

KnowItAll ソフトウェアのトレーニング

KnowItAll ProcessIt と Minelt を使用した LC-MS データベース化

マニュアル LC-MS 分析

KnowItAll ProcessIt を使用して LC-MS のユーザーデータベースを構築する方法

目的

これらの演習では、KnowItAll ProcessIt を使用して LC-MS データから MS スペクトルを手動で解析・抽出する方法を示しています。

目標

これらのエクササイズを通じて、以下の内容を学ぶことができます：

- KnowItAll ProcessIt を使用して LC-MS データを処理する方法
- LC-MS データを Minelt にユーザーデータベースとして保存する方法

背景

KnowItAll ProcessIt ソフトウェアは、LC-MS データを表示し、ユーザーが MS スキャンを確認したり抽出したりすることができます。選択したスキャンは、将来の参照や検索のために Minelt のユーザーデータベースに転送することもできます。

このレッスンで使用されるトレーニングファイルは、以下の場所に保存されています


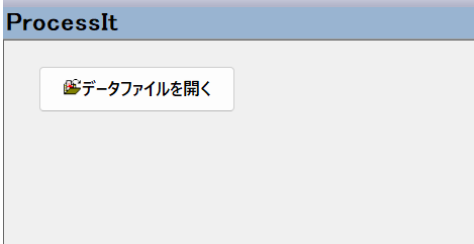
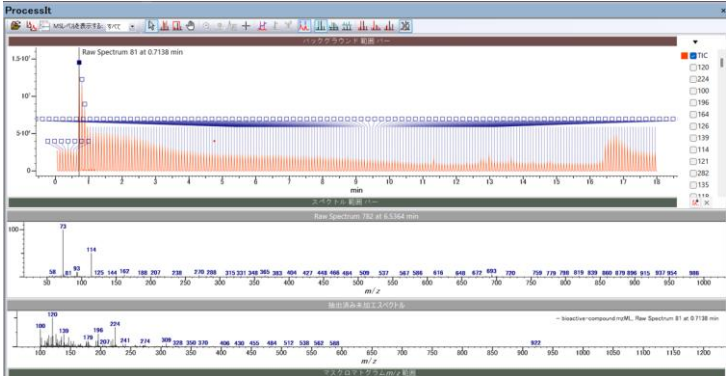
- ファイルのパスは以下です：
C:\Users\Public\Documents\Wiley\KnowItAll\Samples\LC-MS\bioactive-compound.mzML

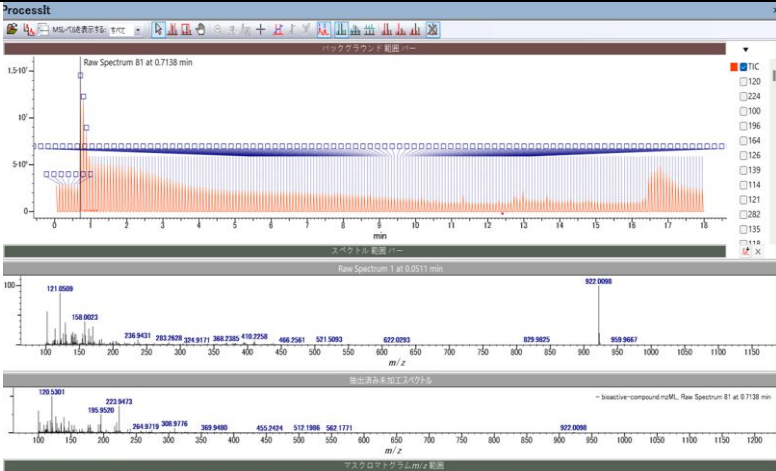
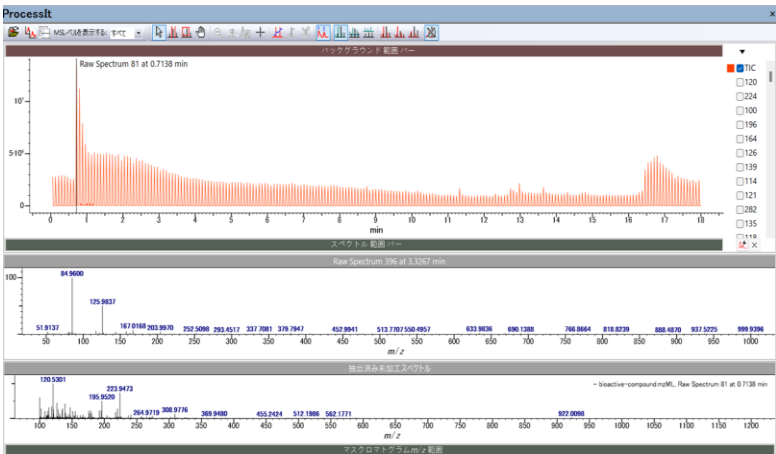
KnowItAll 使用アプリケーション

- KnowItAll ProcessIt
- KnowItAll Minelt

例：ProcessIt で MS1 データを確認する手順

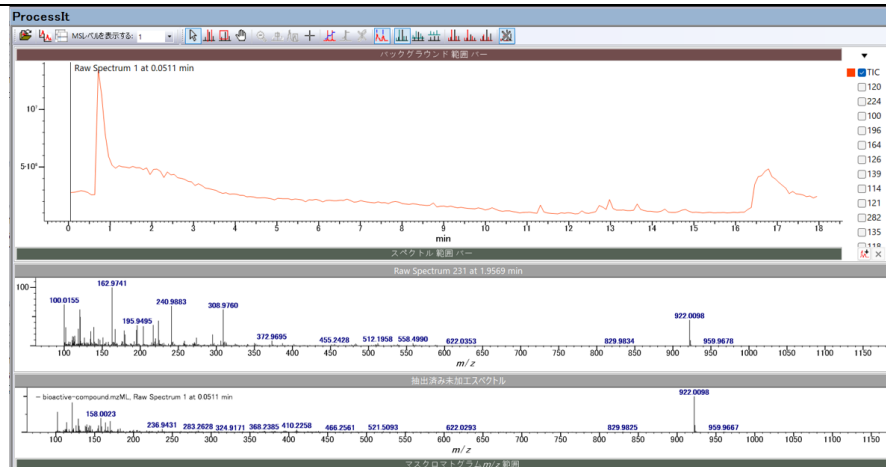
	アクション	結果
1	ProcessIt アプリケーションを開くため	ProcessIt アプリケーションが表示されます：

<p>に、通常はデータツールボックスにあるアイコンをクリックします。</p> 	
<p>2 「Open Data File (データファイルを開く)」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。 「bioactive-compound.mzML」を選択します。</p>	<p>ファイルは ProcessIt アプリケーションで開かれます：</p>  <ul style="list-style-type: none"> • 上部パネルにはクロマトグラムが表示されます。 • クロマトグラムの右側には、抽出された全イオンクロマトグラム (TICs) が表示される Mass Chromatogram List Pane (質量クロマトグラムリストパネル) があります。 • 中央の表示は Raw Spectrum (生スペクトル) パネルです。 • 下部の表示は Extracted Raw Spectrum (抽出された生スペクトル) パネルです。
<p>3 「View (表示)」 > 「Show Accurate Mass (正確な質量を表示)」を選択します。</p>	<p>質量は完全な精度で表示されています。</p>

	
<p>4 ピークボックスを非表示にするには、「表示」メニューの「クロマトグラム上のピーク」オプションのチェックを外します。</p>	<p>すると、クロマトグラム上にはもうピークボックスが表示されません：</p> 

	アクション	結果
5	「Display MS Level (MS レベルを表示)」の値を 1 に変更してください。	クロマトグラムの表示が MS レベル 1 に切り替わります：

注記：MS レベルは、標準ツールバーのフィルターで調整できます。



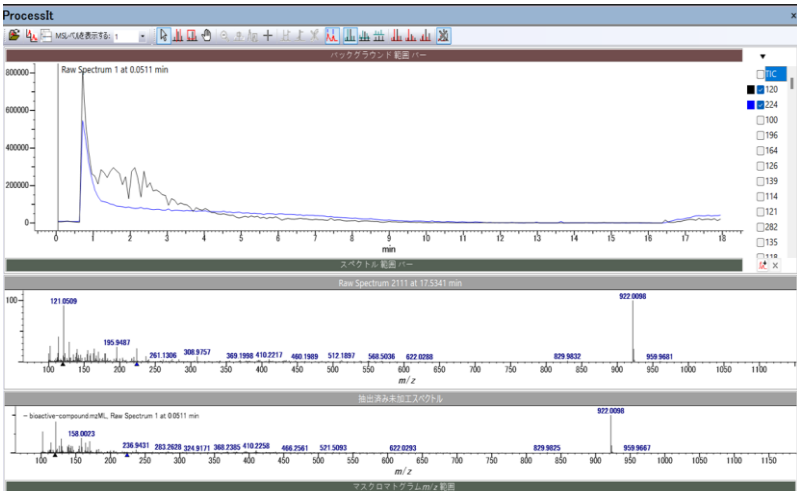

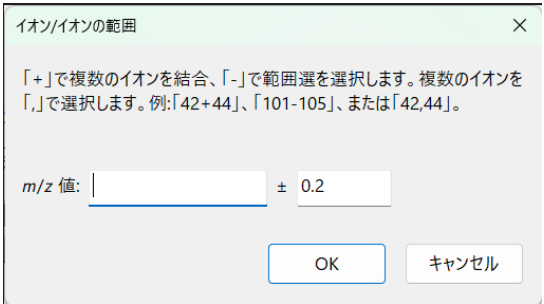
このフィルターを使用すると、MS レベル 1 の質量スペクトルのみが表示されます。


6 **Mass Chromatogram List Pane (質量クロマトグラムリストパネル)** には、抽出イオンクロマトグラム (EICs) が表示されます。**Mass Chromatogram List Pane (質量クロマトグラムリストパネル)** の上部にある矢印を使って m/z のソートを調整できます。

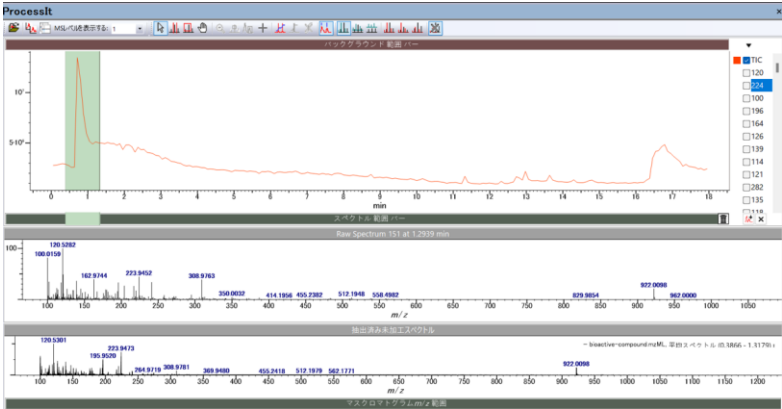
デフォルトでは、「Sort by maximum intensity (最大強度でソートする)」が選択されています：


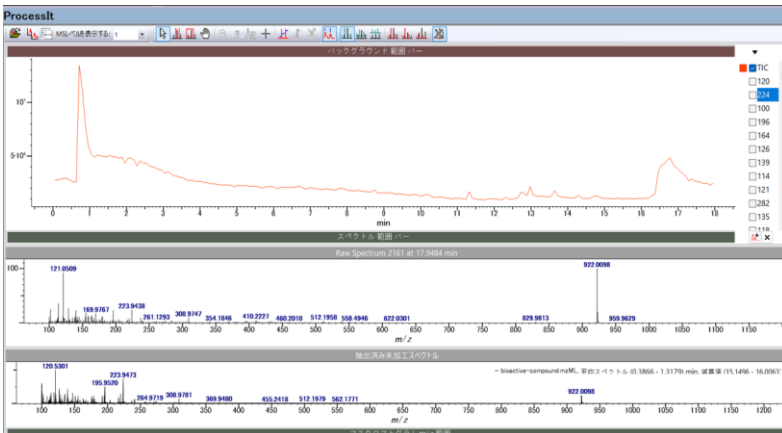


クロマトグラムの表示方法を調整することができます。豊度や m/z の昇順・降順でソートすることができます。


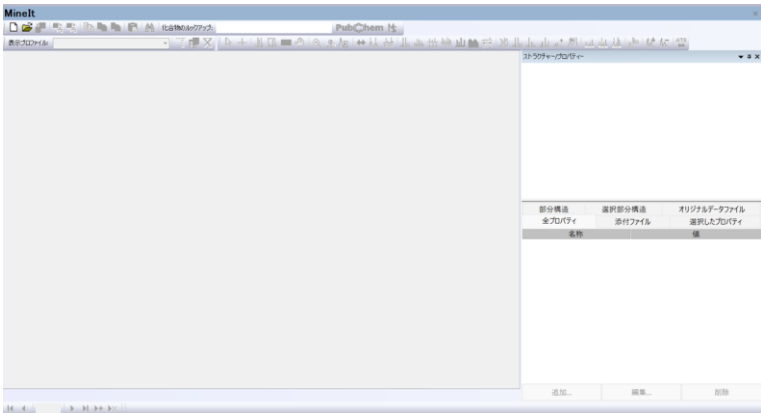
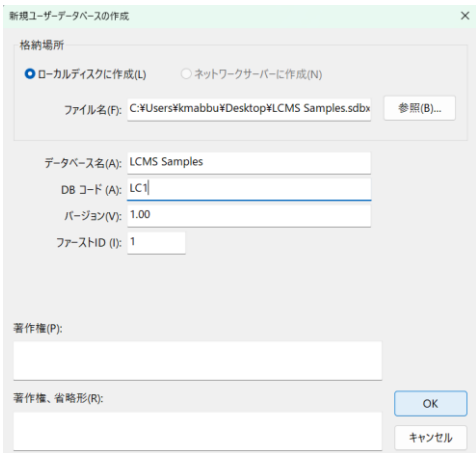
アクション	結果
<p>7 Mass Chromatogram List Pane (質量クロマトグラムリストパネル) の横にある「120」と「224」のボックスをクリックして選択します。また、「TIC」の横のボックスにはチェックを外します。</p>	<p>そうすることで、m/z 120 (黒色) と 224 (青色) の EIC が表示されますが、TIC は表示されなくなります：</p> 
<p>8 Mass Chromatogram List Pane (質量クロマトグラムリストパネル) の「+」アイコンをクリックします。</p> 	<p>すると、Ion(s)/Ion Ranges (イオン/イオン範囲) ダイアログが表示されます：</p>  <p>このダイアログを使用することで、手動で EIC を抽出することができます。</p>

	アクション	結果
9	ダイアログを閉じるためには、「キャンセル」をクリックします。 Mass Chromatogram List Pane (質量クロマトグラムリストパネル) の「TIC」の横のボックスに再度チェックを入れ、イオンの「120」と「224」の横のボックスのチェックを外します。	<p>Ion(s)/Ion Ranges (イオン/イオン範囲) ダイアログは閉じられます。TIC が表示されます：</p> 
10	マウスカーソルをクリックせずに、クロマトグラム上をマウスカーソルで移動します。	マウスがスペクトル上を移動すると、対応する時間点の生の MS スペクトルが Raw Spectrum (生スペクトル) パネルに表示されます。マウスカーソルの位置に応じて生の MS スペクトルが動的に更新されます。
11	任意の時間点でクロマトグラム上のポイントを選択し、左クリックします。	選択した時間点の質量スペクトルが Extracted Raw Spectrum (抽出された生スペクトル) パネルに表示されます。

	アクション	結果
12	<p>Average Range Bar (平均範囲バー) をクリックし、左ボタンを押しながらピークの幅全体にドラッグします。マウスボタンを離します。</p> <p>注記: 複数の範囲を選択することもできます。</p>	<p>選択した平均範囲は、クロマトグラム上に緑色のバーで表示されます:</p>  <p>平均範囲バーは、選択した領域の平均質量スペクトルを作成し、Extracted Raw Spectrum (抽出された生スペクトル) パネルに表示されます。</p>

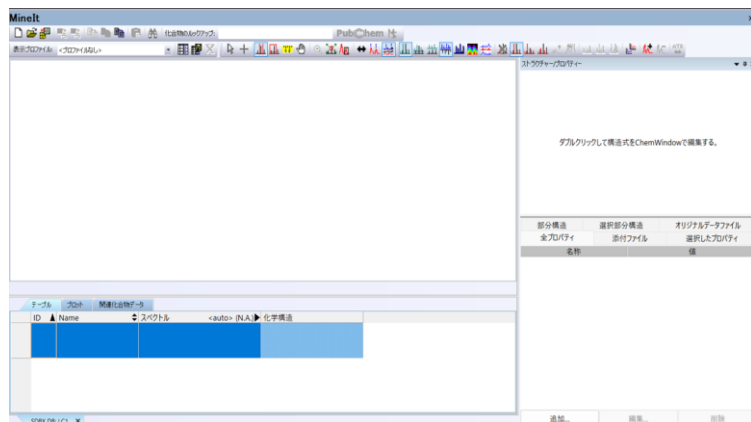
アクション	結果
<p>13 バックグラウンド範囲バーをクリックし、マウスボタンを左クリックしながら基線の一部をドラッグします。マウスボタンを離します。</p>	<p>選択したバックグラウンド範囲は、クロマトグラム上に赤色のバーで表示されます：</p>  <p>バックグラウンド範囲バーは、Extracted Raw Spectrum (抽出された生スペクトル) パネルの平均質量スペクトルから引かれる背景質量スペクトルを選択するために使用されます。</p>
<p>14 平均範囲バーとバックグラウンド範囲バーのゴミ箱アイコンをクリックして、選択した平均範囲を削除します。</p> 	<p>選択した範囲が削除されます：</p> 

例：ユーザーデータベースに **MS2** データを抽出

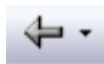
	アクション	結果
15	<p>Minelt アプリケーションを開くには、通常、データツールボックスにあるアイコンをクリックします。</p> 	<p>Minelt アプリケーションが表示されます。</p> 
16	<p>「データベース」>「新規作成」を選択し、新しいデータベース作成ダイアログで参照をクリックします。ファイルに名前を付け（例：「LCMS サンプル」）、保存する場所を選び、「保存」をクリックします。新しいデータベース作成ダイアログで、「データベース略称」に「LC1」と入力してください。</p> <p>注記：「データベース略称」は、少なくとも 3 文字以上の略称を入力してください。</p>	<p>新しいデータベース作成ダイアログが開かれます。データベースには名前と略称が設定されます：</p> 
	アクション	結果

17 空のユーザーデータベースを保存するには、「OK」をクリックしてください。

新しいデータベース作成ダイアログが閉じられ、Minelt 上に空のデータベースが表示されます：

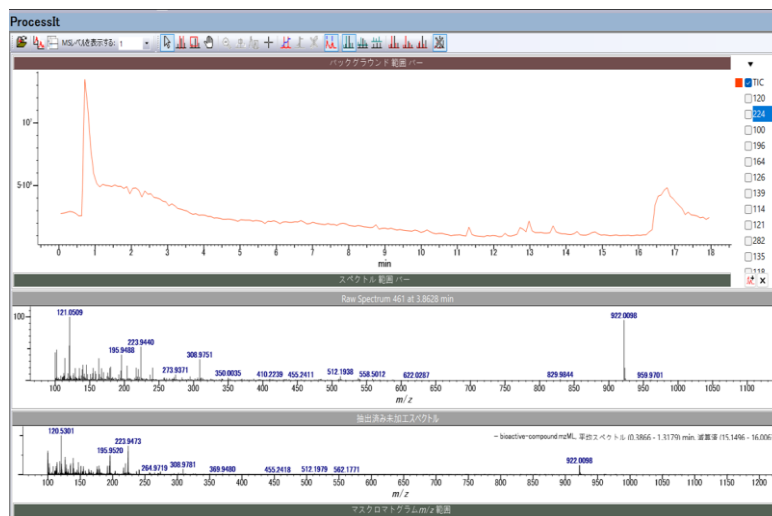


18 「前のアプリケーション」ボタンをクリックして、ProcessIt に戻ることができます。



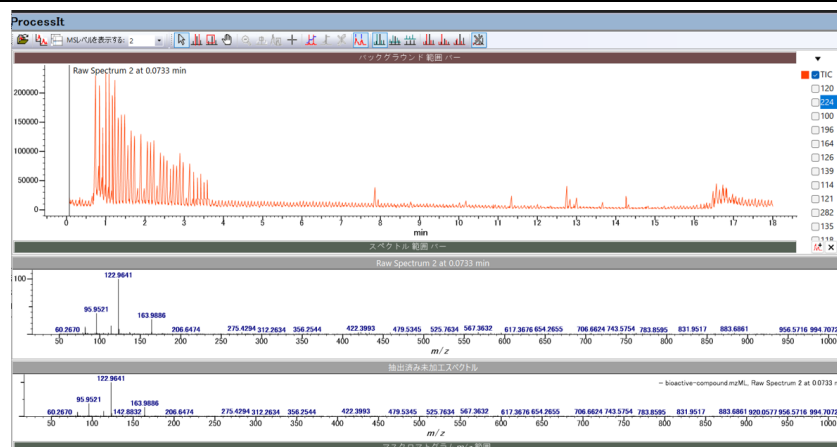
注記：「前のアプリケーション」と「次のアプリケーション」ボタンを使えば、最近使用したアプリケーション間をスムーズに移動できます。

ProcessIt からのクロマトグラムが表示されています：



	アクション	結果
19	「Display MS Level (MS レベルを表	これにより、クロマトグラム内に MS レベル 2 の質量スペクトルが表示されます：

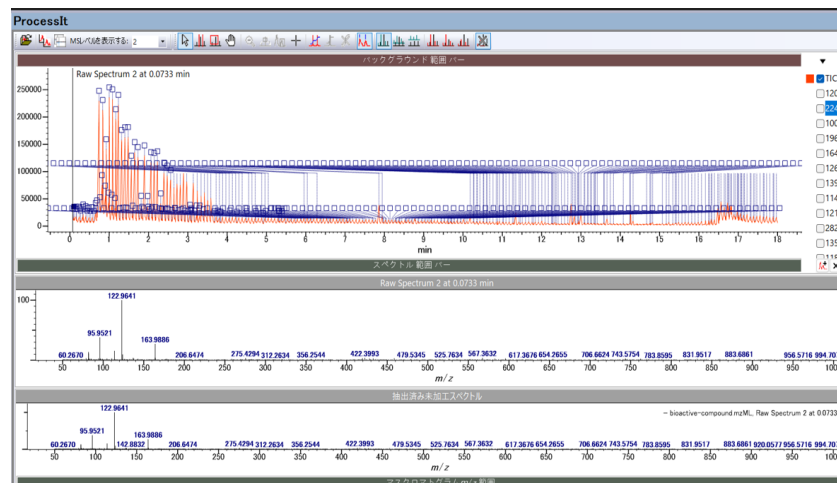
示)」の値を2に変更してください。



このフィルターを使用すると、MS レベル 2 の質量スペクトルのみが表示されます。

20 「表示」>「クロマトグラム上のピーク」を選択して、ピークのラベルの表示を再度オンにしてください。

クロマトグラム上にはピークのラベルが表示されています：

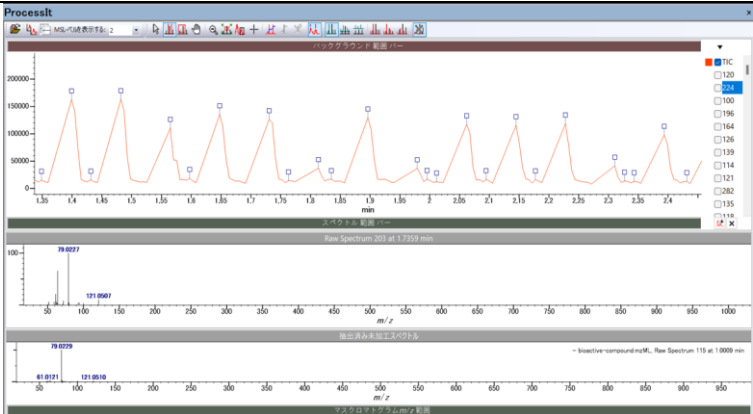
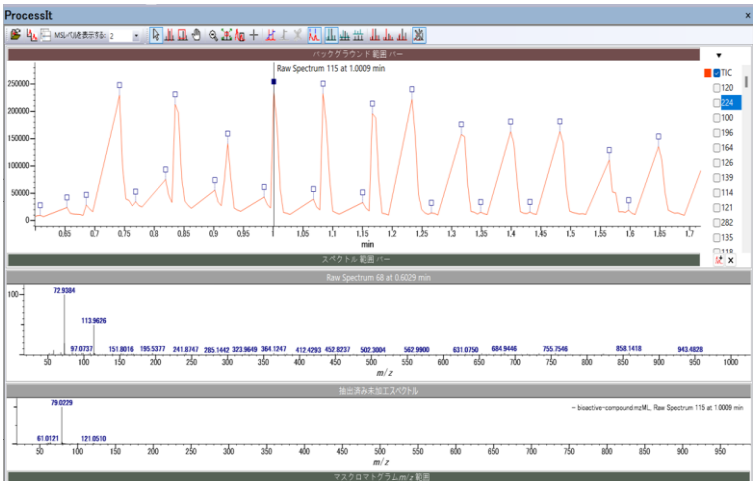


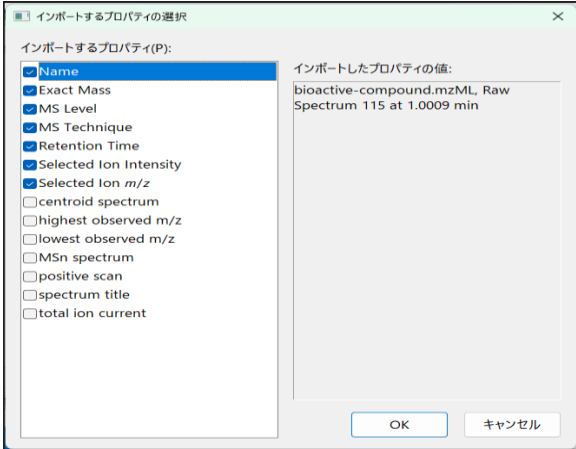
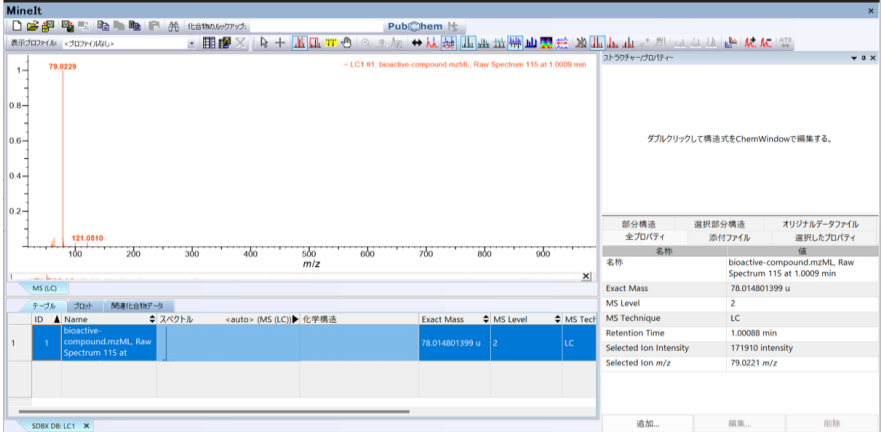
アクション

結果

21 スペクトル上で右クリックし、**水平ズームモード**を選択してください。左クリッ

すると、表示が約 1 分前後で拡大されます：

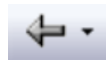
	<p>クしてマウスボタンを押し、約 1 分前後の領域をドラッグしてください。マウスボタンを離してください。クロマトグラム上で右クリックし、選択モードを選んでください。</p> 	
<p>22 クロマトグラム上の任意のピークボックスをクリックしてください。</p>	<p>選択した MS スペクトルが抽出された生スペクトルパネルに表示されます：</p> 	<p>結果</p>
<p>23 「Transfer to bar (バーに移動)」をクリックして、「Minelt Database」を選</p>	<p>すると、バーに移動が表示されます：</p>	

<p>択してください：</p>	<p>Transfer to: ReportIt SearchIt Minelt Database QC Expert</p> <p>次に、「プロパティインポート選択」ダイアログが表示されます：</p> 																											
<p>24 「プロパティインポート選択」ダイアログで「OK」をクリックしてください。</p>	<p>すると、MS2 スペクトルがユーザーデータベースに追加されます：</p>  <table border="1" data-bbox="1302 1071 1585 1286"> <thead> <tr> <th>部分構造 全プロパティ</th> <th>選択部分構造 添付ファイル</th> <th>オリジナルデータファイル 選択したプロパティ</th> </tr> <tr> <th>名称</th> <th>値</th> <th></th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>名称</td> <td>bioactive-compound.mzML, Raw Spectrum 115 at 1.0009 min</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Exact Mass</td> <td>78.014801399 u</td> <td></td> </tr> <tr> <td>MS Level</td> <td>2</td> <td></td> </tr> <tr> <td>MS Technique</td> <td>LC</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Retention Time</td> <td>1.00088 min</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Selected Ion Intensity</td> <td>171910 intensity</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Selected Ion m/z</td> <td>79.0221 m/z</td> <td></td> </tr> </tbody> </table>	部分構造 全プロパティ	選択部分構造 添付ファイル	オリジナルデータファイル 選択したプロパティ	名称	値		名称	bioactive-compound.mzML, Raw Spectrum 115 at 1.0009 min		Exact Mass	78.014801399 u		MS Level	2		MS Technique	LC		Retention Time	1.00088 min		Selected Ion Intensity	171910 intensity		Selected Ion m/z	79.0221 m/z	
部分構造 全プロパティ	選択部分構造 添付ファイル	オリジナルデータファイル 選択したプロパティ																										
名称	値																											
名称	bioactive-compound.mzML, Raw Spectrum 115 at 1.0009 min																											
Exact Mass	78.014801399 u																											
MS Level	2																											
MS Technique	LC																											
Retention Time	1.00088 min																											
Selected Ion Intensity	171910 intensity																											
Selected Ion m/z	79.0221 m/z																											
<p>アクション</p>	<p>結果</p>																											
<p>25 注記：「Structure/PropertiesTable (構造/プロパティテーブル)」の「編集」を</p>	<p>「Name (名前)」プロパティを選択し、「編集」をクリックすると、レコード名を変更するためのプロパティダイアログが表示されます：</p>																											

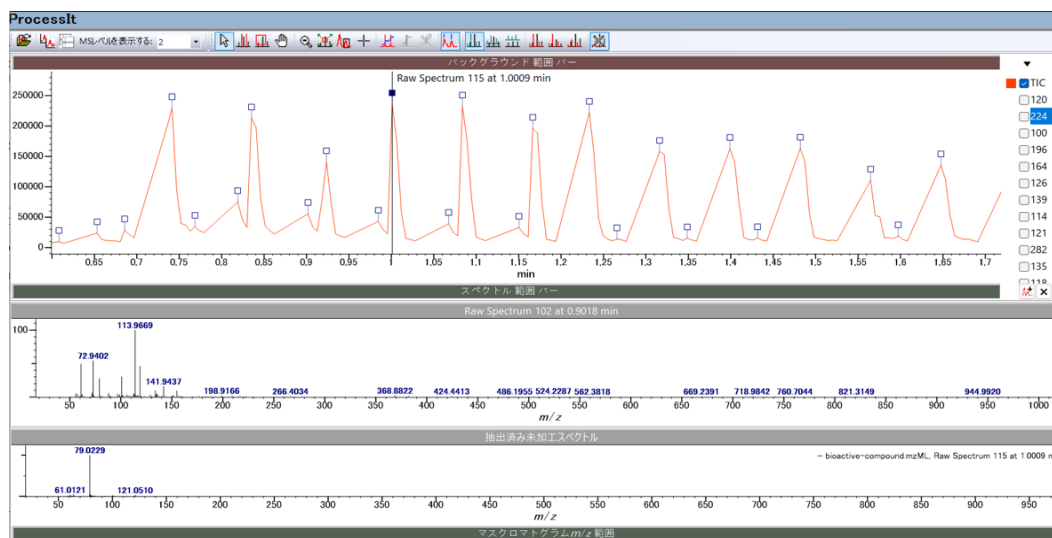
クリックするか、テーブルのセルをダブルクリックすることで、レコードのプロパティを変更することができます。

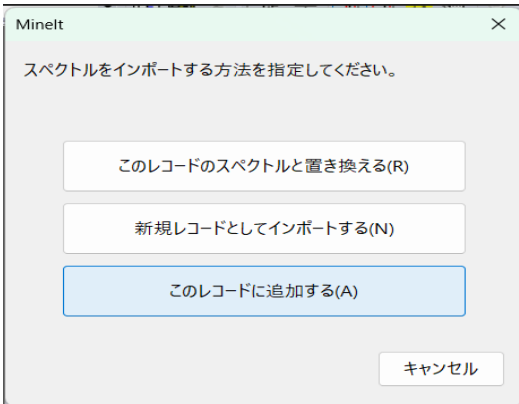
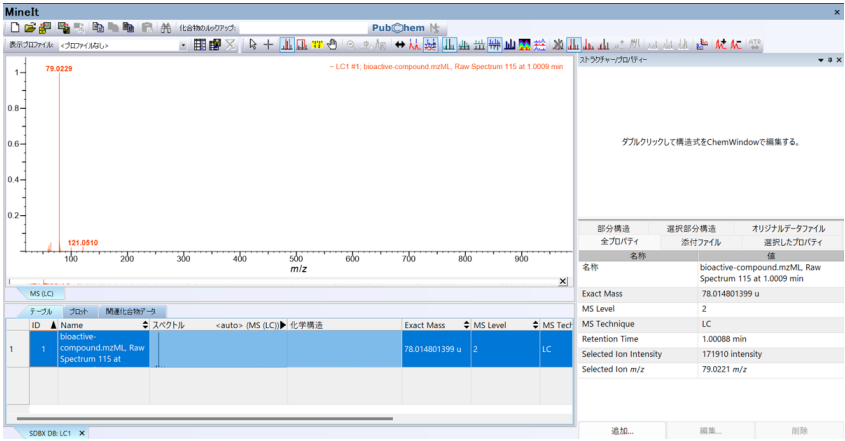
注記：もし構造が分かっている場合は、「**Structure/Properties (構造/プロパティ)**」パネルで「Chem Window で構造を編集するにはダブルクリック」という項目をダブルクリックすることで追加できます。

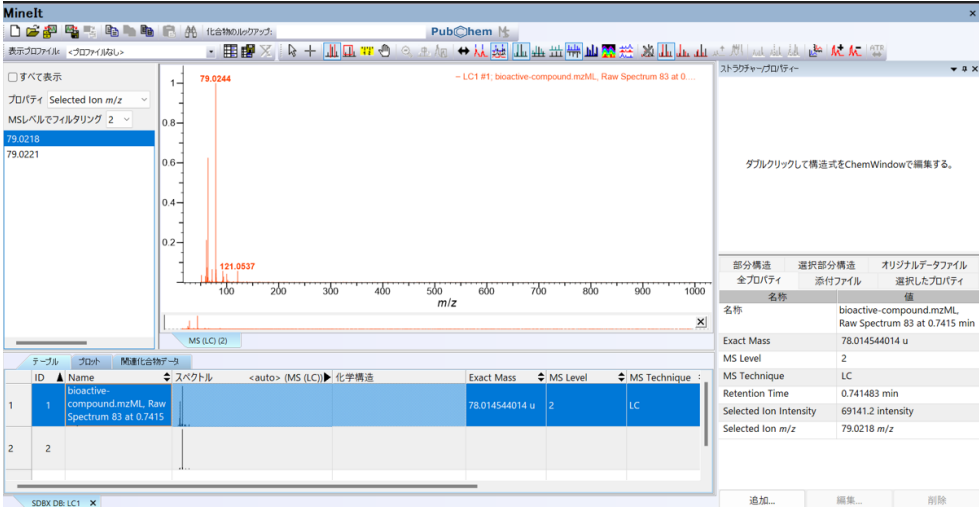
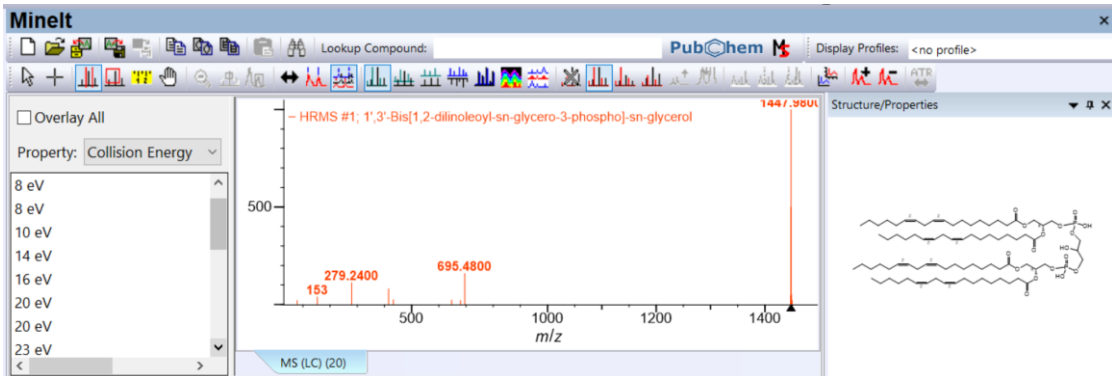
26 MS2 スペクトルをユーザーデータベースに追加するためには、**前のアプリケーションボタン**を使って **ProcessIt**に戻ってください。

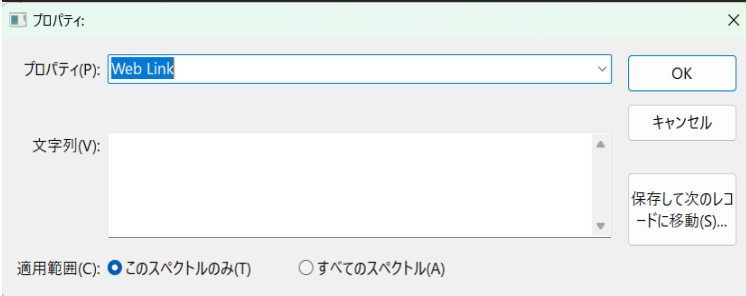
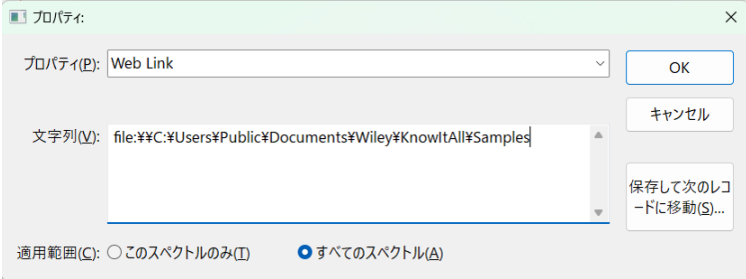


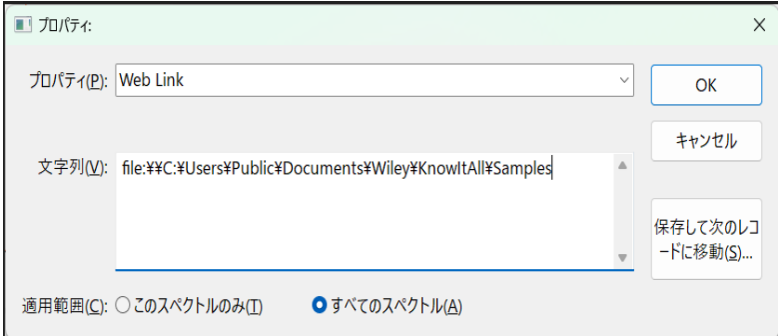
ProcessIt 上ではクロマトグラムが表示されます：



	アクション	結果																														
27	<p>クロマトグラム上の別のピークボックスをクリックしてください。Transfer to bar (バーに移動) で MineltDatabase を選択してください。</p> <p>注記：もし、MS2 スペクトルを転送する前に Minelt ユーザーデータベースでレコードが選択されていた場合、Property Import Selection (プロパティインポート選択) ダイアログの前に Minelt インポートダイアログが表示されます。</p>	<p>別のレコードをデータベースに追加する際は、Minelt ダイアログが起動されます：</p> 																														
28	<p>Minelt インポートダイアログで「このレコードに追加」を選んでください。Property Import Selection (プロパティインポート選択) ダイアログでは、「OK」をクリックしてください。</p>	<p>すると、複数のスペクトルを含むレコードが作成されます。アクティブなスペクトルの横にはプロパティ選択メニューが表示されます。LC-MS スペクトルの合計数はタブにまとめられて表示されます (MS (LC) = 2) :</p>  <table border="1" data-bbox="1291 1133 1549 1291"> <thead> <tr> <th>部分構造</th> <th>選択部分構造</th> <th>オリジナルデータファイル</th> </tr> <tr> <th>全プロパティ</th> <th>添付ファイル</th> <th>選択したプロパティ</th> </tr> <tr> <th colspan="3">名前</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>名称</td> <td>bioactive-compound.msML_Raw</td> <td>Spectrum 115 at 1.0009 min</td> </tr> <tr> <td>Exact Mass</td> <td colspan="2">78.014801399 u</td> </tr> <tr> <td>MS Level</td> <td colspan="2">2</td> </tr> <tr> <td>MS Technique</td> <td colspan="2">LC</td> </tr> <tr> <td>Retention Time</td> <td colspan="2">1.00088 min</td> </tr> <tr> <td>Selected Ion Intensity</td> <td colspan="2">171910 intensity</td> </tr> <tr> <td>Selected Ion m/z</td> <td colspan="2">79.0221 m/z</td> </tr> </tbody> </table>	部分構造	選択部分構造	オリジナルデータファイル	全プロパティ	添付ファイル	選択したプロパティ	名前			名称	bioactive-compound.msML_Raw	Spectrum 115 at 1.0009 min	Exact Mass	78.014801399 u		MS Level	2		MS Technique	LC		Retention Time	1.00088 min		Selected Ion Intensity	171910 intensity		Selected Ion m/z	79.0221 m/z	
部分構造	選択部分構造	オリジナルデータファイル																														
全プロパティ	添付ファイル	選択したプロパティ																														
名前																																
名称	bioactive-compound.msML_Raw	Spectrum 115 at 1.0009 min																														
Exact Mass	78.014801399 u																															
MS Level	2																															
MS Technique	LC																															
Retention Time	1.00088 min																															
Selected Ion Intensity	171910 intensity																															
Selected Ion m/z	79.0221 m/z																															

	アクション	結果																														
29	<p>プロパティ選択メニューで、「(Selected Ion m/z) 選択されたイオン m/z」を選ぶために、プロパティ選択のドロップダウンメニューを使用してください。</p> <p>注記：プロパティ選択のドロップダウンメニューには、レコード全体に関連付けられたプロパティの一覧が表示されます。選択したスペクトルに選択したプロパティの値が存在しない場合、その代わりにスペクトル番号が表示されます。</p>	<p>選択したイオンの m/z 値に基づいて、プロパティ選択メニューには複数の MS スペクトルが表示されます：</p>  <table border="1" data-bbox="1423 613 1682 799"> <thead> <tr> <th>部分構造</th> <th>選択部分構造</th> <th>オリジナルデータファイル</th> </tr> <tr> <th>全プロパティ</th> <th>添付ファイル</th> <th>選択したプロパティ</th> </tr> <tr> <th>名称</th> <th></th> <th>値</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>名称</td> <td>bioactive-compound.mzML</td> <td>Raw Spectrum 83 at 0.7415 min</td> </tr> <tr> <td>Exact Mass</td> <td>78.014544014 u</td> <td></td> </tr> <tr> <td>MS Level</td> <td>2</td> <td></td> </tr> <tr> <td>MS Technique</td> <td>LC</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Retention Time</td> <td>0.741483 min</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Selected Ion Intensity</td> <td>69141.2 intensity</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Selected Ion m/z</td> <td>79.0218 m/z</td> <td></td> </tr> </tbody> </table>	部分構造	選択部分構造	オリジナルデータファイル	全プロパティ	添付ファイル	選択したプロパティ	名称		値	名称	bioactive-compound.mzML	Raw Spectrum 83 at 0.7415 min	Exact Mass	78.014544014 u		MS Level	2		MS Technique	LC		Retention Time	0.741483 min		Selected Ion Intensity	69141.2 intensity		Selected Ion m/z	79.0218 m/z	
部分構造	選択部分構造	オリジナルデータファイル																														
全プロパティ	添付ファイル	選択したプロパティ																														
名称		値																														
名称	bioactive-compound.mzML	Raw Spectrum 83 at 0.7415 min																														
Exact Mass	78.014544014 u																															
MS Level	2																															
MS Technique	LC																															
Retention Time	0.741483 min																															
Selected Ion Intensity	69141.2 intensity																															
Selected Ion m/z	79.0218 m/z																															
30	<p>注記：プロパティ選択のドロップダウンメニューは、複数のスペクトルを持つレコードを整理するのに役立ちます。例えば、表示されているデータベースの例では、同じ化合物について異なる衝突エネルギーで取得された LC-MS スペクトルが 20 個あります。</p>	<p>「1',3'-Bis[1,2-ジリノレオイル-sn-グリセロ-3-ホスホ]-sn-グリセロール」という化合物に関して、異なる衝突エネルギーで計測された 20 個の LC-MS スペクトルを持つ例のレコードです：</p> 																														
	アクション	結果																														

<p>31</p>	<p>Minelt のレコードを選択した状態で、構造/プロパティテーブルで「追加」をクリックします。プロパティダイアログで、「Web リンク」に移動してください。</p> <p>注記：原始のクロマトグラムファイルやフォルダを Minelt のレコードに添付するために、「Web リンク」プロパティを使用することができます。これにより、ファイルの整理が便利になります。</p>	<p>プロパティダイアログが開かれ、現在「Web リンク」が選択されています：</p> 																																	
<p>32</p>	<p>値のボックスには、「file:\」と入力し、その後フォルダのパスをコピー&ペーストしてください。例えば、「file:\ここにパスを入力」となります。プロパティのスコープは、「すべてのスペクトル」を選択してください。</p> <p>注記：フォルダのパスに余計な文字（余分なスペースなど）が含まれていないことを確認してください。</p>	<p>例：テキストを使用した場合は、「file://C:/Users/Public/Documents/Wiley/KnowItAll/Samples」となります。</p> 																																	
<p>33</p>	<p>プロパティダイアログで「OK」をクリックしてください。</p>	<p>レコードのプロパティテーブルには Web リンクが表示されます：</p> <table border="1" data-bbox="724 1039 1197 1307"> <thead> <tr> <th>部分構造</th> <th>選択部分構造</th> <th>オリジナルデータファイル</th> </tr> <tr> <th>全プロパティ</th> <th>添付ファイル</th> <th>選択したプロパティ</th> </tr> <tr> <th>名称</th> <th>名称</th> <th>値</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>名称</td> <td></td> <td>bioactive-compound.mzML Raw Spectrum 83 at 0.7415 min</td> </tr> <tr> <td>Exact Mass</td> <td></td> <td>78.014544014 u</td> </tr> <tr> <td>MS Level</td> <td></td> <td>2</td> </tr> <tr> <td>MS Technique</td> <td></td> <td>LC</td> </tr> <tr> <td>Retention Time</td> <td></td> <td>0.741483 min</td> </tr> <tr> <td>Selected Ion Intensity</td> <td></td> <td>69141.2 intensity</td> </tr> <tr> <td>Selected Ion m/z</td> <td></td> <td>79.0218 m/z</td> </tr> <tr> <td>Web Link</td> <td></td> <td>file://C:/Users/Public/Documents/Wiley/KnowItAll/Samples</td> </tr> </tbody> </table> <p>追加... 編集... 削除</p>	部分構造	選択部分構造	オリジナルデータファイル	全プロパティ	添付ファイル	選択したプロパティ	名称	名称	値	名称		bioactive-compound.mzML Raw Spectrum 83 at 0.7415 min	Exact Mass		78.014544014 u	MS Level		2	MS Technique		LC	Retention Time		0.741483 min	Selected Ion Intensity		69141.2 intensity	Selected Ion m/z		79.0218 m/z	Web Link		file://C:/Users/Public/Documents/Wiley/KnowItAll/Samples
部分構造	選択部分構造	オリジナルデータファイル																																	
全プロパティ	添付ファイル	選択したプロパティ																																	
名称	名称	値																																	
名称		bioactive-compound.mzML Raw Spectrum 83 at 0.7415 min																																	
Exact Mass		78.014544014 u																																	
MS Level		2																																	
MS Technique		LC																																	
Retention Time		0.741483 min																																	
Selected Ion Intensity		69141.2 intensity																																	
Selected Ion m/z		79.0218 m/z																																	
Web Link		file://C:/Users/Public/Documents/Wiley/KnowItAll/Samples																																	
<p>アクション</p>		<p>結果</p>																																	
<p>34</p>	<p>レコードの Web リンク をクリックして</p>	<p>指定されたパスのフォルダがファイルエクスプローラーで開かれます。</p>																																	

	ください。
35	<p>注記：Web リンクプロパティは、LC-MS 実験に関連するさまざまなファイル（.xlsx、.csv、.docx など）を整理するために使用できます。これらのファイルは、添付ファイルタブを使用してレコードに添付することもできます。添付する場合は、添付ファイルタブを開き、「追加」ボタンをクリックしてください。</p> <p>CSV ファイルを Web リンクを使用して添付する例： file:\\C:\Users\Public\Documents\Wiley\KnowItAll\Samples\Minelt\Import.csv</p>  <p>CSV ファイルを添付ファイルを使用して添付する例：</p> 