
6.9009																																																																																										
8.0051																																																																																										
8.9328																																																																																										
8.9629																																																																																										
9.1204																																																																																										
11.9808																																																																																										

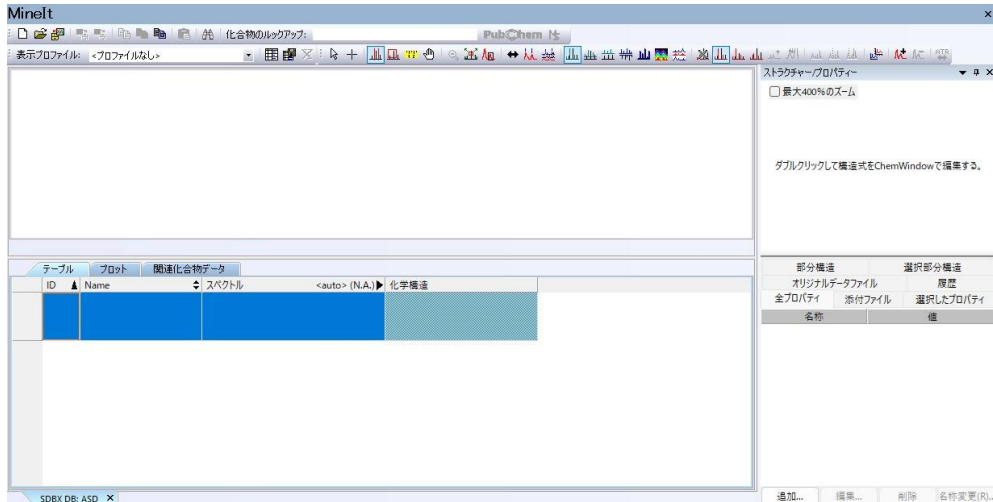
	アクション	結果
3	Transfer To ( 送り先:) バーを選択して ReportIt ( ReportIt) に転送する。	[レポートテンプレートの選択 (Select a Report Template)]ダイアログウィンドウが起動される。 
4	Select a Report Template Dialog ウィンドウで LC_Expert_LC-MS_Landscape を選択する。[OK] をクリックする。	レポートが生成され、ピークテーブルからの正確な質量情報が表示される。  注：クロマトグラムのアクティブな表示はレポートに保持される（フィルタ済みクロマトグラムとフィルタなしのクロマトグラムおよび表など）。

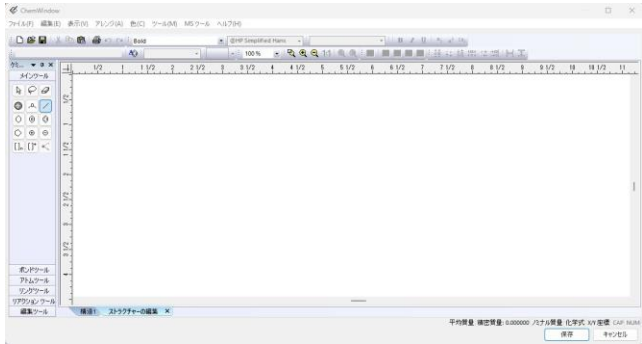
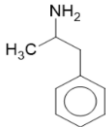
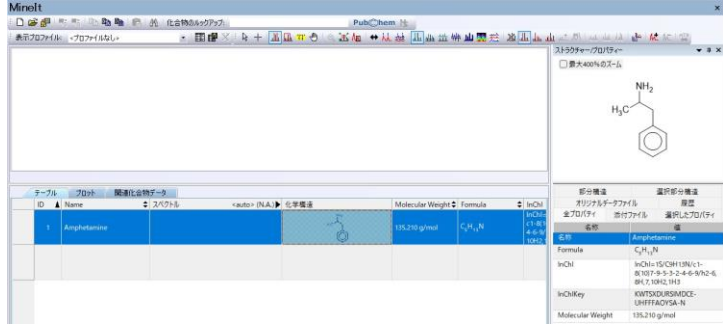
	アクション	結果																																																																																																																																												
5	LC エキスパートに戻るには、戻る矢印アイコン()を使用する。	LC エキスパートがアクティブである。																																																																																																																																												
6	ピークテーブルは、テーブル上で直接右クリックし、 Edit Column Display を選択することで修正できる。 キャンセルをクリックしてダイアログウィンドウを閉じる。	列を非表示にして順序を変更できる列選択ダイアログウィンドウが起動される。 																																																																																																																																												
7	ピークテーブルをドキュメントにコピーするには、テーブルを右クリックして[クリップボードにコピー (Copy to Clipboard)]を選択する。	テーブルがドキュメントにコピーされる。 <table><thead><tr><th></th><th>RT [min]</th><th>電流</th><th>ピーク面積</th><th>ピーク面積%</th><th>ピークの幅</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>質量の幅</th><th>検出された付加物</th><th>算出さ</th></tr></thead><tbody><tr><td>1</td><td>5.7617</td><td>1</td><td>983013</td><td>3.35</td><td>87943057.4</td><td>0.0534</td><td>290.1746</td><td>Atropine</td><td>C₁₇H₂₃NO₃</td><td>74.02</td><td>-1.66</td><td>[M+H]⁺</td><td>290.17</td></tr><tr><td>2</td><td>6.9009</td><td>1</td><td>3405543</td><td>11.61</td><td>159000691</td><td>0.0497</td><td>325.1904</td><td>Quinine</td><td>C₂₀H₂₄N₂O₂</td><td>99.98</td><td>-1.93</td><td>[M+H]⁺</td><td>325.19</td></tr><tr><td>3</td><td>8.0051</td><td>1</td><td>3191730</td><td>10.88</td><td>197261346</td><td>0.0894</td><td>393.2068</td><td>Dexamethasone</td><td>C₂₂H₂₈FO₅</td><td>99.76</td><td>-0.84</td><td>[M+H]⁺</td><td>393.20</td></tr><tr><td>4</td><td>8.9328</td><td>1</td><td>2961659</td><td>10.10</td><td>430519382</td><td>0.0459</td><td>279.0929</td><td>Triphenylphosphine Oxide</td><td>C₁₈H₁₅OP</td><td>99.98</td><td>-1.56</td><td>[M+H]⁺</td><td>279.09</td></tr><tr><td>5</td><td>8.9328</td><td>1</td><td>2961659</td><td>10.10</td><td>430519382</td><td>0.0459</td><td>235.1801</td><td>Lidocaine</td><td>C₁₄H₂₂N₂O</td><td>99.97</td><td>-1.73</td><td>[M+H]⁺</td><td>235.18</td></tr><tr><td>6</td><td>8.9629</td><td>1</td><td>11043974</td><td>37.65</td><td>213966817</td><td>0.0664</td><td>279.0929</td><td>Triphenylphosphine Oxide</td><td>C₁₈H₁₅OP</td><td>99.98</td><td>-1.56</td><td>[M+H]⁺</td><td>279.09</td></tr><tr><td>7</td><td>8.9629</td><td>1</td><td>11043974</td><td>37.65</td><td>213966817</td><td>0.0664</td><td>235.1801</td><td>Lidocaine</td><td>C₁₄H₂₂N₂O</td><td>99.98</td><td>-1.73</td><td>[M+H]⁺</td><td>235.18</td></tr><tr><td>8</td><td>9.1204</td><td>1</td><td>2904661</td><td>9.90</td><td>220575191</td><td>0.0494</td><td>313.1905</td><td>Praziquantel</td><td>C₁₈H₂₄N₂O₂</td><td>97.75</td><td>-1.90</td><td>[M+H]⁺</td><td>313.19</td></tr><tr><td>9</td><td>11.9808</td><td></td><td>4844085</td><td>16.51</td><td>406952726</td><td>0.0489</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr></tbody></table>		RT [min]	電流	ピーク面積	ピーク面積%	ピークの幅	FWHM	ベースイオン	注釈名	分子式	一致スコア	質量の幅	検出された付加物	算出さ	1	5.7617	1	983013	3.35	87943057.4	0.0534	290.1746	Atropine	C ₁₇ H ₂₃ NO ₃	74.02	-1.66	[M+H] ⁺	290.17	2	6.9009	1	3405543	11.61	159000691	0.0497	325.1904	Quinine	C ₂₀ H ₂₄ N ₂ O ₂	99.98	-1.93	[M+H] ⁺	325.19	3	8.0051	1	3191730	10.88	197261346	0.0894	393.2068	Dexamethasone	C ₂₂ H ₂₈ FO ₅	99.76	-0.84	[M+H] ⁺	393.20	4	8.9328	1	2961659	10.10	430519382	0.0459	279.0929	Triphenylphosphine Oxide	C ₁₈ H ₁₅ OP	99.98	-1.56	[M+H] ⁺	279.09	5	8.9328	1	2961659	10.10	430519382	0.0459	235.1801	Lidocaine	C ₁₄ H ₂₂ N ₂ O	99.97	-1.73	[M+H] ⁺	235.18	6	8.9629	1	11043974	37.65	213966817	0.0664	279.0929	Triphenylphosphine Oxide	C ₁₈ H ₁₅ OP	99.98	-1.56	[M+H] ⁺	279.09	7	8.9629	1	11043974	37.65	213966817	0.0664	235.1801	Lidocaine	C ₁₄ H ₂₂ N ₂ O	99.98	-1.73	[M+H] ⁺	235.18	8	9.1204	1	2904661	9.90	220575191	0.0494	313.1905	Praziquantel	C ₁₈ H ₂₄ N ₂ O ₂	97.75	-1.90	[M+H] ⁺	313.19	9	11.9808		4844085	16.51	406952726	0.0489							
	RT [min]	電流	ピーク面積	ピーク面積%	ピークの幅	FWHM	ベースイオン	注釈名	分子式	一致スコア	質量の幅	検出された付加物	算出さ																																																																																																																																	
1	5.7617	1	983013	3.35	87943057.4	0.0534	290.1746	Atropine	C ₁₇ H ₂₃ NO ₃	74.02	-1.66	[M+H] ⁺	290.17																																																																																																																																	
2	6.9009	1	3405543	11.61	159000691	0.0497	325.1904	Quinine	C ₂₀ H ₂₄ N ₂ O ₂	99.98	-1.93	[M+H] ⁺	325.19																																																																																																																																	
3	8.0051	1	3191730	10.88	197261346	0.0894	393.2068	Dexamethasone	C ₂₂ H ₂₈ FO ₅	99.76	-0.84	[M+H] ⁺	393.20																																																																																																																																	
4	8.9328	1	2961659	10.10	430519382	0.0459	279.0929	Triphenylphosphine Oxide	C ₁₈ H ₁₅ OP	99.98	-1.56	[M+H] ⁺	279.09																																																																																																																																	
5	8.9328	1	2961659	10.10	430519382	0.0459	235.1801	Lidocaine	C ₁₄ H ₂₂ N ₂ O	99.97	-1.73	[M+H] ⁺	235.18																																																																																																																																	
6	8.9629	1	11043974	37.65	213966817	0.0664	279.0929	Triphenylphosphine Oxide	C ₁₈ H ₁₅ OP	99.98	-1.56	[M+H] ⁺	279.09																																																																																																																																	
7	8.9629	1	11043974	37.65	213966817	0.0664	235.1801	Lidocaine	C ₁₄ H ₂₂ N ₂ O	99.98	-1.73	[M+H] ⁺	235.18																																																																																																																																	
8	9.1204	1	2904661	9.90	220575191	0.0494	313.1905	Praziquantel	C ₁₈ H ₂₄ N ₂ O ₂	97.75	-1.90	[M+H] ⁺	313.19																																																																																																																																	
9	11.9808		4844085	16.51	406952726	0.0489																																																																																																																																								
8	LC Expert で、下部タブの X アイコン()をクリックしてクロマトグラムファイルを閉じる。 	クロマトグラムが閉じている。																																																																																																																																												

例：ターゲット分析検索用のユーザーデータベースの作成

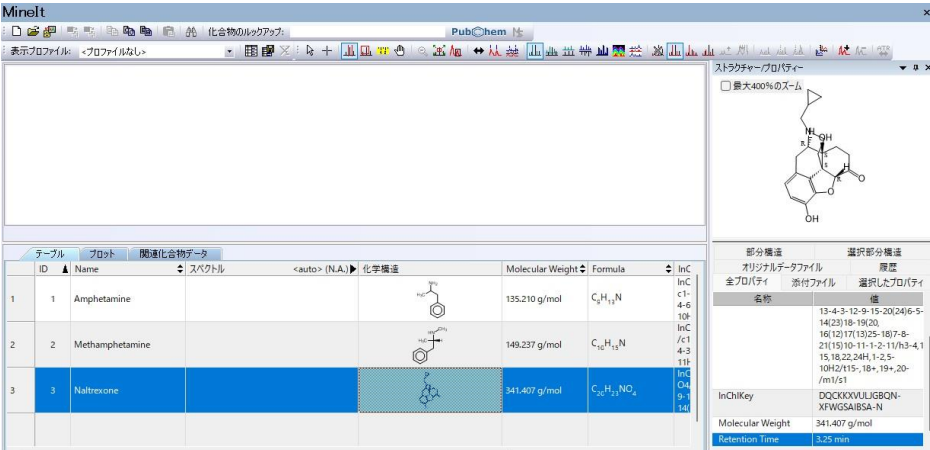
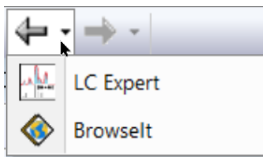
本項では、前項のサンプルファイルのように、ターゲット解析検索に使用するユーザーデータベースを準備する方法について説明する。

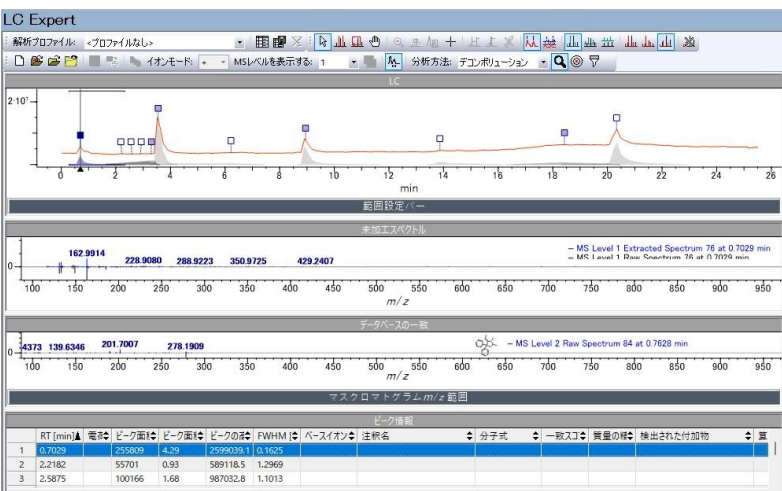
	アクション	結果
1	クロマトグラム内で標的分析検索を実行するには、検索に化合物を含むユーザーデータベースが必要である。 まず、Minelt アプリケーション()を開くことから始める。このアプリケーションは、通常は Data ツールボックスにある。	Minelt アプリケーションが表示される。 
2	ユーザーデータベースの作成： [データベース]>[新規作成]を選択する。	[新規データベース作成 (New Database Creation)]ダイアログウィンドウが起動される。 

	アクション	結果
3	必要なデータベース情報を入力する。 - データベースファイルの保存場所。【参照 (Browse)】をクリックして場所を選択し、ファイルに名前を付ける。 - データベース名。 - データベースの略語 (3 文字以上の英数字)。 [OK]をクリックして続行する。	Minelt で空のデータベースが開かれた場合： 
4	テーブルの最初の空白行にある名前セルをダブルクリックする。	プロパティダイアログウィンドウが起動される。
5	Proceeding ポップアップに「Amphetamine」と入力する。[OK]を押して保存する。	アンフェタミンは最初のレコード (ID 1) の Name プロパティとして表示される。 

	アクション	結果
6	Structure/Properties ウィンドウ内でダブルクリックし、「ダブルクリックして ChemWindow の構造を編集」と表示されている。	ChemWindow がポップアウトウィンドウとして起動される。 
7	指定された SMILES 文字列をクリップボードにコピーする。 <chem>c1(ccccc1)CC(N)C</chem> 次に、編集 (Edit) > 形式を選択して貼り付け (Paste Special) を選択し、SMILES を選択。	アンフェタミンの構造は ChemWindow に現れる。 
8	[保存]をクリックして続行する。	構造が Minelt ユーザーデータベースに表示される。 

	アクション	結果														
9	化合物の予想 保持時間 を追加するには、 構造/プロパティテーブル に移動し、 追加 ボタン (追加...) をクリックする。 プロパティダイアログ ウィンドウで リテンション時間 と入力する。	ダイアログ ウィンドウに [保持時間] プロパティ値が表示される。 														
10	プロパティダイアログ ウィンドウの値の横のセルに値「 3.7 」を入力する。デフォルトの単位である「min」を維持する。 [OK] を選択して続行する。	レコードに 保持時間 が追加される。 <table><tr><th>名称</th><th>値</th></tr><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></table> 注 ：データベース・ファイルに 保持時間 は不要 リテンションタイム の値が含まれていない場合は、すべてのタイムポイントがその化合物に対してスキャンされる。	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															
11	データベースに化合物を追加する。 テーブル の次の行をクリックして開始する。	テーブル 内の次の行をクリックすると、その行が高輝度表示され、アクティブであることが示される。 														

	アクション	結果
12	手順 4～11 を繰り返して、以下の化合物をユーザーデータベースに追加する。 名前：メタンフェタミン SMILES : <chem>c1ccc(c1)C[C@H](C)NC</chem> 保持時間：3.85 分 名前：ナルトレキソン SMILES : 結果セルに指定される 保持時間：3.25 分	ナルトレキシソンの SMILES 表記： <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> 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る。  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る。
13	前のアプリケーションアイコン(🔍)にマウスオーバーし、下ボタン(📄)をクリックする。選択したアプリケーションに戻るには、LC Expert を選択する。 	LC エキスパート アプリケーションがアクティブである。

	アクション	結果
14	LC Expert の標準ツールバーにある開いた RAW ファイルアイコン()を使用して、「C : \Users\Public\Public Documents\Wiley\KnowItAll\Samples\LC-MS\」に移動する。 未処理の Chromatogram ファイルのいずれかを開く。 • Compound_1_Pos.mzML • Compound_2_Pos.mzML • Compound_3_Pos.mzML	選択したクロマトグラムが LC Expert (Compound_1_Pos.mzML など) で開き、デコンボリューション :  注 : データベース検索テーブルの特定の結果は、ユーザー設定およびユーザーライセンスで使用可能なデータベースによって異なる。
15	Targets アイコン() をクリックするか、Analysis > Targeted Analysis を選択する。 このセクションのステップ 3 で保存した構造データベースファイルに移動して選択する。ターゲット検索結果ポップアップを読んだ後、OK をクリックしてポップアップウィンドウを閉じる。	データベースの 1 つのターゲットがクロマトグラムで検出される。  • アンフェタミンは Compound_1_Pos.mzML で検出される。 • メタンフェタミンは Compound_2_Pos.mzML で検出される。 • 「Compound_3_Pos.mzML」でナルトレキソンが検出される。

	アクション	結果
16	注：ターゲット解析のユーザー設定は、[ファイル]>[設定]を選択し、[ターゲット解析]タブを選択することで更新できる。	使用可能な[ターゲット解析 (Targeted Analysis)]設定は、 - 質量公差 (Mass Tolerance) : 質量偏差公差を正確に指定。 - 保持時間のしきい値 (秒単位)。 - Match Retention Times チェックボックス：この設定のオン/オフを切り替える - Hide Target Search Results (ターゲット検索結果を非表示) チェックボックスを選択すると、Targets Search Results ポップアップが表示されないようにする。 - Mass Adducts Databases は、ターゲット解析検索に使用するために、ユーザーが sdbx ファイル内の追加の付加物をインポートすることを可能にする。 - デフォルトでは、[M+H]または[M-H]付加体のみがクロマトグラムでスキャンされる。 - 追加の付加物を追加するには、Browse to Add ボタンをクリックし、LC-MS samples フォルダにある“Additional adducts.sdbx”に移動する（詳細については次のステップを参照）。 
17	注：ユーザーは、LC-MS samples フォルダ (“C:\Users\Public\Public Documents\Wiley\KnowItAll\Samples\LC-MS”) からサンプル 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。	付加ライブラリを準備するには、次の情報が必要である。 - 名前：付加ラベルに使用される。 - 式：同位体付加無線の計算に使用。 - KnowItAll は、減算(-)記号を組み込むことによって付加損失を認識するように設計されている。例えば、付加[M-H]は-Hとして表され、付加[M+Cl-H]はCl-Hとして表される。 - Selected Ion Charge (選択されたイオン電荷)：付加物がスキャンされるべきイオン電荷と極性を示す。 - 例えば、付加体[M-H]と[M+Cl-H]は対応する-1と-2であるべきである。 - 正のイオンはプラス記号を必要としない、なぜならば付加物は正であると仮定されるからである（負の付加物を示す-記号が指定されていない限り）。

例：手動デコンボリューション

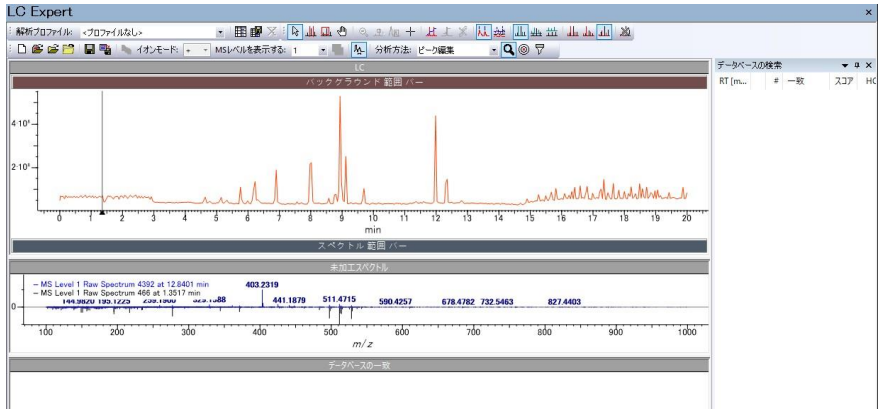
場合によっては、LC Expert の手動分析方法を使用して、デコンボリューションのために独自のピーク選択を実行することを好む。

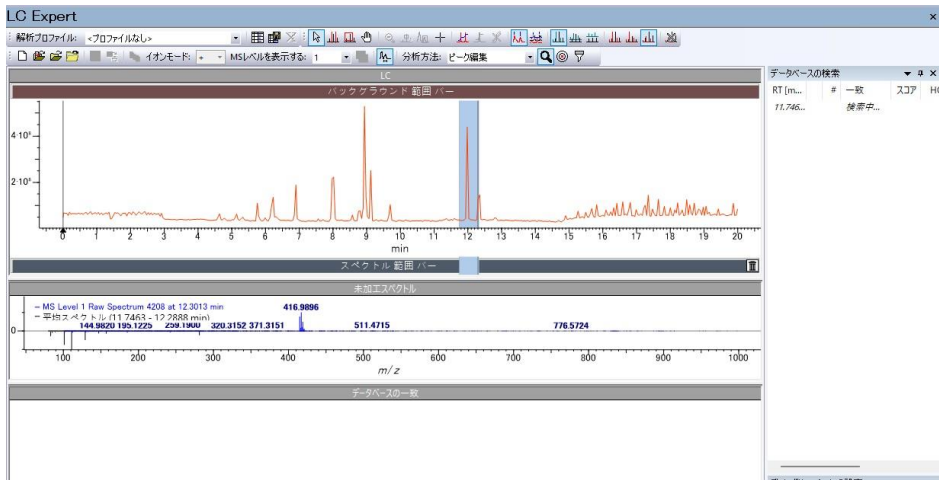
	アクション	結果
--	-------	----

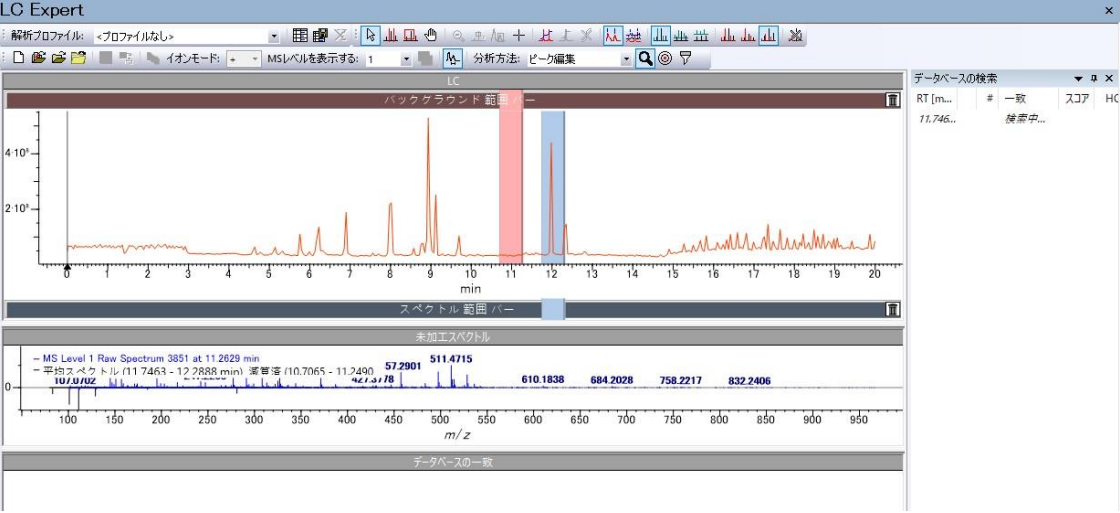
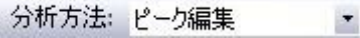
- 1 まず、**LC Expert** で LC-MS クロマトグラムファイルを開く。この例では、「C:\Users\Public\Public Documents\Wiley\KnowItAll\Samples\LC-MS」にある「TESTMIX2_180504_MAS011_06.mzXML」を使用する。

LC Expert アプリケーションでクロマトグラムが開く。解析方法は標準ツールバーに表示され、最後に適用された方法に設定されている。



	アクション	結果
2	標準ツールバーの解析方法ドロップダウンメニューを使用して、手動を選択する。 分析方法: ピーク編集	LC エキスパートが手動モードに入る： • 以前にデコンボリューションされたすべてのピークが Peaks Table および Database Search Table から消去される。 • 平均範囲バーは、Chromatogram（クロマトグラム）パネルの下に表示される。これを使用して、解析領域として平均化する一連の MS スキャンを選択する。 • クロマトグラムパネルの上に背景範囲バーが表示される。これを使用して、解析領域から除去するバックグラウンド領域を選択する。  The screenshot shows the LC Expert software interface. The top panel is the Chromatogram, displaying a baseline with several peaks. The bottom panel is the MS Spectrum, showing a mass spectrum with labeled peaks. The interface includes a menu bar, a toolbar, and a status bar. The 'Analysis Method' dropdown menu is set to 'Peak Editing'.

	アクション	結果
3	クロマトグラム上で、分析に適したピークに移動する。平均範囲バーを使用して、左マウスボタンを下にクリックし、バーを水平に下にドラッグして、ピークを横切る領域を選択する。マウスボタンを放して領域を確定する。	分析領域は、クロマトグラム上の青色を使用して強調表示される。抽出された MS スペクトルが選択された領域に作成される。さらに、領域に MS/MS スキャンが含まれている場合、MS/MS スキャンの平均がライブラリ内で検索され、データベース検索テーブル：  The screenshot displays the LC Expert software window. The top panel shows a chromatogram with a peak at approximately 12.3 minutes highlighted by a blue vertical bar. Below the chromatogram, the mass spectrum is shown with the x-axis labeled 'm/z' ranging from 100 to 1000. The y-axis represents relative intensity. The spectrum shows several peaks, with the base peak at m/z 416.9886. Other labeled peaks include 144.1620, 170.1225, 204.1960, 320.3152, 371.3151, 511.4715, and 776.5724. A right-hand panel titled 'データベースの検索' (Database Search) is visible, showing a search for RT [min] 11.746... with a status of '使用中...' (In use). 注：平均ではなく単一の MS/MS スキャンを検索するには、Average Range Bar を使用して領域を選択しない。代わりに、クロマトグラムを直接クリックして、検索する単一のタイムポイントを選択する。

	アクション	結果
4	クロマトグラム上で、背景を表すために望ましいベースライン領域に移動する。背景範囲バーを使用して、上で左マウスボタンをクリックし、バーの下に水平にドラッグして領域を選択する。マウスボタンを放して領域を確定する。	クロマトグラム上の背景領域は、分析領域から差し引くベースラインを表す赤色で強調表示される。データベース検索テーブルの検索結果は、更新された領域の選択に従って更新される。 
5	注：LC エキスパートは最後に使用した分析方法を保持する。このドキュメントの今後の手順に備えて、解析方法をデコンボリューションに戻す。 	このセクションのステップ1に示すように、クロマトグラムは自動的にデコンボリューションされる。 

LC-MS/MS スペクトルの検索方法

KnowItAll SearchIt を使用してスペクトル検索に高度なアルゴリズムを適用する方法

目的

これらの演習では、**KnowItAll SearchIt** を使用して、単一 MS/MS スペクトル検索の検索方法を調整する方法を示す。

目的

これらの練習は方法を教える：

- **MSforID** 検索アルゴリズムを適用する
- 単一スペクトルの検索方法：アダプティブサーチ、前駆体イオンフィルタリング
- 計算されたライブラリーを検索するときにピーク **m/z** 検索方法を使用する

背景

KnowItAll には LC-MS/MS スペクトル検索のための膨大なツールがある。LC Expert のデコンボリューションツールに加えて、ユーザーは **SearchIt** アプリケーションで単一のスペクトルを検索することができる。ここで彼らはさらに多くの検索アルゴリズムと検索制御へのアクセスを得る。これには、高精度 LC-MS 検索のための **MSforID** 検索アルゴリズム、特許取得済みの適応検索、前駆体イオンフィルタリングのためのツールなどが含まれる。

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 内のフォルダファイル

KnowItAll 使用されるアプリケーション

- KnowItAll LC エキスパート
- KnowItAll SearchIt (ノウイトオール・サーチイット)
- KnowItAll Minelt (ノウイトオール・マインイ)

MSforID 検索

MSforID 検索の概要

タンデム MS 探索ライブラリや未知化合物同定の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、文書化されている。それにもかかわらず、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ている。**MSforID** 検索方法は、品質データベースを検索するときの機器の変動に対する堅牢性やピーク断片化パターンの変動に対する高い耐性を示すように設計された。**3 MSforID** は、異なるメーカーや異なる研究所で異なる機器(QqTOF、QqLIT、QQQ、LIT、LIT-FTICR、QTRAP)を使用して積極的に評価された。2-4

MSforID 検索のアプローチは、検索クエリを化合物レコードごとに複数の 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ある。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、化合物の一連のスペクトルを作成する。**MSforID** 探索アルゴリズムは、クエリスペクトルを化合物の一連の CID スペクトルと比較する (図 A)。これは、クエリを一致ごとに単一のスペクトルと比較する典型的なデータベース検索アルゴリズムとは類似していない(図 B)。

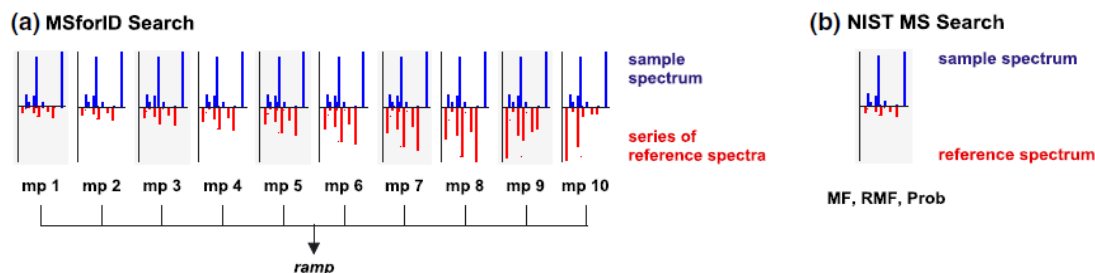


図 A) MSforID と B) NIST MS Search 検索方法を特定する。(資料 3 より転載)

MSforID アルゴリズム

MSforID アルゴリズムは、クエリスペクトルの一連の化合物参照スペクトルに対する平均類似度を測定する。これは確率に基づくマッチングアルゴリズムであり、次のようなものを分析する。

- クエリスペクトルとデータベース化合物レコードの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の間で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。

各検索結果について、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)**を計算する。**相対平均マッチ確率 (RAMP)** は、その後に計算され、特定のクエリに対する検索結果と比較して正規化された **AMP 値** (0~100 の範囲) で表される。検索結果は KnowItAll の Minelit 内で **RAMP 値** の高い順に表示され、最も高い **RAMP 値** が最良のマッチと見なされる。**RAMP 値** が>40.0 の場合、非常に良好な一致スコアと見なされる。⁵

KnowItAll での MSforID 検索ツールの使用

KnowItAll の SearchIt アプリケーションでの **MSforID** 検索には、(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、主に公開されているアルゴリズムを適用する**標準検索**である 3。**標準検索**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(図 A のように)と比較して **RAMP** を計算する。

これとは異なり、**Composite Search** はデータベースレコード内のすべてのスペクトルの単一平均スペクトルを、**MSforID** アルゴリズムの適応バージョンを使用してクエリスペクトルと比較する。平均スペクトルは検索中にリアルタイムで計算され、非常に大きなデータベースを使用する場合は**複合検索**の方が高速になる。**Direct Search** は **MSforID** アルゴリズムの改訂版であり、ヒットリストから偽陽性を削除することを目的としている。

社内の **MSforID** ライブラリを準備する

「[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高度にキュレーションされたスペクトルが含まれている。正確な **MSforID** 検索のために高度にキュレーションされたユーザ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 を推奨する。

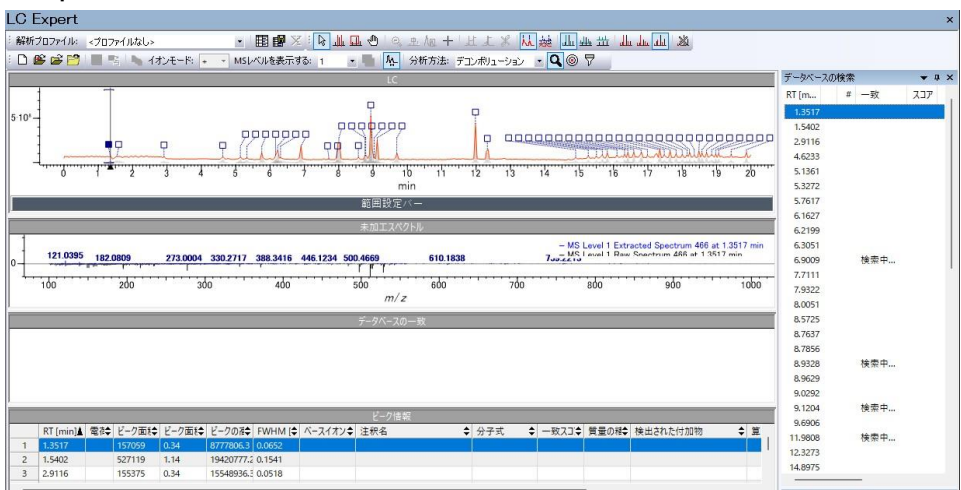
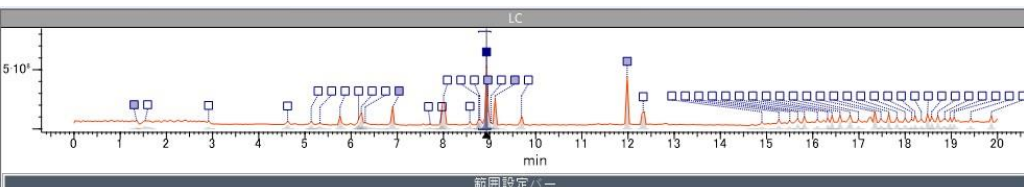
1. 複数の衝突エネルギーで標準化合物の質量スペクトルを測定する（例：5 から 50eV）。
2. 標準スペクトルで低過剰な信号をフィルタリングする（例：0.01%未満）。
3. 1 つのプリカーサーイオン(例: **M+H**)を使用して、**Minelt** でデータベースレコードを準備する。異なる付加物から検出された化合物スペクトルがライブラリで利用可能な場合は、それらを別のレコードに分離する（たとえば、1 つのレコードでは **M+H** スペクトル、2 つ目のレコードでは **M+Na** スペクトル）。

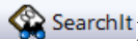
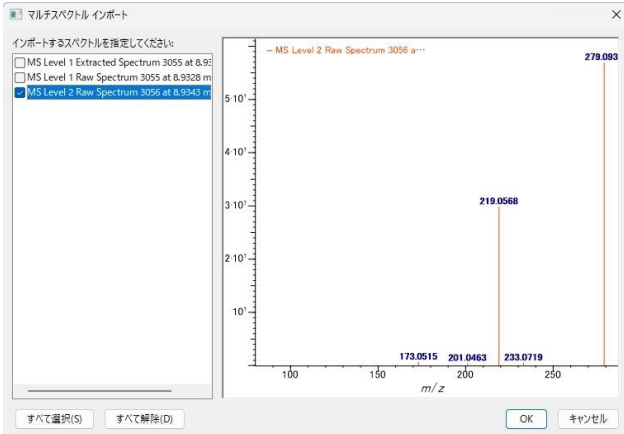
MSforID に関する参考資料とその他の参考資料

1. M. Pavlic, K. Libiseller, H. Oberacher. 薬物の定性的分析のための質量スペクトルライブラリ検索と ESI-QqTOF-MS および ESI-QqTOF-MS/MS の併用。Anal. Bioanal. Chem. **2006**, 386, 62-82. doi: [10.1007/s00216-006-0634-8](https://doi.org/10.1007/s00216-006-0634-8)<https://link.springer.com/article/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リファレンスライブラリの装置間および実験室間の移動性について：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](https://doi.org/10.1002/jms.1545)<https://analyticalsciencejournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/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リファレンスライブラリの装置間および実験室間の移動性について：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](https://doi.org/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. doi: [10.1007/s00216-010-4598-3](https://doi.org/10.1007/s00216-010-4598-3)
5. H. Oberacher, G. Whitley, B. Berger, W. Weinmann. 「Wiley Registry of Tandem Spectral Data, MSforID」による化合物同定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. doi: [10.1002/jms.3185](https://doi.org/10.1002/jms.3185)

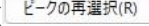
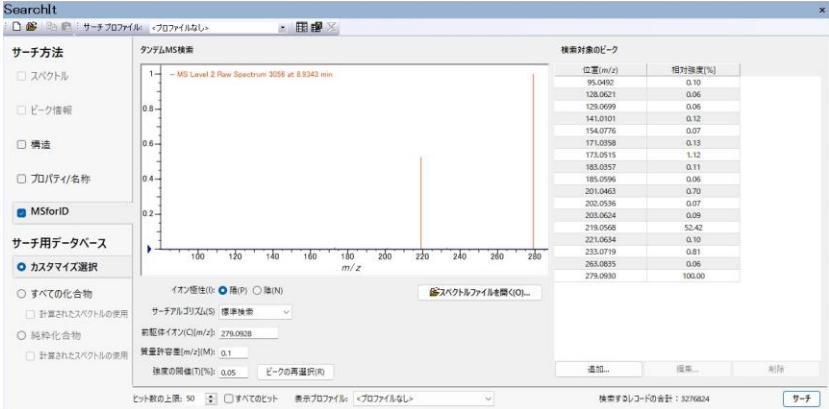
例：MSforID 検索

この節では、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 MS/MS ライブラリ検索を実行する方法について説明する。

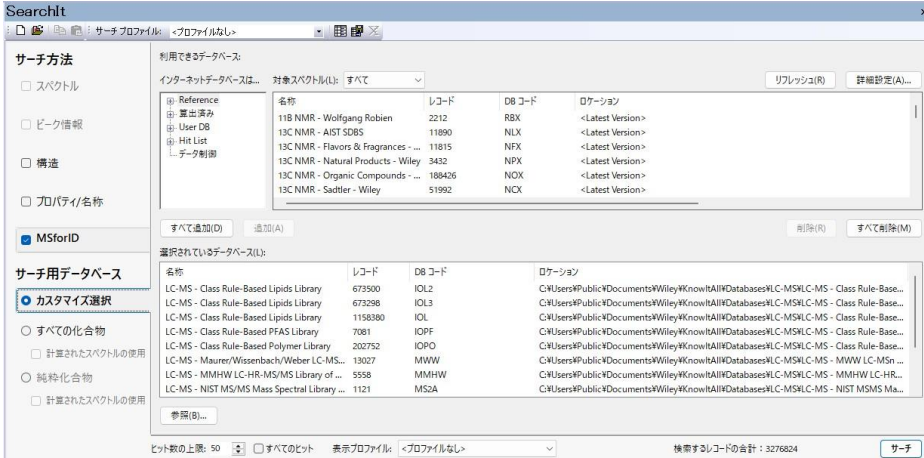
	アクション	結果
1	LC Expert の標準ツールバーにある未加工の LC-MS データファイルを開くアイコン() を使用して、「C:\Users\Public\Public Documents\Wiley\KnowItAll\Samples\LC-MS\」に移動する。 「TESTMIX2_180504_MAS011_06.mzXML」(C:\Users\Public\Public Documents\Wiley\KnowItAll\Samples\LC-MS\))を開く。	LC Expert でクロマトグラムが開き、デコンボリューション： 
2	RT が 8.93 分である行の Peaks Table をクリックして、ピークを選択する（つまり、デフォルトのデコンボリューション設定を使用した行 18）。	8.93 分のピークがクロマトグラムで選択される。 

	アクション	結果
3	[転送先 (Transfer to)] バー () で、[検索 (SearchIt)] () を選択する。	[Import of Multiple Spectra] ダイアログウィンドウが表示される。[MS Level 2 Raw Spectrum] オプションがデフォルトで選択されている。  注：このダイアログを使用して、転送先バーを使用して転送する MS スペクトルスキャンを指定する。
4	[Import of Multiple Spectra] ダイアログウィンドウで、デフォルトの[MS Level 2 Raw Spectrum]をそのまま使用する。 [OK]を選択して続行する。	[検索イットインポート (SearchIt import)] ダイアログウィンドウが表示され、 • SearchIt で MSforID の新しい検索タブを開くには、「MSForID」。 • 代替検索アルゴリズム (コサイン、適応検索、部分スペクトル検索など) を使用する場合は、「Spectrum Search」。 

	アクション	結果
--	-------	----

5 SearchIt ダイアログウィンドウで MSforID を選択する。 注：必要に応じて、Intensity Threshold (%) 設定を使用して検索に含まれるピークの体積を変更できる。[Repick Peaks] ボタン () を選択して、更新されたしきい値を使用して[Peaks to Search] リストを更新する。三角形の記号()は最小ピーク高さを示す。	SearchIt の MSforID Search ウィンドウに MS2 raw スペクトルが表示される。MSforID Search ウィンドウには、 • Ion Polarity : 生のクロマトグラムファイルに含まれている場合は、生のクロマトグラムファイル内のイオン極性情報。 ○ この情報が RAW ファイルに含まれていない場合、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る。 • 検索方法は、検索に適用される特定の MSforID アルゴリズム である。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る。 ○ 標準検索 (デフォルト) ○ 複合検索 ○ ダイレクトサーチ • precursor ion (m/z) は、RAW ファイルに含まれている場合、MS2 スキャンの前駆イオン情報である。 • 質量公差 (m/z) パラメータは、MS スペクトルピーク m/z 偏差の公差を設定する。 • Intensity Threshold (%) 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する。  注：RAW スペクトルが MS2 スペクトルであることが検出されない場合、警告 ダイアログウィンドウにポップアップが表示される。これは、RAW ファイルに MS レベル情報が含まれていない (インポートされた .jdx ファイルなど) か、間違った MS レベルである (MS レベル=1 など) ためである。Confirm をクリックして警告を無視し、MS スペクトルをウィンドウにインポートするか、Cancel をクリックしてプロセスを停止する。
--	---

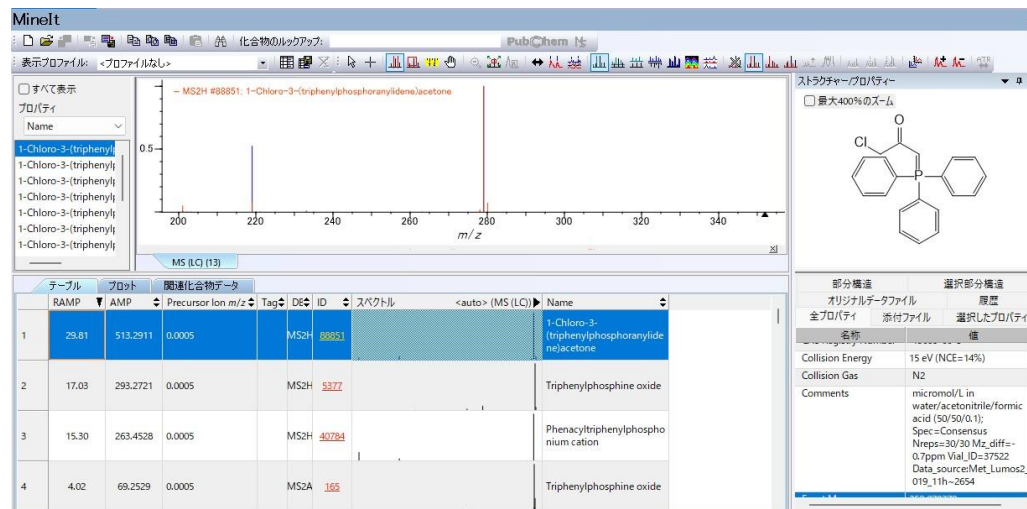
アクション	結果
6 MSforID 検索ウィンドウで、 質量公差 の値を「0.01」 m/z に変更する。	質量公差 が減少した場合：

		質量許容差[m/z](M): 0.01 注：質量公差の値は、計算と最終検索結果に影響を与える役割を果たす。
7	Search Databases セクションで、User-Select オプションをクリックする。 カスタマイズ選択 Limit to spectral technique オプションの横にあるドロップダウンメニューを使用して MS (LC) を選択する。 対象スペクトル(L): MS (LC) 次に、データベースリストの特定のデータベース行をクリックし、続いて追加ボタン (追加(A)) をクリックして、を使用して検索するデータベースを選択する。	データベース選択ダイアログウィンドウが表示される。以下の例では、利用可能なすべての LC-MS データベースが Selected for Searching セクションに追加されている。  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依存する。

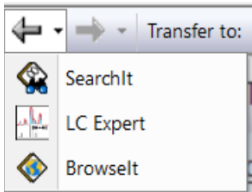
	アクション	結果
8	検索ボタン(Search)を選択して検索を実行する。	スペクトルクエリに最も一致するものが Minelit : 表には、次の列が表示されます： AMP (Average Match Probability : 平均マッチ確率) は、参照化合物のレコードがクエリスペクトルである可能性の平均確率を示します。 RAMP (Relative Average Match Probability : 相対平均マッチ確率) は、検索結果全体に対する AMP 値の相対

的な値を示します。

- デフォルトでは、検索結果は **RAMP** 値の減少によって整理される。
- クエリのプリカーサーイオンとデータベースレコードの間の m/z 差である **precursor ion m/z difference**。

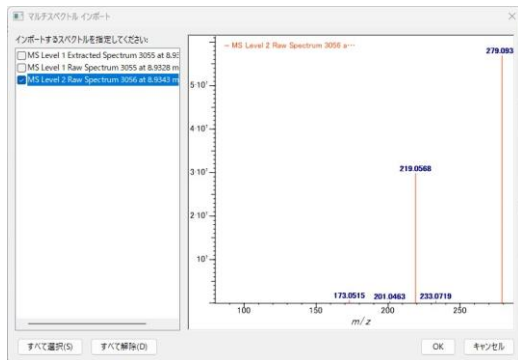
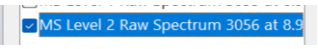


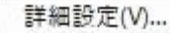
注：検索結果表の各行は、化合物レコードのスペクトルの一連の一致を表しており、各化合物レコードは一致結果として 1 回しか返されない。表では、各化合物レコードの MS スペクトルは、データベース内の存在順を保持する。つまり、系列の最初のスペクトルが常に検索結果の最初に表示される。

	アクション	結果
9	前のアプリケーションアイコンに移動し、下ボタン(▼)をクリックする。選択したアプリケーションに戻るには、LC Expertを選択する。 	LC エキスパートアプリケーションがアクティブである。

例：SearchIt を使用したスペクトル MS/MS 検索

本項では、SearchIt アプリケーションでスペクトル検索アルゴリズムを使用して MS/MS ライブラリ検索を実行する方法について説明する。

	アクション	結果
1	最後のセクションからクロマトグラムに進む。LC Expert では、前のステップ 2 のスキャンを選択したまま、 Transfer to bar() を使用してスペクトルを SearchIt() に送信する。	[Import of Multiple Spectra] ダイアログウィンドウが表示される。[MS Level 2 Raw Spectrum] オプションがデフォルトで選択されている。  注：このダイアログは、[Transfer to (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を示すために使用される。
2	[Import of Multiple Spectra] ダイアログウィンドウで、デフォルトの[MS Level 2 Raw Spectrum]をそのまま使用する。[OK]を選択して続行する。 	[検索イットインポート (SearchIt import)] ダイアログウィンドウが表示されます： - SearchIt の既存の検索を上書きするには、「既存の MSforID 検索を置換」。 - SearchIt で新しい検索ウィンドウを開くには、「新しい文書で MSforID を開く」。 - 代替検索アルゴリズム（コサイン、適応など）を使用する場合は、「Open spectrum search in new document」。 
	アクション	結果

3 [Open spectrum search in new document]を選択する。	SearchIt の Spectrum Search ダイアログウィンドウで MS2 RAW スペクトルが開く。検索スペクトル検索タイプが LC-MS であることを認識し、Spectrum MS(LC)としてラベル付けされる。  スペクトル検索をさらに制御するには： - レンジバーを含む(Include Range Bar)とレンジバーを除く(Exclude Range Bar)スペクトル上の指定領域を含める/除外することができる。 - 検索方法では、Dot-Product (コサイン) から Peak m/z Search (後のセクションで詳しく説明する) などの検索アルゴリズムを変更することができる。
4 Spectrum MS (LC)ウィンドウで、Accurate Mass Search と Filter by precursor m/z の横にあるチェックボックスを選択する。	正確な質量検索が選択されている場合：  - 正確な質量検索では、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分解能情報が検索時に保持される。 - 前駆体でフィルターm/z は、生スペクトルからの前駆体イオン情報でデータベースの検索結果をフィルターする。 注：詳細設定ボタン () をクリックして、正確な質量検索のためにプリカーサイオントレランスと機器分解能の設定を変更する。

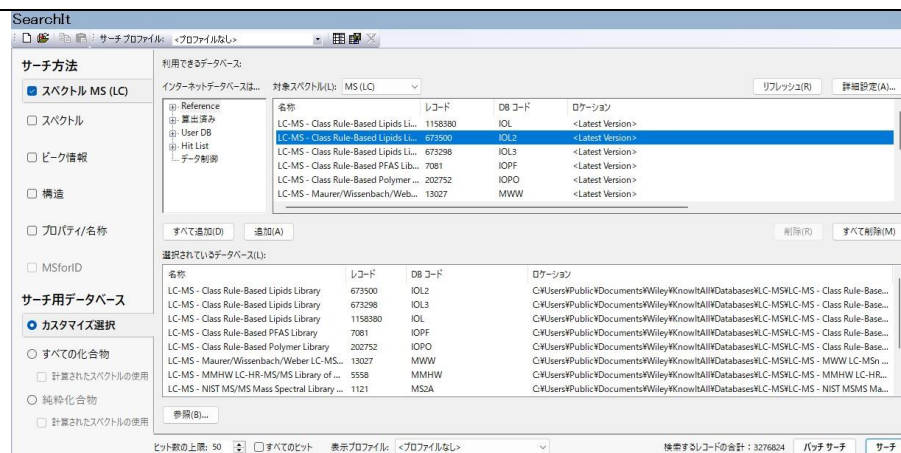
アクション	結果
5 Search Databases セクションで、User-Select オプションをクリックする。 	データベース選択ダイアログウィンドウが表示される。以下の例では、利用可能なすべての LC-MS データベースが Selected for Searching セクションに追加されている。

Limit to spectral technique オプションの横にあるドロップダウンメニューを使用して **MS (LC)** を選択する。

対象スペクトル(L): MS (LC)

次に、データベースリストの特定のデータベース行をクリックし、続いて**追加**ボタン

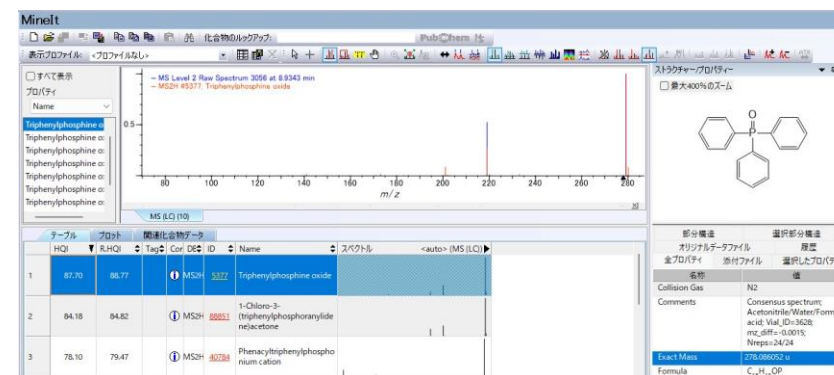
(**追加(A)**)をクリックして、を使用して検索するデータベースを選択する。



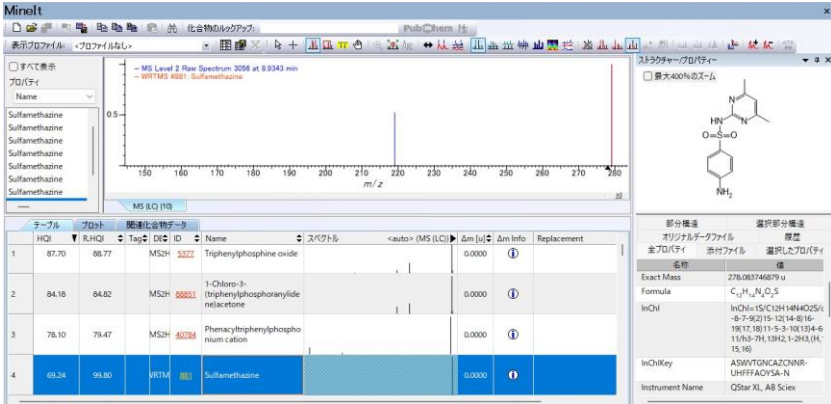
注：利用可能な LC-MS データベースは、特定のユーザーライセンスに依存する。

6 **[検索 (Search)]** をクリックして実行する。

スペクトルクエリに最も一致するものが **Minelt** :



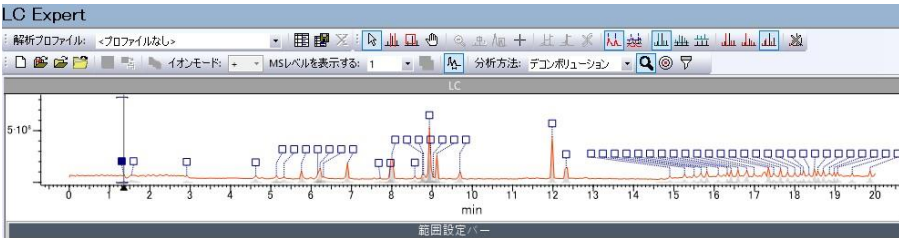
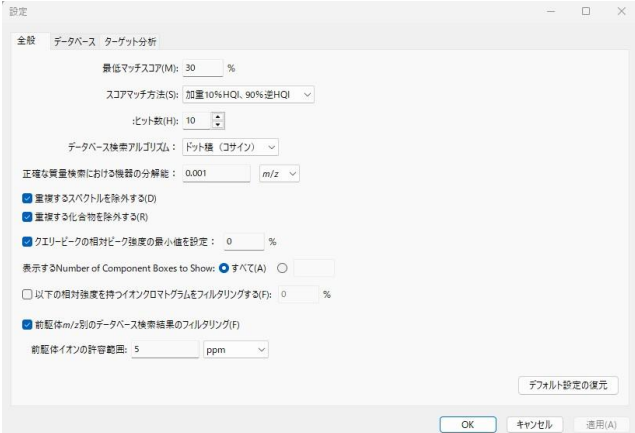
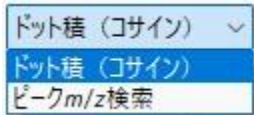
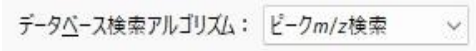
	アクション	結果
7	前のアプリケーション矢印(←)を使用して、SearchItに戻る。	SearchIt アプリケーションは、前のクエリが読み込まれた状態で開かれる。
8	スペクトル MS (LC) をクリックして、スペ	[適応検索 (Adaptive Search)] が選択され、 [プリカーサーでフィルタ (Filter by precursor m/z)] チェックボックスが選択

クトル検索設定を変更する。 サーチ方法 ☒ スペクトル MS (LC) [適応検索 (Adaptive Search)] チェックボックスを選択する。	解除される。 ☒ 正確な質量検索(M) ☒ アダプティブ検索 ☐ 前駆体m/zでフィルタリング 分子 m/z: 279.0928 アダプティブサーチ法は、利用可能な官能基またはクエリスペクトルとデータベーススペクトルの間の分子置換についてスペクトルピークをスキャンすることを可能にし、データベースライブラリを利用可能なスペクトル空間にない類似化合物に拡張する。 注：アダプティブ検索法は、正確な質量検索 チェックボックスの選択を解除することにより、低解像度データに対して使用可能である。
9 [検索 (Search)] をクリックして実行する。	スペクトルクエリに最も一致するものは、Minelt :  適応検索結果の場合、スペクトルクエリとデータベースレコードに関して： • Δ m カラムは、クエリとデータベース化合物の化合物質量の差を与える。 • Δ m info カラムには選択可能な info アイコン()が含まれており、クエリ結果を生成するために発生したピークシフトを通知する。 • 「交換」列は、グループの交換がわかっている場合に表示される。

例：ピーク m/z 検索方法

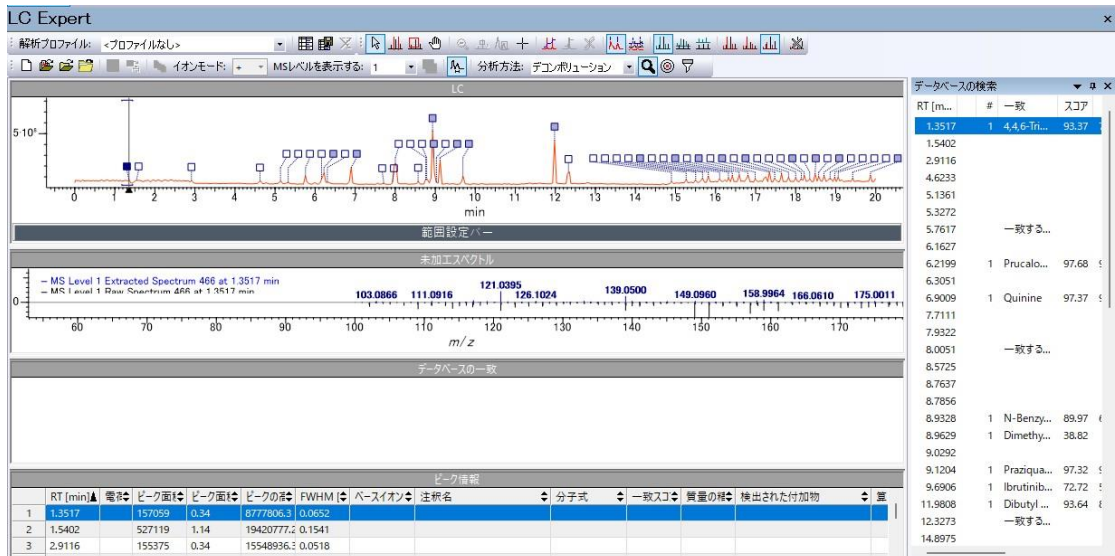
このセクションでは、**Peak m/z Search** アルゴリズムを使用して計算済みライブラリーをより効果的に検索する方法について説明する。このアルゴリズムは、クエリスペクトルからデータベースレコードへの最も強いピークをピーク強度とは無関係に **Exact Mass** で一致させる。このアルゴリズムは、データベースレコードの多くが 100%強度のピークを持つ **MS** スペクトルである **Computed Libraries** での使用に推奨される。

アクション	結果
-------	----

1 LC Expert で LC-MS クロマトグラムファイルを開く。 	クロマトグラムは LC Expert で開かれます：  上記のクロマトグラムの例は脂質をフィーチャーしたファイルである。
2 ファイル／設定を選択する。	[設定 (Settings)] ダイアログが起動される： 
アクション	結果
3 [一般 (General)] タブをそのまま使用する。ドロップダウンメニューを使用して、データベース検索アルゴリズムを Peak m/z Search に変更する。 	ダイアログでピーク m/z 検索アルゴリズムが選択されている。  注： Set minimum relative peak intensity for query peaks のチェックボックスが選択されていることを確認する。オンにすると、最小しきい値を下回るクエリピークはデータベーススペクトルにマッチしない。 ☒ Set minimum relative peak intensity for query peaks: 0.1 %

4 設定ダイアログで、OK ボタン () をクリックして変更を確定する。

データベース検索テーブルは、変更されたアルゴリズムに従って検索一致を更新する。



RT [min]	#	一致	スコア
1.3517	1	4,4'-B-Tn...	93.37
1.5402			
2.9116			
4.6233			
5.1361			
5.3272			
5.7617		一致する...	
6.1627			
6.2199	1	Prucalo...	97.68
6.3051			
6.9009	1	Quinine	97.37
7.7111			
7.9322		一致する...	
8.0051			
8.5725			
8.7637			
8.7856			
8.9328	1	N-Benzyl...	89.97
8.9629	1	Dimethy...	38.82
9.0292			
9.1204	1	Praziqua...	97.32
9.6906	1	Ibrutinib...	72.72
11.9808	1	Dibutyl ...	93.64
12.3273		一致する...	
14.8975			

	アクション	結果
5	注 : Peak m/z Search アルゴリズムは SearchIt でも利用可能である。適用するには、「SearchIt を使用したスペクトル MS/MS 検索」セクションのスペクトル検索の手順に従って、ドロップダウンメニューを使用して検索方法を Peak m/z Search に変更する。	SearchIt の Spectrum Search インターフェイスで、検索アルゴリズムとして Peak m/z Search が選択されている。

SearchItAll

サーチアルゴリズム(S)

e) ▼

品質検索

ピークm/z検索

ドット積 (コサイン)

Wiley Dot-Product (Cosine)

複合P1

複合P3

ピークm/z検索

SearchIt

サーチプロファイル: <プロフィールなし>

成成分数: サーチアルゴリズム(S)

1 (Single) ▼

ピークm/z検索

最適化(O)

詳細設定(V)...

正確な質量検索(M) ☐ アダプティブ検索 ☐ 前駆体m/zでフィルタリング 分子 m/z: ☐ リバース検索 ☐ 部分検索

除外範囲設定バー

1

0.8

0.6

0.4

0.2

0

100 150 200 250 300 350 400 450 500 550 600 650 700 750 800 850 900 950 1000

m/z

範囲設定バー

279.0929

235.1803

511.4717

557.1790

サーチ方法

☒ スペクトル MS (LC)

☐ スペクトル

☐ ピーク情報

☐ 構造

☐ プロパティ/名称

☐ MSforID

サーチ用データベース

☒ カスタマイズ選択

☐ すべての化合物

☐ 計算されたスペクトルの使用

☐ 純粋化合物

☐ 計算されたスペクトルの使用

ヒット数の上限: 50 ☐ すべてのヒット 表示プロフィール: <プロフィールなし> 検索するレコードの合計: 3276824

サーチ

バッチ LC-MS 処理

KnowItAll LC Expert を使用して **LC-MS** コンポーネントの自動識別を実行する方法

目的

この演習では、KnowItAll LC Expert を使用して一連の生 LC-MS クロマトグラムを処理および分析する方法を示す。

目的

これらの練習は方法を教える:

- KnowItAll LC Expert プロジェクトモードを使用して、生のクロマトグラムのフォルダを処理する

背景

生のクロマトグラムの分析は時間のかかるプロセスであり、特に類似したサンプルが複数回採取される場合にはなおさらである。プロジェクトモードの KnowItAll の LC エキスパートは、ユーザーが単一の提出でファイルのフォルダを処理、整列、識別し、プロジェクトファイルとして結果サマリーをレビューすることを可能にする。

このレッスンで使用するトレーニングファイル

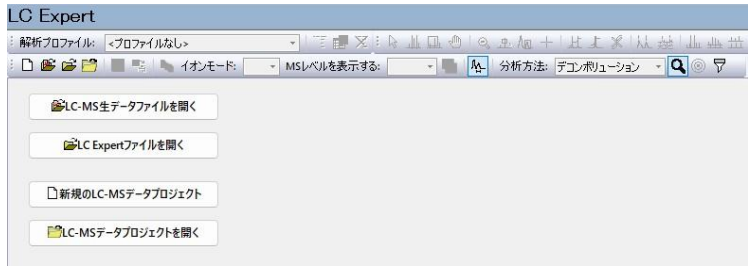
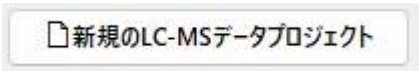
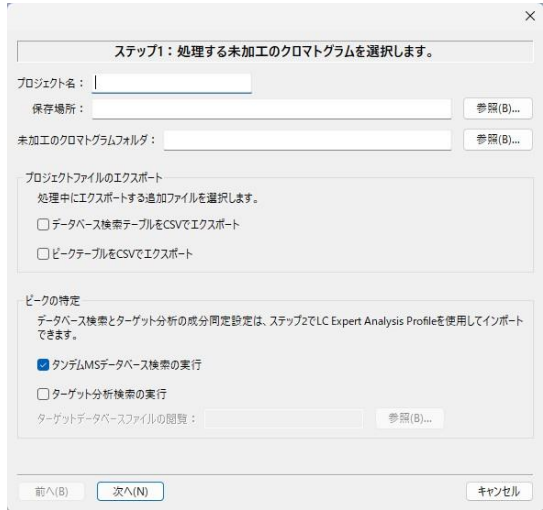
- 該当なし

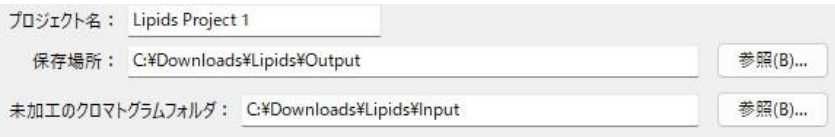
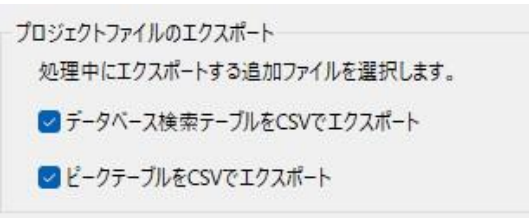
KnowItAll 使用されるアプリケーション

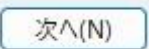
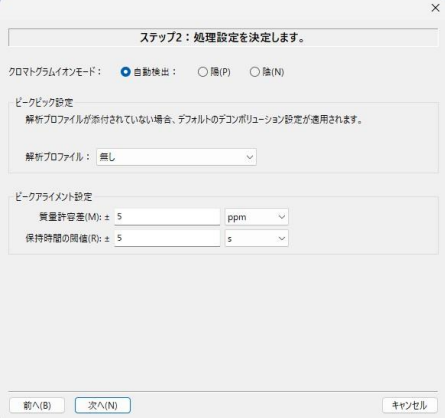
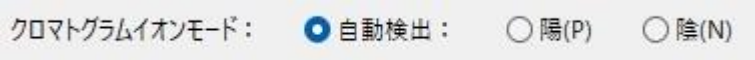
- KnowItAll LC エキスパート

例：バッチ LC-MS 処理

バッチ LC - MS 処理は、一連の関連クロマトグラフィー試料を取得するときに使用することができる。サンプルが関連していない場合は、単一処理ワークフローを適用する必要がある。

	アクション	結果
1	LC エキスパートを開く。	LC Expert アプリケーションが表示され、ファイルが開かれていない。 
2	[New LC-MS Data Project] ボタンをクリックする。 	バッチ処理ダイアログウィンドウがステップ1で表示されます：処理ステップに未加工のクロマトグラムを選択：  このダイアログはファイルフォルダのバッチ処理の詳細を入力するために使用される。
	アクション	結果

3	ポップアップダイアログウィンドウを使用して、次の詳細を入力する。 - プロジェクト名：プロジェクトファイルの名前。 - 保存場所:[参照]ボタンをクリックして出力ファイルの場所を選択 - Raw Chromatogram Folder: Browse ボタンをクリックして入力 LC-MS ファイルフォルダを選択	プロジェクトファイルに名前、出力場所、および入力ファイルの場所を指定するために、プロジェクトの詳細が入力されている。 
4	プロジェクトファイルのエクスポートセクションで、個々のクロマトグラムファイルのエクスポート設定を選択する。個々のクロマトグラム表を CSV としてエクスポートするかどうかを決定する。 - Export Database Search Table as CSV (データベース検索テーブルを CSV としてエクスポート) のチェックボックスは、クロマトグラムファイルごとにデータベース検索テーブルをエクスポートする。 - Export Peak Table as CSV (ピークテーブルを CSV としてエクスポート) のチェックボックスは、クロマトグラムファイルごとのピークテーブルをエクスポートする。	提出されたプロジェクトごとに、一連のクロマトグラムについてアライメントされたピックされたピークを要約したプロジェクトファイル(.lcp)が生成される。個々のクロマトグラムファイルは、後処理レビューを可能にするためにファイル (.lca) として保存される。さらに、Export Project Files セクションのチェックボックスは、個々のクロマトグラムファイルに対応するテーブル (.csv) をエクスポートする。 

5	ピーク識別セクションで、コンポーネント識別要件を選択する。 Perform tandem MS database search のチェックボックスには、LC-MS ライブラリ内でデコンボリューションされたピークを検索する必要がある。 Perform Targeted Analysis search のチェックボックスは、ターゲットを識別するためにターゲットリストを.sdbx ファイルとして添付することができる。ライブラリ準備の詳細については、トレーニングセクション「ターゲット分析検索用のユーザーデータベースの作成」を参照のこと。	以下の設定により、コンポーネントの識別が可能になる。注：特定のデータベース検索設定は、ダイアログの後続のステップで制御される。一連のクロマトグラムファイルについては、MS/MS データベース検索や標的分析検索を行う際に、特定のアルゴリズムに従った一致スコアが最も高い成分が、特定のコンポーネントとしてサマリプロジェクトファイルに報告される。 
6	[次へ>] ボタンをクリックしてダイアログを続行する。 	ステップ 2：処理設定の決定がダイアログに表示される。ここでは、特定のクロマトグラム処理とデータベースマッチングコントロールを提出する。 
7	Chromatogram Ion Mode ダイアログセクションでは、イオンモードの自動検出を無効にすることができる。	自動検出の選択は保持される。  注：この制御はクロマトグラムファイルに両方のイオンモードが含まれている場合の制御に使用できる。

8	[ピークピック設定]ダイアログセクションでは、解析プロファイルを添付できる。 注：解析プロファイルは必須ではない。バイパスするには「なし」を選択する。解析プロファイルの作成方法の詳細については、次のステップに従う（それ以外の場合はバイパスする）。	ダイアログに解析プロファイルが添付されている。解析プロファイルを使用すると、ユーザーは次の項目を制御できる。 • ピークデコンボリューションの設定 • 適用されたピークピックアルゴリズム（ドット積（コサイン）またはピーク m/z 検索） • 検索のために LC-MS データベースを適用 • 前駆体イオンフィルタリング 解析プロファイルが添付されていない場合は、LC エキスパートで最後に使用された設定が適用される（[ファイル]>[Settings]の下）。 ピークピック設定 解析プロファイルが添付されていない場合、デフォルトのデコンボリューション設定が適用されます。 解析プロファイル： 無し ▼
9	注：解析プロファイルを作成するには、次の手順を実行する。 • LC Expert で単一のクロマトグラムを開く。 • 必要な設定を適用する（Settings ダイアログおよび Deconvolution Settings パネル）。 • [標準トウーバ (Standard Tooba)] で、[現行プロファイルを保存 (Save Current Profile)] アイコン () を選択し、解析プロファイルファイルに名前を付ける。	LC エキスパートに分析プロファイルを保存すると、追加の添付要件なしに、バッチ処理ダイアログの分析プロファイルセクションに自動的に表示される。

	アクション	結果
10	[ピーク位置合わせの設定]ダイアログでは、位置合わせの公差を制御できる。	ピーク位置合わせの設定が定義されている。

- **質量公差**は m/z 値の許容偏差の量を制御する。
- **Retention Time Threshold** は RT 値の偏差の量を制御する。

ピークアライメント設定

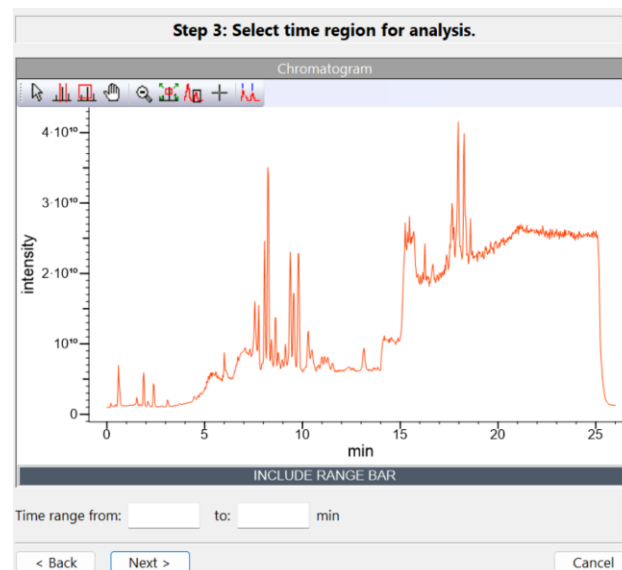
質量許容差(M): ± 5 ppm

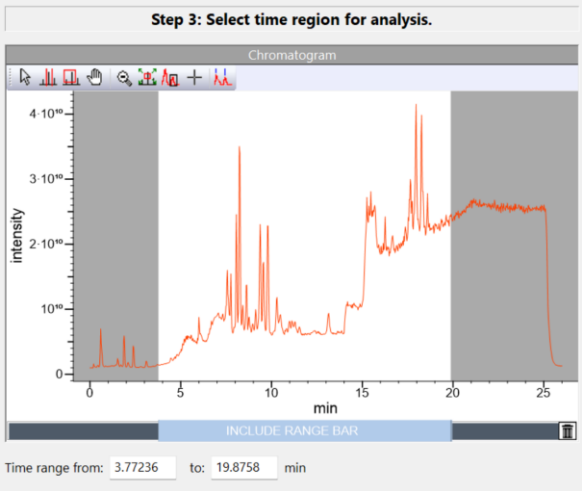
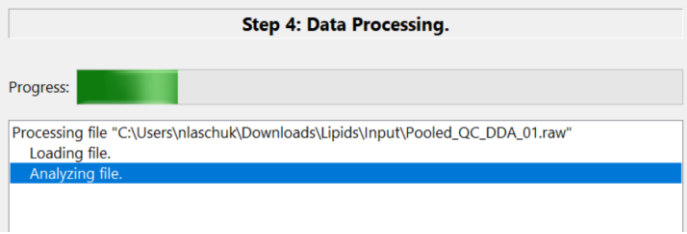
保持時間の閾値(R): ± 5 s

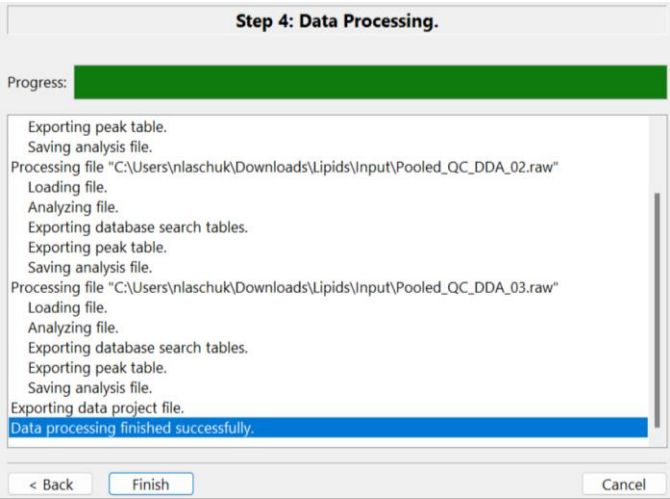
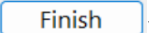
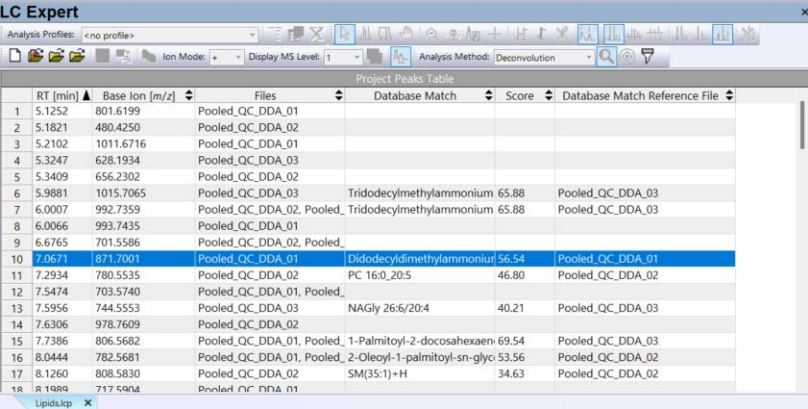
- 11 [次へ>] ボタンをクリックしてダイアログを続行する。

次へ(N)

ステップ 3 : ダイアログに**解析する時間領域を選択 (Select time region for analysis)**が表示される。プレビューウィンドウには、処理対象として選択されたファイルのフォルダにある最初のクロマトグラムが表示される。



	アクション	結果
12	ダイアログの範囲バーを含めるを使用して、マウスの左ボタンをクリックし、バーを横切って水平にドラッグして時間領域を選択する。ボタンを放してリージョンを受け入れる。 注： 終点境界は、選択した領域の終点を左マウスボタンでクリックし、新しい時間点にドラッグすることで変更できる。ゴミ箱アイコンを使用して、選択範囲を完全に削除する ()。	解析する領域が選択されている。  バッチ処理に対して時間による解析領域を定義する。領域が選択されていない場合は、クロマトグラム全体が処理される。
13	[次へ>] ボタンをクリックしてダイアログを続行する。 Next >	ステップ 4：データ処理がダイアログに表示される。クロマトグラムはバッチ処理のために送信される。 - 進行状況バーは、バッチ処理の進行状況を視覚化するために緑色を適用する。 - バッチ処理のアクティブステップを定義するためのログが白いボックスにレポートされる。 

	アクション	結果
14	バッチ処理を完了まで実行できるようにする。 注：プロセスを中止する必要がある場合は、ダイアログのキャンセルボタン () をクリックする。	バッチ処理が完了すると、ダイアログログに「Data processing finished successfully」と表示され、進捗バーが完全に緑色になる。 
15	ダイアログの完了ボタン() をクリックしてダイアログを閉じる。	プロジェクトファイル (.lcp) が LC Expert で自動的に開く。 

	アクション	結果																																																																																																																													
16	.lcp ファイルの結果を分析する。 注：データベースマッチ構造は、プロジェクトファイル内で直接視覚化できる。「表示」>「構造を一致」と選択する。 ✓ Match Structure in Pane	.lcp ファイルには、バッチ処理の結果が要約されます： • RT[min]カラムは、サンプルのアライメントされたピーク保持時間を示す。 • Base Ion [m/z]カラムは、アライメントされたピークを表す検出されたベースイオン。 • Files 列には、ピークが次にアライメントされたすべてのファイルの名前が表示される。 ステップ 1 でデータベース検索が適用された場合（適用されなかった場合、これらの列は表示されない）： • Database Match（データベース一致）は、ピークコンポーネントのデータベース一致率が最も高い。 • Score データベースマッチのスコア。 • Database Match Reference File は、で最も高いデータベース一致が検出されたファイルを報告する。 ステップ 1 でターゲット分析検索を適用した場合（適用しない場合、これらの列は表示されない）： • ターゲットマッチ(Target Match)-ピークコンポーネントのターゲットリストから最も高いマッチを与える • マッチスコアターゲットマッチのマッチスコア。 • Target Match Reference File は、で最も高いターゲット一致が検出されたファイルをレポートする。 • 質量精度、検出された付加物、質量精度、計算された質量、付加物の正確な質量、データベース名、およびレコード ID は、ターゲットマッチから決定され、具体的な定義は、このドキュメントの「ターゲット分析の検索」セクションに記載されている。 次の図では、選択したペインを使用してデータベースの一致構造が表示される。 <table><tr><th colspan="6">Project Peaks Table</th></tr><tr><th></th><th>RT [min] ▲</th><th>Base Ion [m/z] ▼</th><th>Files</th><th>Database Match</th><th>Score</th><th>Database Match Reference File</th></tr><tr><td>1</td><td>5.1252</td><td>801.6199</td><td>Pooled_QC_DDA_01</td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td>2</td><td>5.1821</td><td>480.4250</td><td>Pooled_QC_DDA_02</td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td>3</td><td>5.2102</td><td>1011.6716</td><td>Pooled_QC_DDA_01</td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td>4</td><td>5.3247</td><td>628.1934</td><td>Pooled_QC_DDA_03</td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td>5</td><td>5.3409</td><td>656.2302</td><td>Pooled_QC_DDA_02</td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td>6</td><td>5.9881</td><td>1015.7065</td><td>Pooled_QC_DDA_03</td><td>Tridodecylmethylammonium</td><td>65</td><td></td></tr><tr><td>7</td><td>6.0007</td><td>992.7359</td><td>Pooled_QC_DDA_02, Pooled_QC_DDA_01</td><td>Tridodecylmethylammonium</td><td>65</td><td></td></tr><tr><td>8</td><td>6.0066</td><td>993.7435</td><td>Pooled_QC_DDA_01</td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td>9</td><td>6.6765</td><td>701.5586</td><td>Pooled_QC_DDA_02, Pooled_QC_DDA_01</td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td>10</td><td>7.0671</td><td>871.7001</td><td>Pooled_QC_DDA_01</td><td>Didodecyldimethylammonium</td><td>56</td><td></td></tr><tr><td>11</td><td>7.2934</td><td>780.5535</td><td>Pooled_QC_DDA_02</td><td>PC 16:0_20:5</td><td>46</td><td></td></tr><tr><td>12</td><td>7.5474</td><td>703.5740</td><td>Pooled_QC_DDA_01, Pooled_QC_DDA_03</td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td>13</td><td>7.5956</td><td>744.5553</td><td>Pooled_QC_DDA_03</td><td>NAGly 26:6/20:4</td><td>40</td><td></td></tr><tr><td>14</td><td>7.6306</td><td>978.7609</td><td>Pooled_QC_DDA_02</td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td>15</td><td>7.7386</td><td>806.5682</td><td>Pooled_QC_DDA_01, Pooled_QC_DDA_02</td><td>1-Palmitoyl-2-docosahexaen</td><td>69</td><td></td></tr><tr><td>16</td><td>8.0444</td><td>782.5681</td><td>Pooled_QC_DDA_01, Pooled_QC_DDA_02</td><td>2-Oleoyl-1-palmitoyl-sn-glyc</td><td>53</td><td></td></tr></table> Match Structure	Project Peaks Table							RT [min] ▲	Base Ion [m/z] ▼	Files	Database Match	Score	Database Match Reference File	1	5.1252	801.6199	Pooled_QC_DDA_01				2	5.1821	480.4250	Pooled_QC_DDA_02				3	5.2102	1011.6716	Pooled_QC_DDA_01				4	5.3247	628.1934	Pooled_QC_DDA_03				5	5.3409	656.2302	Pooled_QC_DDA_02				6	5.9881	1015.7065	Pooled_QC_DDA_03	Tridodecylmethylammonium	65		7	6.0007	992.7359	Pooled_QC_DDA_02, Pooled_QC_DDA_01	Tridodecylmethylammonium	65		8	6.0066	993.7435	Pooled_QC_DDA_01				9	6.6765	701.5586	Pooled_QC_DDA_02, Pooled_QC_DDA_01				10	7.0671	871.7001	Pooled_QC_DDA_01	Didodecyldimethylammonium	56		11	7.2934	780.5535	Pooled_QC_DDA_02	PC 16:0_20:5	46		12	7.5474	703.5740	Pooled_QC_DDA_01, Pooled_QC_DDA_03				13	7.5956	744.5553	Pooled_QC_DDA_03	NAGly 26:6/20:4	40		14	7.6306	978.7609	Pooled_QC_DDA_02				15	7.7386	806.5682	Pooled_QC_DDA_01, Pooled_QC_DDA_02	1-Palmitoyl-2-docosahexaen	69		16	8.0444	782.5681	Pooled_QC_DDA_01, Pooled_QC_DDA_02	2-Oleoyl-1-palmitoyl-sn-glyc	53	
Project Peaks Table																																																																																																																															
	RT [min] ▲	Base Ion [m/z] ▼	Files	Database Match	Score	Database Match Reference File																																																																																																																									
1	5.1252	801.6199	Pooled_QC_DDA_01																																																																																																																												
2	5.1821	480.4250	Pooled_QC_DDA_02																																																																																																																												
3	5.2102	1011.6716	Pooled_QC_DDA_01																																																																																																																												
4	5.3247	628.1934	Pooled_QC_DDA_03																																																																																																																												
5	5.3409	656.2302	Pooled_QC_DDA_02																																																																																																																												
6	5.9881	1015.7065	Pooled_QC_DDA_03	Tridodecylmethylammonium	65																																																																																																																										
7	6.0007	992.7359	Pooled_QC_DDA_02, Pooled_QC_DDA_01	Tridodecylmethylammonium	65																																																																																																																										
8	6.0066	993.7435	Pooled_QC_DDA_01																																																																																																																												
9	6.6765	701.5586	Pooled_QC_DDA_02, Pooled_QC_DDA_01																																																																																																																												
10	7.0671	871.7001	Pooled_QC_DDA_01	Didodecyldimethylammonium	56																																																																																																																										
11	7.2934	780.5535	Pooled_QC_DDA_02	PC 16:0_20:5	46																																																																																																																										
12	7.5474	703.5740	Pooled_QC_DDA_01, Pooled_QC_DDA_03																																																																																																																												
13	7.5956	744.5553	Pooled_QC_DDA_03	NAGly 26:6/20:4	40																																																																																																																										
14	7.6306	978.7609	Pooled_QC_DDA_02																																																																																																																												
15	7.7386	806.5682	Pooled_QC_DDA_01, Pooled_QC_DDA_02	1-Palmitoyl-2-docosahexaen	69																																																																																																																										
16	8.0444	782.5681	Pooled_QC_DDA_01, Pooled_QC_DDA_02	2-Oleoyl-1-palmitoyl-sn-glyc	53																																																																																																																										

	アクション	結果
17	注： すべてのプロジェクトファイルは、ステップ 1 で選択したファイルの場所に保存される。	記載されたファイルの場所には、 • 結果のレビューを可能にするプロジェクトの.lcp ファイル。 • 処理されたクロマトグラムファイルの個別レビューを可能にする、処理されたクロマトグラムごとの.lca ファイル。 • CSV としてエクスポートするために選択されたピーク。  Lipids.lcp  Pooled_QC_DDA_03.lca  Pooled_QC_DDA_03_database_search.csv  Pooled_QC_DDA_03_peaks.csv