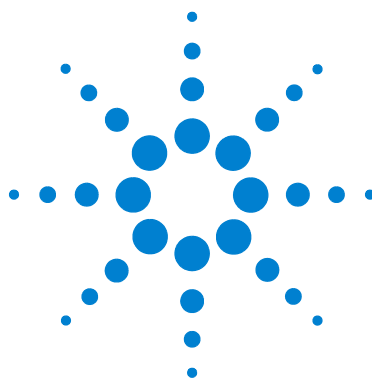




Agilent MassHunter
ワークステーション
ソフトウェア
定性分析

ファミリアリゼーション
ガイド



Agilent Technologies

注意

© Agilent Technologies, Inc. 2009

このマニュアルの内容は米国著作権法および国際著作権法によって保護されており、Agilent Technologies, Inc. の書面による事前の許可なく、このマニュアルの一部または全部をいかなる形態（電子データやデータの抽出または他国語への翻訳など）あるいはいかなる方法によっても複製することが禁止されています。

マニュアル番号

G3335-96060

エディション

第 3 版、2009 年 6 月

第 2 版、2008 年 10 月

Printed in USA

Agilent Technologies, Inc.
5301 Stevens Creek Blvd.
Santa Clara, CA 95051 USA

Microsoft は、Microsoft Corporation の米国の登録商標です。

ソフトウェアリビジョン

このガイドは、改定されるまで Agilent MassHunter ワークステーション ソフトウェア - 定性分析プログラムの B0.020.00 以降のリビジョンに対応しています。

このガイドに関してのご質問は、feedback_lcms@agilent.com 宛に電子メールでお問い合わせください。

保証

このマニュアルの内容は「現状のまま」提供されることを前提としており、将来の改訂版で予告なく変更されることがあります。また、Agilent は適用される法律によって最大限許される範囲において、このマニュアルおよびそれに含まれる情報に関し、商品の適格性や特定用途に対する適合性への暗黙の保障を含み、また、それに限定されないすべての保証を明示的か暗黙的かを問わず、一切いたしません。Agilent は、このマニュアルまたはこのマニュアルに記載されている情報の提供、使用または実行に関連して生じた過誤、付随的損害あるいは間接的損害に対する責任を一切負いません。Agilent とお客様の間に書面による別の契約があり、このマニュアルの内容に対する保証条項がここに記載されている条件と矛盾する場合は、別に合意された契約の保証条項が適用されます。

技術ライセンス

本書で扱っているハードウェアおよびソフトウェアは、ライセンスに基づき提供されており、それらのライセンス条項に従う場合のみ使用または複製することができます。

安全にご使用いただくために

注意

注意は、取り扱い上、危険があることを示します。正しく実行しなかったり、指示を遵守しないと、製品を破損や重要なデータの損失にいたるおそれのある操作手順や行為に対する注意を促すマークです。指示された条件を十分に理解し、条件が満たされるまで、**注意**を無視して先に進んではなりません。

警告

警告は、取り扱い上、危険があることを示します。正しく実行しなかったり、指示を遵守しないと、人身への傷害または死亡にいたるおそれのある操作手順や行為に対する注意を促すマークです。指示された条件を十分に理解し、条件が満たされるまで、**警告**を無視して先に進んではなりません。

このガイドでは ...

このガイドには、Agilent MassHunter ワークステーション ソフトウェア - 定性分析の使い方を学習するための情報が含まれています。

実習を始める前に、7 ページの「[これらの実習を開始する前に](#)」の説明を読んでください。

実習 1 定性分析の基礎の学習

この実習では、定性分析プログラムの多くの機能の一部を学習します。使用するデータタイプに関わらず、これらのタスクは重要です。

実習 2 化合物の検出と同定

この実習では、複雑なマトリックス中の低濃度サルファ剤を検出および同定し、TOF と Q-TOF の両データに対して化学式を作成します。TOF と Q-TOF の両データを用いた、タンパク質消化物の **Molecular Feature Extraction** も行います。トリプル四重極データでも、これらのタスクを実行できます。

実習 3 異なるワークフローでの定性分析メソッドの設定と実行

この実習では、定性分析メソッドの設定および実行を学習します。そして、解析や化合物同定を自動化するためのメソッドの編集も学習します。その後、データファイルを開くときに、メソッドから自動的に処理を実行します。そして、ワークリストを用いて自動化を実行するメソッドの作成も学習します。各タスクは異なるワークフローを使用して行います。

リファレンス

この章では、定性分析プログラムに関する基本の一部を学習します。

最新情報

B.02.00（定性分析）

- **Agilent MassHunter BioConfirm** ソフトウェアをサポートします。
このソフトウェアでは、シーケンスの作成、編集、インポート、さらにシーケンスの一致を行うことができます。シーケンスはワークリストのタンパク質の列で使用できます。また **Chemical Data Dictionary Editor** が新たに含まれました。
- **BioConfirm** を含む、4 つの異なるワークフローをサポートします。
各ワークフローにはそれぞれのメソッド、レイアウト、メソッドエクスプローラの特有セクションがあり、タスクの操作を容易にします。
- UVクロマトグラムの積分時にシステム適合性の計算が可能になりました。異なる薬局方が指定できます。
- ピークスペクトルの抽出時に、指定した時間範囲から平均スペクトルを自動的に除去できます。
- 電荷の状態を決定するときに、一般的な有機分子、ペプチド、特徴づけしないの 3 つの異なる同位体モデルをサポートします。
- 電荷の状態を決定するときに、電荷が割り当てられていないイオンを 1 価のイオンとして扱うように指定できます。
- 最大エントロピーデコンボリユートでより明瞭なスペクトルを作成することができます。また、繰り返し数を増やし、幅を指定できます。
- 分離された同位体を持つ化合物に、新しいデコンボリユートである [分離された同位体] アルゴリズムを使用してデコンボリユートできます。
- [Molecular Feature による化合物の検出] アルゴリズムで 3 つの異なるターゲットデータタイプが使用できます。
- [Molecular Feature による化合物の検出] アルゴリズムで検出された化合物が MHD ファイルに書き込まれる前に、フィルタリングできます。この MHD ファイルは Mass Profiler と GeneSpring で使用されます。
- [Molecular Feature による化合物の検出] アルゴリズム使用時に EIC と未処理スペクトルを自動的に抽出可能です。
- [Molecular Feature による化合物の検出] アルゴリズムに除外または含める質量をリストとして指定できます。リストを直接入力することもできますし、使用するデータベースを指定することもできます。

- **[Molecular Feature による化合物の検出]** アルゴリズムで電荷の状態を決定するとき、電荷が割り当てられていないイオンを 1 価として扱うように指定できます。
- **[Molecular Feature による化合物の検出]** アルゴリズムの結果に、イオンが 1 つのみのイオンを含めるかどうかを指定できます。
- **[化学式による化合物の検出]** アルゴリズムで、サンプル純度計算が使用できます。面積または高さを基に計算することができ、[TIC %]、[EIC/TIC %]、[ADC %]、[UV A %]、[UV B %]、[UV C %]、[TWC %] のいずれかのアルゴリズムを使用することもできます。
- **[データベース検索]** アルゴリズムにおいて、スコアリングは単一同位体イオンの精密質量、同位体質量差、そして同位体比に基づいています。全体スコアの計算時に、これらの 3 つのスコアの重み付けを行います。
- **[Molecular Feature による化合物の検出]** アルゴリズムが、特殊な場合にも対応できるようになりました。特殊なパターンを持つ多数の同位体がある化合物や、アバンダンスが低い最初の同位体化合物の検出もできます。
- **[Molecular Feature による化合物の検出]** アルゴリズムで、全体スコアの計算時に、スコアの重み付けを行います。これには、質量スコア、同位体存在比スコア、同位体質量差スコアという 3 種類があります。
- **[化合物自動化]** アルゴリズムに [シーケンスを一致] オプションが追加されました。同定された化合物のみを含めるかどうかも指定できます。
- **Microsoft PDF Generator** アドインを使用して、レポートを PDF ファイルで保存できます。この **Excel 2007** のアドインは **Microsoft** から無料でダウンロードできます。
- **ASR**、化合物サマリ **CSV**、**MGF**、**mzData** のフォーマットでエクスポートできます。**ASR** フォーマットにはサンプル純度での化学式による検出結果が含まれます (1 つのデータファイルにつき 1 つのファイルでエクスポートすることも、1 つのファイルにまとめて (マージ) エクスポートすることもできます)。化合物サマリ **CSV** フォーマットには質量リストが含まれます (1 つのデータファイルにつき 1 つのファイルでエクスポートすることも、1 つのファイルにまとめて (マージ) エクスポートすることもできます)。**MGF** フォーマットには **MS/MS** スペクトルおよびプリカーサを持つペプチドが含まれます (1 つのデータファイルにつき 1 つのファイルでエクスポートすることも、1 つのファイルにまとめて (マージ) エクスポートすることもできます)。**mzData** フォーマットに使用できるオプションが増えました。

- グラフィックを印刷する場合、すべてのグラフィックの印刷、ハイライトされたグラフィックのみの印刷、表示されているグラフィックのみの印刷が選択できます。グラフィックウィンドウのツールバーから直接印刷することもできます。
- 新しい **Excel 2007 Report Designer** アドインをサポートします。このアドインはグラフィックを横に並べて印刷できます。
- **Easy Access** バージョン **B.02.00** をサポートします。
- システム性能が向上しました。
- 化合物ラベルがコンフィグレーションできます。11 種類のピークラベルから選択できます。定義されている最初の属性のみを含むようにも、定義されているすべての属性を含むようにも選択できます。
- ユーザーインターフェイスがコンフィグレーションできます。分離タイプ、質量精度、非 MS 検出器、BioConfirm 機能、拡張機能を基にユーザーインターフェイスに表示する機能のタイプを選択できます。

B.01.03（定性分析）

- デュアルモードデータをサポートします。
- UV データファイルを開くことができます。
- 分子式、質量、または質量とリテンションタイムに対してデータベースを検索できます。
- 指定された化学式に基づき、データファイルの化合物を検出できます。
- 解析レポートと化合物レポートのどの部分を含めるかを指定できます。
- 定性分析プログラムで **Excel 2007** をサポートします。
- UV とその他のタイプのクロマトグラムを積分できます。
- UV スペクトルを表示できます。
- 化合物レポートの作成を自動化できます。レポートには使用する化合物検出アルゴリズムや化合物同定アルゴリズムの情報を含むことができます。
- 解析レポートの作成を自動化できます。レポートには、使用するクロマトグラムやスペクトルの抽出方法やスペクトル同定アルゴリズムの情報を含めることができます。

これらの実習を開始する前に

- インストールディスクから **Data** という名前のフォルダを、非圧縮形式でご使用のハードディスクの任意の場所にコピーします。

このフォルダには、これらの実習に必要なデータファイルすべてが含まれています。まず、**.zip** フォーマットからデータファイルを抽出する必要がある場合もあります。

注記

ディスク上のオリジナルからコピーし、自分以外には使用している人がいない場合のみ、システムに既にあるデータファイル例を使用できます。システムに既にあるデータファイル例がディスク上のオリジナルファイルと正確に一致しないと、これらの実習中に得られる結果はこのガイドで示される結果と一致しくくなります。

目次

実習 1	定性分析の基礎の学習	11
すべてのデータの基本タスク		13
タスク 1. 定性分析プログラムを開く		13
タスク 2. クロマトグラムの拡大 / 縮小		16
タスク 3. クロマトグラムの固定		18
タスク 4. ウィンドウレイアウトの変更		19
タスク 5. 解析レポートの印刷		21
MS のみのデータのタスク (TOF、Q-TOF、トリプル四重極)		23
タスク 6. クロマトグラムの抽出 (MS のみ)		23
タスク 7. クロマトグラムの積分 (MS のみ)		25
タスク 8. クロマトグラムからのスペクトルの抽出 (MS のみ)		28
MS/MS データのタスク (Q-TOF とトリプル四重極)		35
タスク 9. クロマトグラムの抽出 (MS と MS/MS)		35
タスク 10. クロマトグラムの積分 (MS と MS/MS)		37
タスク 11. クロマトグラムからのスペクトルの抽出 (MS と MS/MS)		42
MS データと UV データのタスク		52
タスク 12. クロマトグラムの抽出 (MS と UV)		52
タスク 13. クロマトグラムの積分 (UV) とシステム適合性値の計算 (MS と UV)		54
タスク 14. クロマトグラムからのスペクトルの抽出 (UV)		57
実習 2	化合物の検出と同定	61
MS のみのデータのタスク (TOF、Q-TOF、トリプル四重極)		63
タスク 1. Molecular Feature による化合物の検出 (MS のみ)		63
タスク 2. 化学式の作成と化合物の同定 (MS のみ)		67
タスク 3. 化合物レポートの印刷 (MS のみ)		69

目次

タスク 4. 化学式による化合物の検出とサンプル純度の計算 (MS のみ)	70
タスク 5. タンパク質消化物の Molecular Feature Extraction の実行 (MS のみ)	73
MS/MS データのタスク (Q-TOF またはトリプル四重極)	76
タスク 1. 化合物の検出 (MS と MS/MS)	76
タスク 2. 化合物の同定と化学式の推定 (MS と MS/MS)	79
タスク 3. 化合物レポートの印刷 (MS/MS のみ)	82
タスク 4. タンパク質消化物の Molecular Feature Extraction の実行 (MS と MS/MS)	84
実習 3 異なるワークフローでの定性分析メソッドの設定と実行	87
タスク 1. 一般ワークフローでの定性分析メソッドの設定と実行	89
タスク 2. クロマトグラムピーク調査ワークフローでの自動解析メソッドの設定と実行	94
タスク 3. MS ターゲット化合物スクリーニングワークフローでの化合物同定を自動化するメソッドの設定と実行	99
タスク 4. ワークリストで実行する定性メソッドの設定	105
リファレンス	109
ウィンドウの処理	110
[データナビゲータ] の結果データの処理	111
クロマトグラムの操作を行う	112
MS または MS/MS スペクトルで操作を行う	113
クロマトグラフ表示データの処理	113
ワークフロー	114
レポートテンプレートのカスタマイズ	117



実習 1 定性分析の基礎の学習

すべてのデータの基本タスク	13
タスク 1. 定性分析プログラムを開く	13
タスク 2. クロマトグラムの拡大 / 縮小	16
タスク 3. クロマトグラムの固定	18
タスク 4. ウィンドウレイアウトの変更	19
タスク 5. 解析レポートの印刷	21
MS のみのデータのタスク (TOF、Q-TOF、トリプル四重極)	23
タスク 6. クロマトグラムの抽出 (MS のみ)	23
タスク 7. クロマトグラムの積分 (MS のみ)	25
タスク 8. クロマトグラムからのスペクトルの抽出 (MS のみ)	28
MS/MS データのタスク (Q-TOF とトリプル四重極)	35
タスク 9. クロマトグラムの抽出 (MS と MS/MS)	35
タスク 10. クロマトグラムの積分 (MS と MS/MS)	37
タスク 11. クロマトグラムからのスペクトルの抽出 (MS と MS/MS)	42
MS データと UV データのタスク	52
タスク 12. クロマトグラムの抽出 (MS と UV)	52
タスク 13. クロマトグラムの積分 (UV) とシステム適合性値の計算 (MS と UV)	54
タスク 14. クロマトグラムからのスペクトルの抽出 (UV)	57

この実習では、TOF、Q-TOF、トリプル四重極データを用いて作業するための定性分析プログラムの多くの機能の一部を学習します。

まず、データタイプとは無関係のタスクを実行します。

- タスク 1 では、複数のデータファイルを用いてプログラムを開きます。
- タスク 2 では、データの特定のポイントを拡大 / 縮小します。



1 定性分析の基礎の学習

- タスク 3 では、スクロールの際にクロマトグラムがビューから見えなくなならないよう、クロマトグラムを固定します。
- タスク 4 では、ウィンドウのレイアウトを変更します。
- タスク 5 では、解析レポートを印刷します。

次に、MS のみのデータを用いて作業するか、あるいは MS と MS/MS を組み合わせたデータ、または MS と UV を組み合わせたデータを用いて作業するかを選択します。以下のタスクでは、MS のみのデータを用いて作業します。

- **タスク 6. クロマトグラムの抽出 (MS のみ)** では、さまざまな濃度でクロマトグラムを抽出し、EIC をマージします。
- **タスク 7. クロマトグラムの積分 (MS のみ)** では、クロマトグラムを積分し、積分パラメータを変更し、積分したピークの S/N 比を計算します。
- **タスク 8. クロマトグラムからのスペクトルの抽出 (MS のみ)** では、クロマトグラムの特定のポイントや範囲からスペクトルを抽出し、それらの平均化やバックグラウンドデータ減算を学習します。

以下のタスクでは、MS と MS/MS を組み合わせたデータを用いて作業します。

- **タスク 9. クロマトグラムの抽出 (MS と MS/MS)**
- **タスク 10. クロマトグラムの積分 (MS と MS/MS)**
- **タスク 11. クロマトグラムからのスペクトルの抽出 (MS と MS/MS)**

以下のタスクでは、MS と UV を組み合わせたデータを用いて作業します。

- **タスク 12. クロマトグラムの抽出 (MS と UV)**
- **タスク 13. クロマトグラムの積分 (UV) とシステム適合性値の計算 (MS と UV)**
- **タスク 14. クロマトグラムからのスペクトルの抽出 (UV)**

実習方法を示す表は、以下の 3 列に分けて表示されています。

- ステップ - 操作概要です。各自でプログラムを実行します。
- 詳細説明 - ステップの実行に必要な手順を示しています。
- コメント - 実習の各ステップに関するヒントや追加情報を記しています。

すべてのデータの基本タスク

タスク 1. 定性分析プログラムを開く

このタスクでは、現在のメソッドを用いて複数のデータファイルを開きます。

タスク 1. 複数のデータファイルを用いて定性分析プログラムを開く

ステップ	詳細説明	コメント
1 定性分析プログラムを開きます。	a [Agilent MassHunter 定性分析] アイコン  をダブルクリックします。[データファイルを開く] ダイアログボックスが表示されます。 b フォルダ \\MassHunter\Data またはデモファイルを置いたフォルダに移動します。	- sulfas-PosMS.d ファイルには、MS (TOF または Q-TOF) データが、sulfas-PosAutoMSMS.d と sulfas-PosTargetedMSMS.d ファイルには MS と MS/MS (Q-TOF) の両方のデータが含まれます。 - ウィンドウがアクティブの時に F1 キーを押すと、ウィンドウ、ダイアログボックス、タブに関するヘルプが表示できます。

- ・ [現在のメソッドの使用] がクリックされていることを確認します。
- ・ 「選択したメソッドから」ファイルを開く「ときにする処理を実行」チェックボックスが解除されていることを確認します。

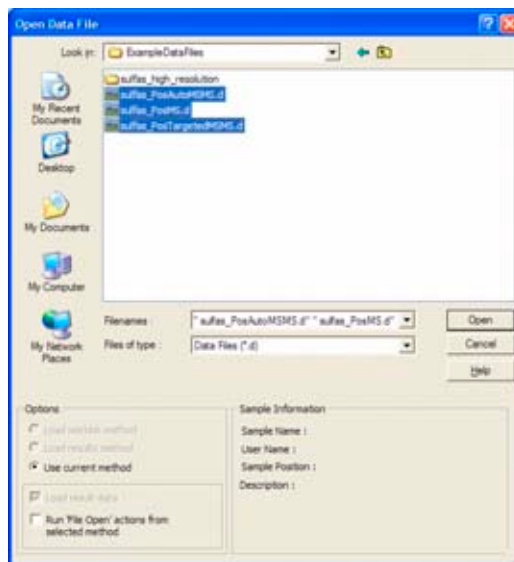


図 1 ソフトウェアを開く際にデータファイルを開く

1 定性分析の基礎の学習

タスク 1. 定性分析プログラムを開く

タスク 1. 複数のデータファイルを用いて定性分析プログラムを開く（続き）

ステップ	詳細説明	コメント
c	Shift キーを押したまま、 sulfas_PosAutoMSMS 、 sulfas_PosMS.d 、 sulfas-PosTargetedMSMS.d をクリックします。	• Shift キーの代わりに Ctrl キーを押すと、連続していない複数のファイルをリストから選択できます。
d	[開く] をクリックします。 3つのデータファイルすべてが[データナビゲータ]に表示され、1～3個のクロマトグラムが[クロマトグラム結果]に表示されます。	• この時点でメインウィンドウに表示される内容は、これらのファイルを開く前に使用されたメソッド、レイアウト、表示、プロット設定によって異なります。

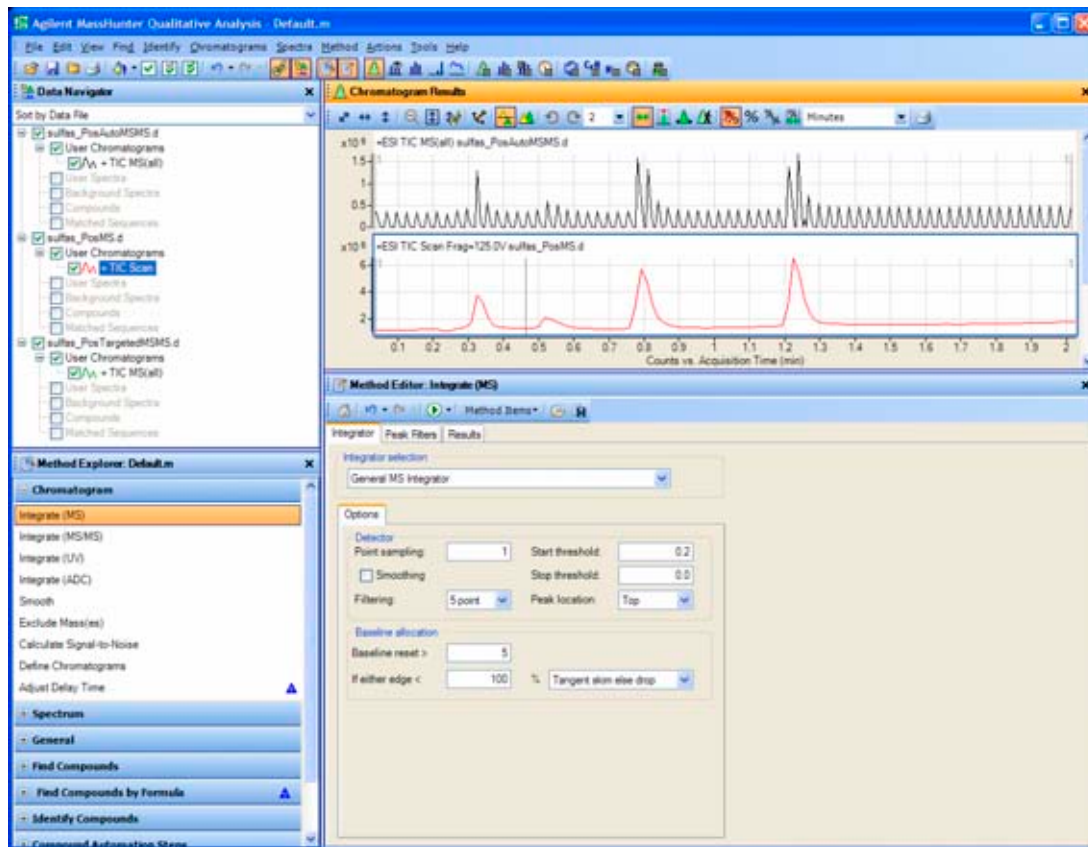
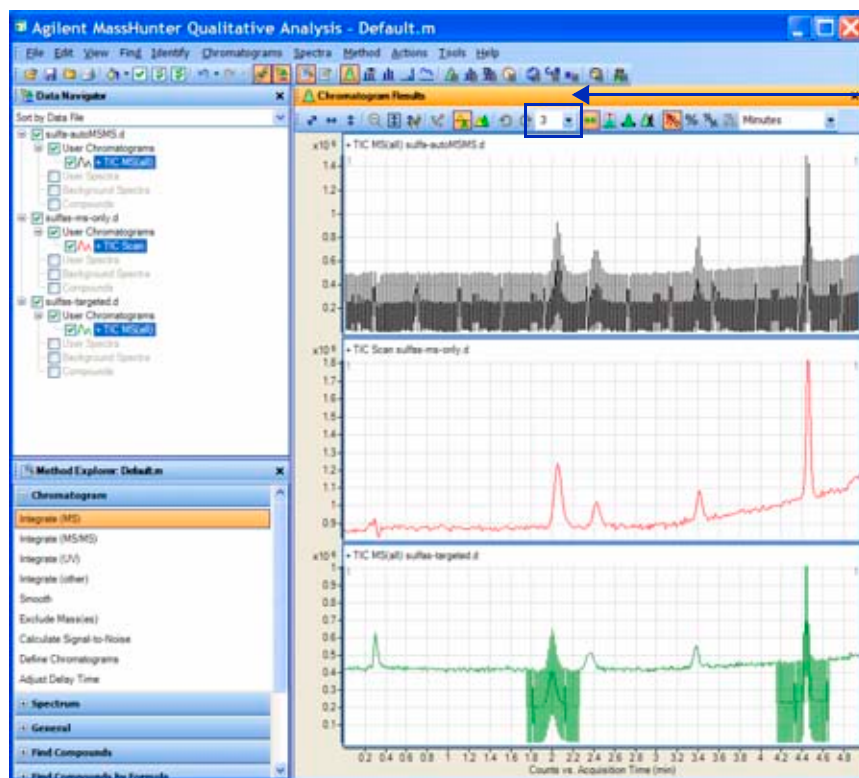


図 2 定性分析メインウィンドウ

タスク 1. 複数のデータファイルを用いて定性分析プログラムを開く（続き）

ステップ	詳細説明	コメント
2	メインウィンドウをデフォルトワークフローの[一般]に戻します。デフォルトのメソッドとレイアウトが読み込まれます。 3つのクロマトグラムすべてが見えることを確認します。	a 必要に応じて、[ツール]>[ワークフロー用にコンフィグレーション]>[一般]をクリックします。 b [クロマトグラム結果]ツールバーの[リストペインの最大数]アイコン隣の下矢印をクリックし、3を選択します。 ・ [一般]ワークフローに切り替えた後も、表示とプロット設定は同じままです。これらの設定は特定の状況に応じて異なります。 ・ [表示]>[ウィンドウレイアウト]>[レイアウトの読み込み]をクリックすると、レイアウトを変更できます。



[リストペインの最大数]
アイコン

図3 一般ワークフローが選択されている場合の定性分析メインウィンドウ。デフォルトのメソッドとレイアウトが読み込まれていますが、必ずしもデフォルトの表示とプロット設定 ([ツール]>[プロット表示オプション]) であるとは限りません

1 定性分析の基礎の学習

タスク 2. クロマトグラムの拡大 / 縮小

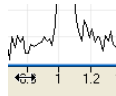
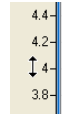
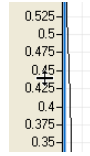
タスク 2. クロマトグラムの拡大 / 縮小

このタスクでは、定性分析プログラムの拡大 / 縮小機能について学習します。

タスク 2. クロマトグラムの拡大 / 縮小

ステップ	詳細説明	コメント
1 3つのクロマトグラムのうち1つのみの拡大 / 縮小を実習します (X 軸と Y 軸両方)。 • その他を非表示にします。 • 最後のピークを 2 回拡大します。 • Y 軸をオートスケールでもう 1 回拡大します。 • 1 回縮小して、前の倍率に戻します。 • 元のクロマトグラムに完全に戻します。	- a 非表示にするクロマトグラムのチェックボックスの選択を [データナビゲータ] ウィンドウで解除します。 - b 最後のピークの領域を右クリックし、ドラッグします。 この段階で [ズーム中に Y 軸をオートスケール] アイコン  が選択されていないことを確認します。 - c ステップ b を繰り返します。 - d ツールバーの [ズーム中に Y 軸をオートスケール] アイコン  をクリックします。 - e 3 回目として最後のピークの領域を右クリックし、ドラッグします。 定性分析プログラムにより、範囲の最大ポイントに合わせて、Y 軸が自動的に拡大されます。 - f [ズーム解除] アイコン  をクリックし、最後のズーム操作を取り消します。 過去 15 回のズーム操作を取り消すことができます。 - g [X 軸と Y 軸のオートスケール] アイコン  をクリックし、完全にズームを解除します。	• [データナビゲータ] ウィンドウでその行がチェックされていない場合、その行の情報は定性分析プログラムのすべてのウィンドウで表示されません。[データナビゲータ] ウィンドウでその行をチェックすれば、その行の情報は他のウィンドウでも再度表示されます。 • [スペクトルプレビュー] ウィンドウ、[MS スペクトル結果] ウィンドウ、[デコンボリューション結果] ウィンドウ (BioConfirm プログラムがインストールされている場合) および [UV 結果] ウィンドウでは、スペクトルにもこれらのズーム機能を使用できます。 • 選択したアイコンの背景色はオレンジ色です。

タスク 2. クロマトグラムの拡大 / 縮小 (続き)

ステップ	詳細説明	コメント
2 各軸別々に拡大 / 縮小を実習します。		
• X 軸に沿ってのみ拡大します。 ヒント：X 軸の値を右クリックし、カーソルを左から右に移動させます。 • X 軸を部分的に縮小します。 ヒント：反対方向にカーソルを移動させます。 • X 軸のズームを完全に解除します。 • Y 軸に対して同じステップを繰り返します。	a X 軸を拡大するには、水平の二重矢印が表示されるまで X 軸値にカーソルを移動させます。 b X 軸値を右クリックし、新しいカーソルを X 軸全域で左から右にドラッグします。 c X 軸を縮小するには、X 軸値を右クリックし、左から右にドラッグします。 d [X 軸のオートスケール] アイコン  をクリックし、X 軸のズームを完全に解除します。 e Y 軸を拡大するには、垂直の二重矢印が表示されるまで Y 軸値にカーソルを移動させます。 f Y 軸の値を右クリックし、新しいカーソルを Y 軸全域で下から上にドラッグします。 g Y 軸を縮小するには、Y 軸値を右クリックし、上から下に向かってドラッグします。 h [Y 軸のオートスケール] アイコン  をクリックし、Y 軸のズームを完全に解除します。	水平二重矢印  X 軸値を右クリックすると新しいカーソルが表示されます。  垂直二重矢印  Y 軸値を右クリックすると新しいカーソルが表示されます。 

タスク 3. クロマトグラムの固定

このタスクでは、クロマトグラムを固定します。クロマトグラムを固定すると、他のクロマトグラムを表示するためにスクロールしても、固定されたクロマトグラムは常に表示されたままとなります。

タスク 3. クロマトグラムの固定

ステップ	詳細説明	コメント
- クロマトグラムを固定します。 3つのクロマトグラムすべてを表示します。 - クロマトグラム表示リストを1に設定していることを確認します。 [クロマトグラム結果] ウィンドウで、2番目の TIC を選択します。 - この TIC を固定します。 - クロマトグラム全域をスクロールします。 - 固定を解除します。	- a [データナビゲータ] で、前のタスクで非表示にしたクロマトグラムのチェックボックスをオンにします。 - b [クロマトグラム結果] ウィンドウで、ペインの最大数が1に設定されていることを確認します。 - c [クロマトグラム結果] ウィンドウで、2番目の TIC を選択します。 - d クロマトグラム内を右クリックし、[固定する] をクリックします。 - e [クロマトグラム結果] ウィンドウのスクロールバーを用いて、クロマトグラムのリスト全体をスクロールします。2番目の TIC は常に表示されます。 - f [クロマトグラム] > [固定しない] をクリックします。	- クロマトグラムを固定すると、固定されているクロマトグラム名の隣の[データナビゲータ]に固定アイコンが表示されます。 - 表示リストが1の場合もクロマトグラムを1つ固定した後は、[クロマトグラム結果] ウィンドウに2つのクロマトグラムが表示されます。これは、固定したクロマトグラムに加えて、1つのクロマトグラムを表示することを意味しています。 - クロマトグラムを右クリックし、ショートカットメニューの[固定しない] をクリックすることもできます。

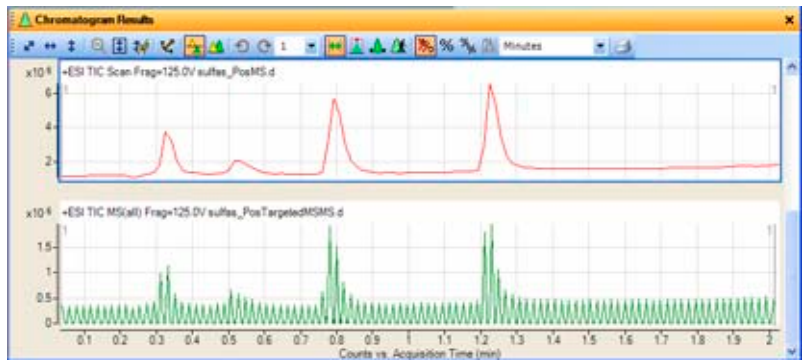


図 4 固定した TIC

タスク 4. ウィンドウレイアウトの変更

このタスクでは、メインビューにウィンドウを移動させ、さまざまなウィンドウレイアウトを作成します。

タスク 4. ウィンドウレイアウトの変更

ステップ	詳細説明	コメント
1 以下のウィンドウレイアウトを変更します。		
- ウィンドウサイズの変更。 - ウィンドウレイアウトの保存。 - レイアウトのロック解除。 [クロマトグラム結果]ウィンドウをフローティングに変更。 [クロマトグラム結果]ウィンドウの移動。 - ウィンドウ位置変更用ツールの表示。	- ウィンドウのサイズを変更するには、ウィンドウ間の境界線をドラッグします。 - ウィンドウレイアウトを保存するには、[表示]>[ウィンドウレイアウト]>[レイアウトの保存]をクリックします。 - レイアウトのロックを解除するには、[表示]>[ウィンドウレイアウト]>[レイアウトのロック解除]をクリックします。 - ウィンドウをフローティングさせるには、[クロマトグラム結果]ウィンドウのタイトルバーを右クリックし、ショートカットメニューから[フローティング]をクリックします。 - ウィンドウを移動させるには、[クロマトグラム結果]ウィンドウのタイトルバーをクリックし、指定する位置にウィンドウをドラッグします。 - 位置変更ツールを表示するには、ウィンドウを他のウィンドウの上にドラッグします。ウィンドウを別のウィンドウに重ねると、図 5 のように、プログラムにはいくつかのレイアウトツールが表示されます。	- レイアウトのロックを解除すると、[レイアウトのロック]メニューにアイコンは表示されません。 - 位置変更ツールは、レイアウトのロックが解除されている場合に限り使用できます。 - ウィンドウのタイトルバーをダブルクリックすることでも、ウィンドウをフローティングに設定できます。 - ソフトウェアには、事前に作成されたさまざまなレイアウトが用意されています。それとは異なるレイアウトを読み込むこともできます。 - ソフトウェアには 4 つの異なるワークフローがあります。各ワークフローは異なるレイアウトを読み込みます。異なるワークフローに切り替えると、レイアウトも変更されます。 - BioConfirm プログラムがインストールされている場合、さらに別のワークフローとレイアウトも使用できます。

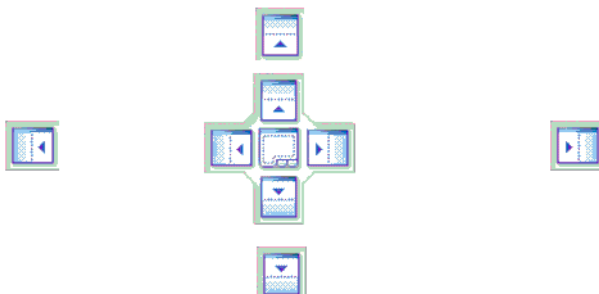


図 5 ウィンドウ位置変更ツール

1 定性分析の基礎の学習

タスク 4. ウィンドウレイアウトの変更

タスク 4. ウィンドウレイアウトの変更（続き）

ステップ	詳細説明	コメント
2 [クロマトグラム結果] ウィンドウの位置を変えます。 - ウィンドウを他のウィンドウの上、左、右、下になるように移動させます。 2つのウィンドウが上下に重なるように移動させ、下のウィンドウのタブによってのみ使用できるようにします。 - デフォルトレイアウトを復元します。	- 小さなアイコンのいずれかの上にカーソルをドラッグすると、ドラッグしているウィンドウは他のすべてのウィンドウの上、右、下、または左に置かれます。 - 大きなアイコンの上にカーソルをドラッグします。大きなアイコンの端の上にカーソルをドラッグすることでも、他のウィンドウの上、右、下、左にウィンドウを置くことができます。 2つのウィンドウを一緒にタブ付けするには、大きなアイコンの中心にカーソルをドラッグします。一緒にタブ付けされた2つのウィンドウには影が付けられます。マウスのドラッグを止めます。2つのウィンドウが一緒にタブ付けされます。 [表示]>[ウィンドウレイアウト]>[デフォルトレイアウトの復元]をクリックします。	- 位置を変更するには、ボックス内の矢印の1つの上にカーソルを置く必要があります。 [デフォルトレイアウトの復元] コマンドをクリックすると、一般ワークフローで使用されるレイアウトが復元します。異なるワークフローを使用している場合、そのワークフローで使用されるレイアウトを読み込む必要があります。

タスク 5. 解析レポートの印刷

この実習または次の実習のタスクを実行した後に解析レポートを印刷する際には、この説明を参照してください。

解析レポートには、クロマトグラムの抽出や積分、スペクトルの抽出、化合物の検出、ピークスペクトルに関するデータベースの検索、またはピークスペクトルからの化学式の作成の結果を含めることができます。

タスク 5. 解析レポートの印刷

ステップ	詳細説明	コメント
1 解析レポートの選択を変更します。	a [メソッドエクスプローラ]で、[一般]>[解析レポート]をクリックします。 b 印刷する追加選択項目のチェックボックスをオンにします。 c 印刷しないクロマトグラムとスペクトルの選択を解除します。	- 解析レポートには、このセクションで選択した情報のみが含まれます。 - 一部の結果が得られない場合、その結果はこのセクションで選択されていてもレポートには含まれません。たとえば、クロマトグラムを積分していない場合、積分ピークテーブルはレポートに含まれません。

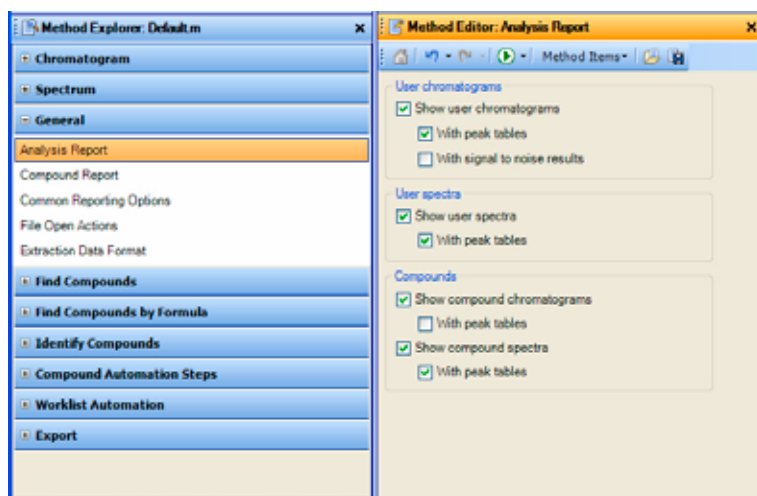


図 6 [メソッドエディタ]の[解析レポート]ウィンドウ

1 定性分析の基礎の学習
タスク 5. 解析レポートの印刷

タスク 5. 解析レポートの印刷（続き）

ステップ	詳細説明	コメント
2 レポートを印刷します。	- 以下の複数の方法で、レポートを印刷できます。 - メインメニューから、[ファイル] > [印刷] > [解析レポート] をクリックします。 - メインツールバーから、[プリンタ] アイコンをクリックします。 [メソッドエディタ] ツールバーの [解析レポートの印刷] アイコン  をクリックします。 [メソッドエディタ] の [解析レポート] セクションを右クリックし、[解析レポートの印刷] をクリックします。 [データナビゲータ] のデータファイルショートカットメニューから、[解析レポート] をクリックします。	[メソッドエディタ] ツールバーの [実行] アイコン  で、選択可能な処理から処理を選択できる場合もあります。たとえば、[一般] > [共通レポート作成オプション] セクションに切り替えた場合、[実行] アイコンをクリックすると、4 つの異なる処理が使用可能です。矢印をクリックすると、可能な処理のリストが示され、どの処理を実行するかを選択できます。リストから違う処理を選択すると、デフォルトの処理が変更されます。[実] ボタンをクリックすると、デフォルトの処理が実行されます。

MS のみのデータのタスク (TOF、Q-TOF、トリプル四重極)

TOF 機器の MS データと、Q-TOF 機器の MS のみのデータを用いて、これらのタスクを実行します。

タスク 6. クロマトグラムの抽出 (MS のみ)

このタスクでは、元の TIC からクロマトグラムを抽出およびマージ (統合) します。

タスク 6. クロマトグラムの抽出 (MS のみ)

ステップ	詳細説明	コメント
1 sulfas-PosMS.d データファイルの 2 つの質量から、抽出イオンクロマトグラム (EIC) を抽出およびマージします。		
- m/z 値は 279.09102 と 311.08085 を使用してください。 - 個別の質量からのピークを 1 つのクロマトグラムにマージ (統合) します。	a [データナビゲータ] ウィンドウで、sulfas-PosMS.d を除くデータファイルのチェックボックスの選択を解除します。 b 下記オプションまたは右のオプションのいずれかを用いて、[クロマトグラムの抽出] ダイアログボックスを表示します。 [クロマトグラム]>[クロマトグラムの抽出] をクリックします。 c 開いたデータファイルのリストで、sulfas-PosMS.d をクリックします。 d [タイプ] リストで、[EIC] をクリックします。 e [m/z 値] フィールドで、279.09102, 311.08085 と入力します。 f [複数の質量を 1 つのクロマトグラムにマージ] チェックボックスをオンにして、EIC をマージします (複数の EIC を統合してひとつのクロマトグラムとして表示します)。 g [OK] をクリックします。 h [クロマトグラム結果] ツールバーで、[リストペインの最大数] が 3 に設定されていることを確認します。	- 以下の方法でもクロマトグラムを抽出できます。 - クロマトグラム内を右クリックし、[クロマトグラムの抽出] をクリックします。 [データナビゲータ] から、sulfas_PosMS.d の [TIC スキャン] をハイライトした後、[TIC スキャン] を右クリックし、[クロマトグラムの抽出] をクリックします。 [すべて] の MS レベルまたは [MS] の MS レベルを使用できます。 - 抽出後、抽出したクロマトグラムを自動的に積分するように選択することもできます。 - 質量スペクトルからクロマトグラムを抽出することもできます。

1 定性分析の基礎の学習

タスク 6. クロマトグラムの抽出（MS のみ）

タスク 6. クロマトグラムの抽出（MS のみ）（続き）

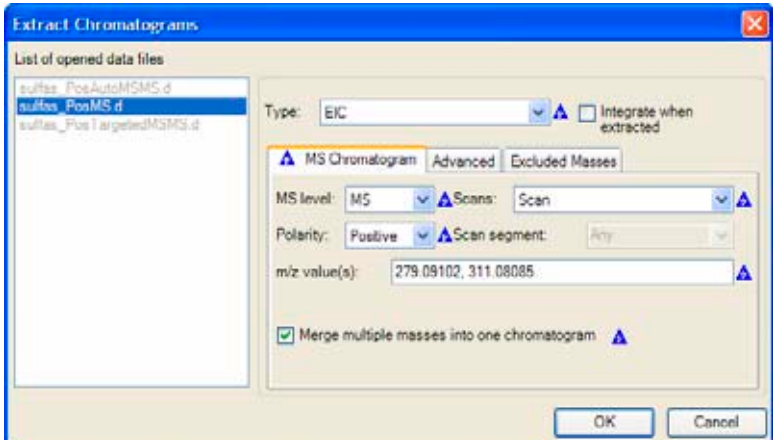
ステップ	詳細説明	コメント
		

図7 [クロマトグラムの抽出] ダイアログボックス

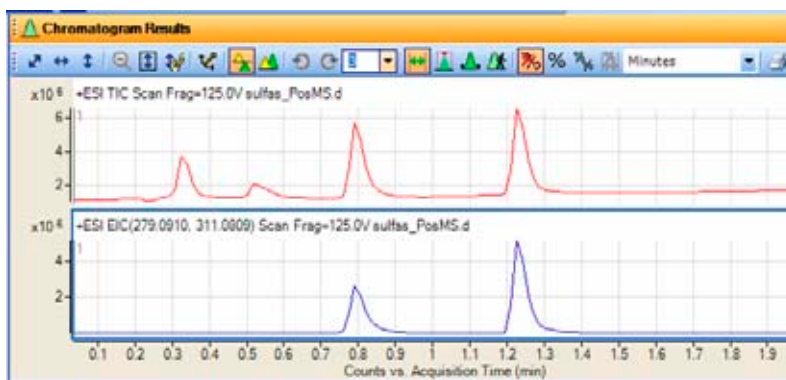


図8 元の TIC とマージされた抽出イオンクロマトグラム（EIC）の比較

タスク 7. クロマトグラムの積分 (MS のみ)

このタスクでは、クロマトグラムの積分する方法、積分パラメータを変更して結果を変更する方法、各ピークのシグナル / ノイズ比を表示するさまざまな方法を学習します。

タスク 7. クロマトグラムの対話形式の積分 (MS のみ)

ステップ	詳細説明	コメント
1	右のオプションのいずれかを用いて、sulfas_PosMS.d TIC クロマトグラムの積分します。 - 以下のオプションのいずれかを用いて、sulfas_PosMS.d クロマトグラムの積分します。 - メインメニューから、[クロマトグラム] > [クロマトグラムの積分] をクリックします。 - クロマトグラムをハイライトします。次に、クロマトグラムを右クリックし、[クロマトグラムの積分] をクリックします。 [データナビゲータ] で、sulfas_PosMS.d > [ユーザークロマトグラム] セクションの [TIC スキャン] をハイライトします。次に、[TIC スキャン] を右クリックし、[クロマトグラムの積分] をクリックします。	- 積分では、default.m メソッドで選択されている一般積分方式が使用されます。[クロマトグラム] > [積分 (MS)] > [積分] タブで、この値を変更できます。 - デフォルトパラメータを用いた積分では非常に小さなピークを検出することに注意してください。

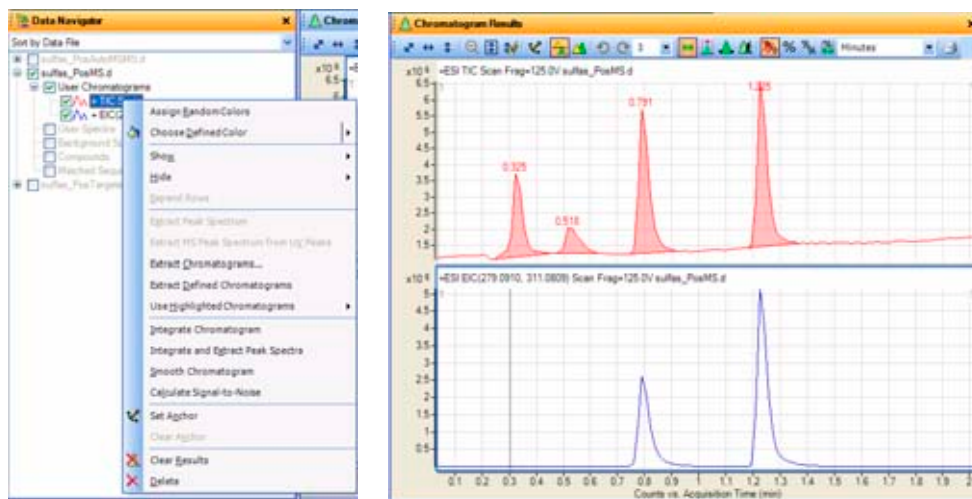


図 9 [データナビゲータ] からのショートカットメニューと、積分された **sulfas_PosMS.d** TIC クロマトグラム

1 定性分析の基礎の学習

タスク 7. クロマトグラムの積分 (MS のみ)

タスク 7. クロマトグラムの対話形式の積分 (MS のみ) (続き)

ステップ	詳細説明	コメント
2 タスク 1 による抽出イオンクロマトグラム (EIC) を積分します。	• [EIC] ウィンドウ内を右クリックし、[クロマトグラムの積分] をクリックします。	• 通常、抽出の設定時に [クロマトグラムの抽出] ダイアログボックスで、[抽出した時に積分] チェックボックスをオンにします。
3 積分した TIC のフィルタパラメータを変更します。 • MS データの [メソッドエクスプローラ] から [積分メソッドエディタ] ウィンドウを表示します。 • スレッシュホールドを変更し、2 つの最大ピークのみ積分されるようにします。	- a [メソッドエクスプローラ] から、[クロマトグラム] > [積分 (MS)] をクリックし、[積分] タブを表示します。 - b [ピークフィルタ] タブをクリックします。 - c [ピークの最大数] セクションで、[最大化合物 (高さベース) の数を制限する] をオンにして、必要に応じて 2 を入力します。 - d [データナビゲータ] ウィンドウで [TIC スキャン] をクリックします。	• 現在のメソッドに保存されている値から設定を変更すると、青色三角形が表示されます。メソッドを保存すると、三角形は消えます。

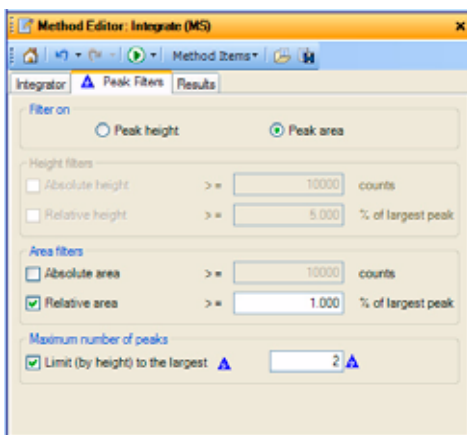


図 10 **[最大化合物 (高さベース) の数を制限する]** がオンの状態の **[ピークフィルタ]** タブ

- | | | |
|-------------------|--|---|
| 4 クロマトグラムを再積分します。 | <ul style="list-style-type: none"> • [メソッドエディタ] ツールバーの [クロマトグラムの積分] アイコン  をクリックし、新しい設定を用いて積分します。 | <ul style="list-style-type: none"> • これで、2 つの最大ピークのみが積分されます。 |
|-------------------|--|---|



図 11 高スレッシュホールド設定での積分結果

タスク 7. クロマトグラムの対話形式の積分 (MS のみ) (続き)

ステップ	詳細説明	コメント	
5	シグナル/ノイズ比を計算します。 • sulfas_PosMS.d TIC を選択します。 • 最初の [ピークラベル] を [面積] に、クロマトグラフピークに対する 2 番目の [ピークラベル] を [シグナル/ノイズ] に設定します。 • [メソッドエディタ] を開きます。 • ノイズ範囲に 0.63 – 0.73 を用いて、積分したピークのシグナル/ノイズ比を計算します。	a [ツール] > [プロット表示オプション] をクリックします。 b [クロマトグラム] タブをクリックします。 c 最初の [ピークラベル] を [面積] に、2 番目の [ピークラベル] を [シグナル/ノイズ] に設定します。 d [OK] をクリックします。 e [メソッドエクスプローラ] で、[クロマトグラム] > [S/N 比の計算] をクリックします。 f [ノイズ範囲] に 0.63 – 0.73 と入力し、[S/N 比の計算] アイコン  をクリックします。	• シグナル/ノイズ比を計算する前に、TIC がハイライトされていることを確認します。 • ノイズ範囲に指定した面積が、[クロマトグラム結果] ウィンドウに太字で描かれます。



図 12 [面積] と [シグナル/ノイズ] のラベルが付いた積分 TIC

6	デフォルトメソッドの設定を復元し、[メソッドエディタ] を閉じます。	a 変更をキャンセルし、デフォルトメソッドから値を復元するには、[メソッドエディタ] ツールバーの [ファイルの最後に保存した値に復元] アイコン  をクリックします。 b [メソッドエディタ] を閉じます。	
7	ピークラベルを [リテンションタイム] に戻します。	a [ツール] > [プロット表示オプション] をクリックします。 b [クロマトグラム] タブをクリックします。 c 最初の [ピークラベル] を [リテンションタイム] に、2 番目の [ピークラベル] を [なし] に設定します。 d [OK] をクリックします。	

1 定性分析の基礎の学習

タスク 8. クロマトグラムからのスペクトルの抽出 (MS のみ)

タスク 8. クロマトグラムからのスペクトルの抽出 (MS のみ)

このタスクでは、クロマトグラムで指定した正確な場所からスペクトルを抽出します。定性分析プログラムを呼び出し、特定のデータポイントからスペクトルを抽出するか、複数のデータポイントまたは範囲の平均から平均スペクトルを抽出することができます。

このタスクでは、スペクトル表示オプションの変更方法とバックグラウンドスペクトルの減算方法も学習します。

タスク 8. クロマトグラムからのスペクトルの抽出 (MS のみ)

ステップ	詳細説明	コメント
1 sulfas_PosMS.d データファイルの 0.79 分のピークと最後のピークの特定のデータポイントのスペクトルを抽出します。 0.7 ~ 1.0 分の範囲を拡大した後、以下のコメントで説明するオプションのいずれかを用いて、0.79 分近辺のピークからスペクトルを抽出します。 [スペクトルプレビュー]を開きます。 1.1 ~ 1.4 分の範囲を拡大した後、1.22 分近辺ピークからスペクトルを抽出します。 - このスペクトルを[ユーザースペクトル]セクションにコピーします。 - 表示を変更し、2 つ以上のスペクトルを表示します。	- a 最初のピークを拡大するには、0.70 分で右クリックし、1.0 分にドラッグした後、放します。 - b 0.79 分近辺のピークで、コメント列に記載した方法のいずれかでスペクトルを抽出します。 - c [クロマトグラム結果]ツールバーの[オートスケール(ズーム解除)]アイコン  をクリックします。 - d [スペクトルプレビュー]を開くには、[スペクトルプレビュー]アイコン  をクリックします。 - e 1.1 ~ 1.4 分の範囲を拡大します。 - f 1.22 分近辺のピークで、コメント列に記載した方法のいずれかでスペクトルを抽出します。スペクトルは[スペクトルプレビュー]ウィンドウに表示されます。 - g スペクトルを右クリックし、[ユーザースペクトルにコピー]をクリックします。[スペクトルプレビュー]ウィンドウは開いたままです。 - h 必要に応じて、[MS スペクトル結果]ツールバーの[リストペインの最大数]アイコン隣の矢印をクリックし、2 をクリックします。	- ズームする場合、[ズーム中の Y 軸のオートスケール]アイコン  が「オン」になっていることを確認します。「オン」の場合、アイコンの背景色はオレンジ色です。 - 以下のいずれかの方法でスペクトルを抽出できます。 - クロマトグラムのデータポイントをダブルクリックします。 - クロマトグラムのデータポイントをクリックした後、クロマトグラム内を右クリックします。[MS スペクトルの抽出]をクリックします。[スペクトルの抽出]ダイアログボックスが表示されます。 sulfas_PosMS.d ファイルが選択されていることを確認し、[抽出]をクリックします。 - スペクトルを初めて抽出する場合、スペクトルを含む [MS スペクトル結果]ウィンドウが表示され、スペクトルとリテンションタイムのタイプは[データナビゲータ]の[ユーザースペクトル]の下に表示されます。 [スペクトルプレビュー]が有効の場合、システムには手動で選択したスペクトルが表示されますが、[ユーザースペクトル]セクションには保存されません。 [スペクトルプレビュー]がオンの場合、新しいスペクトルを抽出すると、前のスペクトルが上書きされます。

タスク 8. クロマトグラムからのスペクトルの抽出 (MS のみ) (続き)

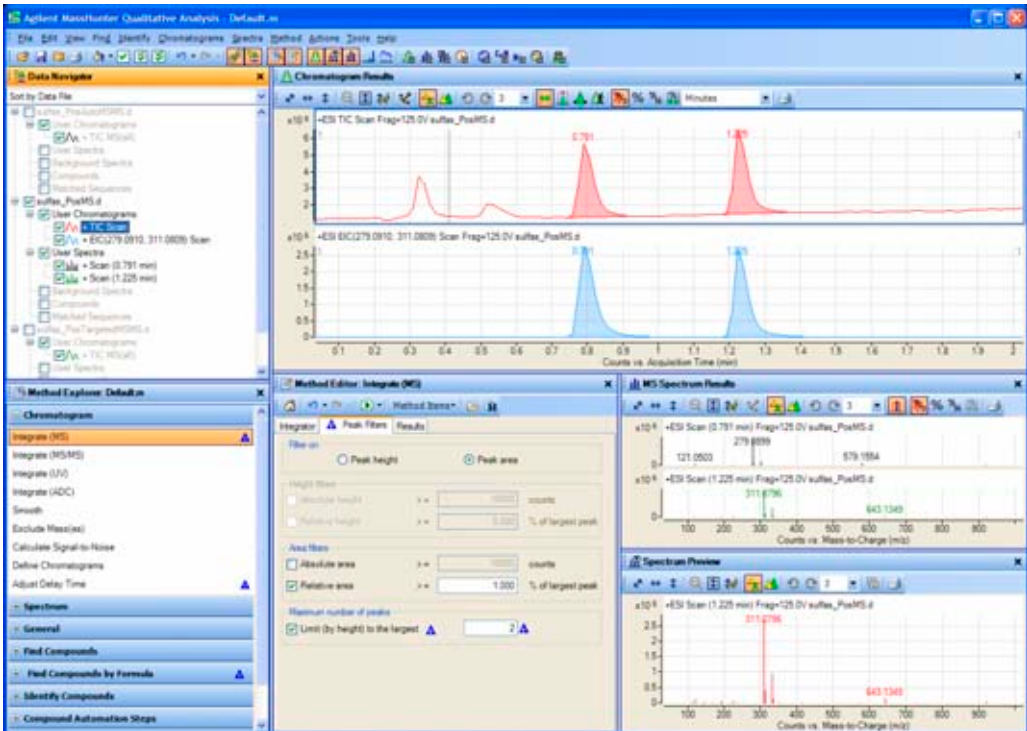
ステップ	詳細説明	コメント
		

図 13 sulfas_PosMS.d ファイルの二つの積分されたピークから抽出したスペクトルを表示するメインウィンドウ

1 定性分析の基礎の学習

タスク 8. クロマトグラムからのスペクトルの抽出 (MS のみ)

タスク 8. クロマトグラムからのスペクトルの抽出 (MS のみ) (続き)

ステップ	詳細説明	コメント
2	sulfas_PosMS.d データファイルで、最後の積分ピークの指定範囲内のすべてのポイントを平均したスペクトルを抽出します。 - 既存の [ユーザースペクトル] すべてを削除します。 - クロマトグラムのズームを解除します。 [スペクトルプレビュー] をオフにします。 [クロマトグラム] ツールバーの [範囲選択] アイコンを使用します。 - 範囲をピークの左の中間点から、ピークの右の同じ点に設定します。 - 記載されたオプションを用いてスペクトルを抽出します。 a 削除する [ユーザースペクトル] をハイライトします (Ctrl を使用)。 b 選択した [ユーザースペクトル] を右クリックし、[削除] をクリックします。 c [削除] ダイアログボックスが表示される場合、[はい] をクリックします。 d [X 軸と Y 軸のオートスケール] アイコン  をクリックし、完全にズームを解除します。 e [スペクトルプレビュー] ウィンドウをクリックした後、ウィンドウを閉じます。 f [クロマトグラム] ツールバーの [範囲選択] アイコン  をクリックします。 g 最後の積分ピークの左側をクリックし、ピークの右側までドラッグします。 h 下記または右記のオプションを用いて、平均スペクトルを抽出します。 - ピークの範囲内を右クリックし、ショートカットメニューから [MS スペクトルの抽出] をクリックします。 [スペクトルの抽出] ダイアログボックスの [抽出] をクリックします。	- クロマトグラム内の選択した範囲をダブルクリックしても、平均スペクトルを抽出できます。 [メッセージボックスオプション] ダイアログボックスを用いることで、クロマトグラムを削除するとき、確認を求められるかどうかを変更できます。このダイアログボックスは、[ツール] > [メッセージボックスオプション] コマンドから表示されます。 - 複数のデータファイルが読み込まれている場合に限り、[スペクトルの抽出] ダイアログボックスが表示されます。

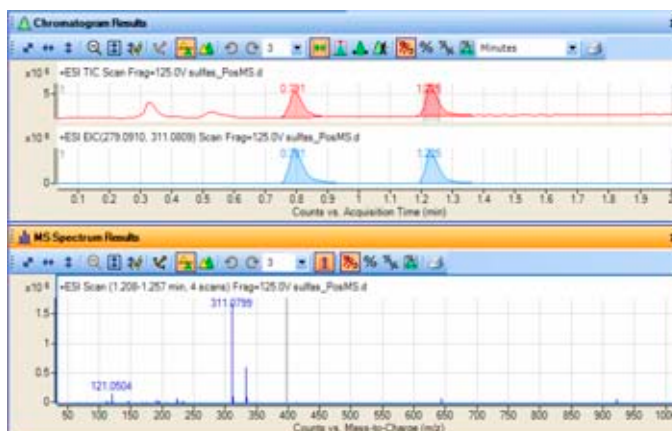


図 14 最後のピークを選択範囲から抽出した平均スペクトル

タスク 8. クロマトグラムからのスペクトルの抽出 (MS のみ)

タスク 8. クロマトグラムからのスペクトルの抽出 (MS のみ) (続き)

ステップ	詳細説明	コメント
3	sulfas_PosMS.d データファイルに対して積分したピーク 1 と 2 の範囲を一緒に平均したスペクトルを抽出します。 - ヒント: [範囲選択] アイコンと Ctrl キーを用いて、中間点から得られた [ピーク 1] の範囲を選択します。 - 右記のいずれかのオプションを用いて、スペクトルを抽出します。 a [クロマトグラム結果] ウィンドウのタイトルバーをクリックします。[クロマトグラム結果] ウィンドウがアクティブウィンドウになりますが、選択したエリアは失われません。 b Ctrl キーを押したままにします。 c 最初の積分ピークの左側をクリックし、ピークの右側までドラッグします。 d マウスを放します。 e Ctrl キーを放します。 f 以下のオプションまたは右記のオプションを用いて、平均スペクトルを抽出します。 - いずれかのピークを選択範囲内をダブルクリックします。	2 番目のピークにはステップ 2 で既に範囲は選択されています。 - クロマトグラム内を右クリックした後、[MS スペクトルの抽出] をクリックすることでも、スペクトルを抽出できます。[スペクトルの抽出] ダイアログボックスが表示されます。[抽出] をクリックします。

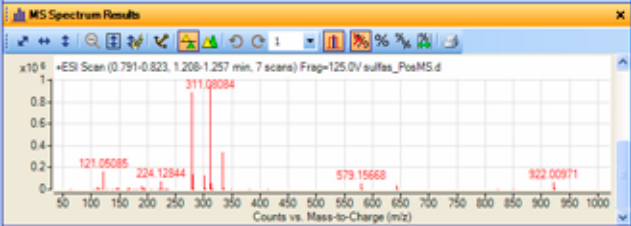


図 15 複数の範囲から作成された、平均化スペクトル

1 定性分析の基礎の学習

タスク 8. クロマトグラムからのスペクトルの抽出（MS のみ）

タスク 8. クロマトグラムからのスペクトルの抽出（MS のみ）（続き）

ステップ	詳細説明	コメント
4	sulfas_PosMS.d のスペクトル表示オプションを変更します。 - ツールメニューからプロット表示オプションを探します。 - スペクトル設定を探します。 - 小数点以下の桁数を現在の設定より 1 桁大きく変更します。 - 元の桁数に戻します。	a [ツール]>[プロット表示オプション]をクリックします。 b [MS および MS/MS スペクトル]タブをクリックします。 c m/z 値の[小数点以下の桁数]を現在の設定より 1 桁大きく変更します。 d [OK] をクリックします。 ラベルには 1 桁多い m/z が表示されることを確認してください。
		
	e a と b のステップを繰り返した後、[小数点以下の桁数]を現在の設定より 1 桁小さく設定します。 f [OK] をクリックします。 ラベルには元の桁数が表示されることを確認してください。	

タスク 8. クロマトグラムからのスペクトルの抽出 (MS のみ) (続き)

ステップ	詳細説明	コメント
5	sulfas_PosMS.d のピークスペクトルを抽出する際、バックグラウンドスペクトルを減算します。 • [データナビゲータ] の [ユーザースペクトル] にあるいずれかのスキャンを削除します。 • 0.0 ~ 0.25 分の範囲のバックグラウンドスペクトルを抽出し、[データナビゲータ] のバックグラウンドスペクトルフォルダに表示させます。 • 除去には現在のバックグラウンド MS スペクトルを使用します。 • クロマトグラムを積分し、積分したピークを 4 つに制限します。 • 3 番目の積分ピークのピークスペクトルを抽出します。	• この処理の最後に、抽出したピークスペクトルすべてに対して、指定したバックグラウンドスペクトル減算が自動的に行われることに注意してください。 • バックグラウンドスペクトルをバックグラウンドスペクトルフォルダに移動させる別の方法は、以下のステップのとおりです。 • 選択した範囲をダブルクリックし、平均化したスペクトルを抽出します。 • スペクトルウィンドウ内を右クリックし、[バックグラウンドスペクトルに移動] をクリックします。
	a [データナビゲータ] の [ユーザースペクトル] にある、削除する [ユーザースペクトル] をハイライトします (Ctrl を使用)。 b スペクトルを右クリックし、[削除] をクリックします。 c [はい] をクリックします。 d [クロマトグラム結果] ツールバーで [範囲選択] アイコンが選択されていることを確認し、0.0 ~ 0.25 分の間にカーソルをドラッグします。 e 範囲内を右クリックし、[MS スペクトルをバックグラウンドに抽出] をクリックします。 f [メソッドエクスプローラ] で、[スペクトル] > [抽出 (MS)] をクリックします。 g [手動抽出] タブをクリックします。 h [手動スペクトルバックグラウンド] で、MS スペクトルの [現在のバックグラウンドスペクトル] を選択します。 i [メソッドエクスプローラ] で、[クロマトグラム] > [積分 (MS)] をクリックします。 j [ピークフィルタ] タブをクリックします。 k [最大化合物 (高さベース) の数を制限する] チェックボックスをオンにし、4 と入力します。 l メインメニューから、[クロマトグラム] > [クロマトグラムの積分] > [クロマトグラム全体] をクリックします。 m [クロマトグラム結果] ツールバーの [ピーク選択] アイコンをクリックします。 n 3 番目の積分ピークを選択し、ピークスペクトルを抽出します。	

1 定性分析の基礎の学習

タスク 8. クロマトグラムからのスペクトルの抽出 (MS のみ)

タスク 8. クロマトグラムからのスペクトルの抽出 (MS のみ) (続き)



図 16 バックグラウンドが減算されたスペクトル

MS/MS データのタスク (Q-TOF とトリプル四重極)

タスク 9. クロマトグラムの抽出 (MS と MS/MS)

このタスクでは、ピークを積分するために、MS データのクロマトグラム 1 つと MS/MS データのクロマトグラム 1 つを抽出します。オリジナルのクロマトグラムの TIC には MS と MS/MS の両データが含まれるため、積分できません。

タスク 9. クロマトグラムの抽出 (MS と MS/MS)

ステップ	詳細説明	コメント
1 sulfas_PosTargetedMSMS.d データファイルの MS データの TIC を抽出します。	a sulfas_PosTargetedMSMS.d データファイルの行を選択し、他のデータファイルは選択解除します。 b 下記オプションまたは右のオプションのいずれかを用いて、[クロマトグラムの抽出] ダイアログボックスを表示します。 [クロマトグラム]>[クロマトグラムの抽出]をクリックします。 c 開いたデータファイルのリストで、必要に応じて sulfas_PosTargetedMSMS.d をクリックします。 d [タイプ] が TIC になっていることを確認します。 e [MS レベル] リストから、[MS] をクリックします。 f [OK] をクリックします。	- 以下の方法でもクロマトグラムを抽出できます。 - クロマトグラム内を右クリックし、[クロマトグラムの抽出] をクリックします。 [データナビゲータ] から、[ユーザークロマトグラム]>[TIC MS (すべて)] をクリックした後、[TIC MS (すべて)] を右クリックし、[クロマトグラムの抽出] をクリックします。 - 質量スペクトルからもクロマトグラムを抽出できます。

1 定性分析の基礎の学習

タスク 9. クロマトグラムの抽出 (MS と MS/MS)

タスク 9. クロマトグラムの抽出 (MS と MS/MS) (続き)

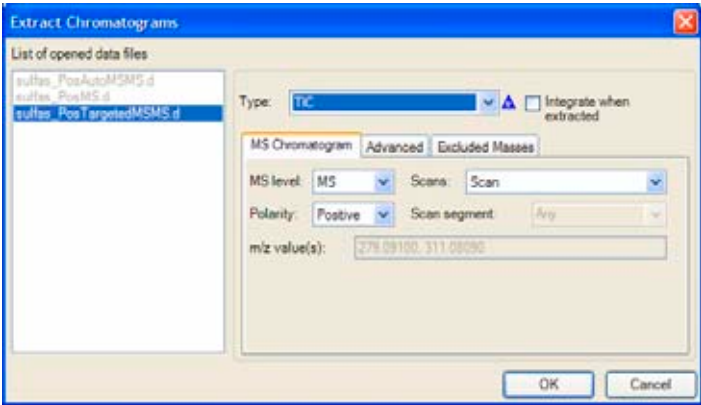
ステップ	詳細説明	コメント
		

図 17 [クロマトグラムの抽出] ダイアログボックス

- 2 MS/MS データのプロダクトイオンに基づく別のクロマトグラムを抽出します。
 - 今回は抽出したクロマトグラムの積分を選択します。

a ステップ 1 のステップ b ~ c を繰り返します。

b [タイプ] に EIC をクリックします。

c [MS レベル] リストから、[MS/MS] をクリックします。

d [スキャン] リストから [プロダクトイオン] をクリックします。

e [プリカーサイオン m/z] で、[279.09100] をクリックします。

f [m/z 値] テキストボックスに、186.03299 と入力します。

g [抽出時に積分] チェックボックスをオンにします。

h [OK] をクリックします。

• [m/z 値] テキストボックスには、範囲を入力することもできます (100 - 300 など)。

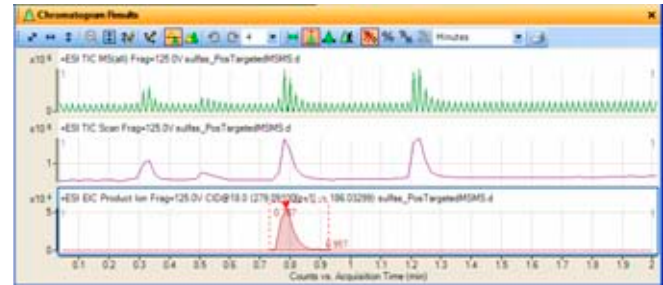


図 18 元の TIC と MS データの TIC、MS/MS データの EIC の比較

タスク 10. クロマトグラムの積分 (MS と MS/MS)

このタスクでは、クロマトグラムの積分する方法、積分パラメータを変更して結果を変更する方法、そして MS/MS データに対して積分したピークの S/N 比を計算するさまざまな方法を学習します。

オリジナルの Q-TOF TIC クロマトグラムには、特定の順序になっていない可能性のある MS と MS/MS の両データが含まれるので、積分できません。

タスク 10. クロマトグラムの対話形式の積分 (MS と MS/MS)

ステップ	詳細説明	コメント
1 右記のいずれかのオプションを用いて、 sulfas_PosTargetedMSMS.d データファイルの TIC スキャンクロマトグラムの積分します。	a TIC スキャンクロマトグラムをハイライトし、以下のコマンドのいずれかを選択し、クロマトグラムの積分します。 - メニューバーから、[クロマトグラム] > [クロマトグラムの積分] をクリックします。 [クロマトグラム] ウィンドウ内を右クリックし、[クロマトグラムの積分] をクリックします。 [データナビゲータ] ウィンドウで、sulfas_PosTargetedMSMS.d > [ユーザークロマトグラム] > [TIC スキャン] を選択し、[TIC スキャン] を右クリックし、[クロマトグラムの積分] をクリックします。	- クロマトグラムのすべてのピークが積分されたことを確認してください。 - MS データ、MS/MS データ、UV データ、ADC データに使用する積分を [メソッドエディタ] ウィンドウで選択します。
2 スレッシュホールドを変更し、積分するピークを減らします。 - MS データの [メソッドエクスプローラ] から [積分メソッドエディタ] ウィンドウを表示します。 - スレッシュホールドを変更し、2 つの最大ピークのみを積分します。	a [メソッドエクスプローラ] から、[クロマトグラム] > [積分 (MS)] をクリックし、[積分] タブを表示します。 b [ピークフィルタ] タブをクリックします。 c [ピークの最大数] ボックスで、必要に応じて [最大化合物 (高さベース) の数を制限する] をオンにして、2 と入力します。	現在のメソッドに保存されている値から設定を変更すると、青色三角形が表示されます。メソッドを保存すると、三角形は消えます。

1 定性分析の基礎の学習

タスク 10. クロマトグラムの積分 (MS と MS/MS)

タスク 10. クロマトグラムの対話形式の積分 (MS と MS/MS) (続き)

ステップ	詳細説明	コメント
------	------	------

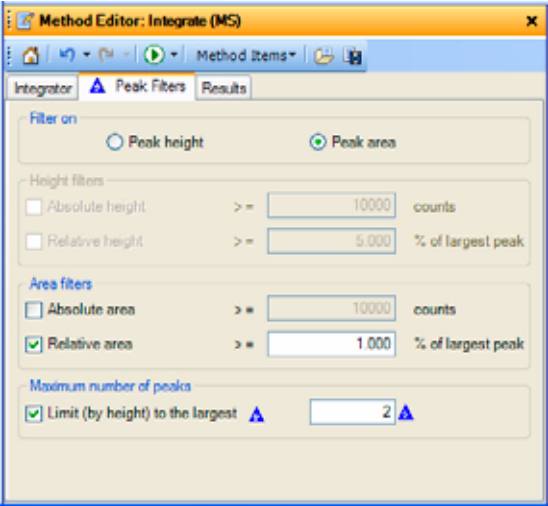


図 19 [最大化合物 (高さベース) の数を制限する] がオンの状態の [ピークフィルタ] タブ

- 3 クロマトグラムを再積分します d [メソッドエディタ] ツールバーの  ボタンをクリックし、新しい設定を用いて積分します。 • これで、2つの最大ピークのみが積分されます。

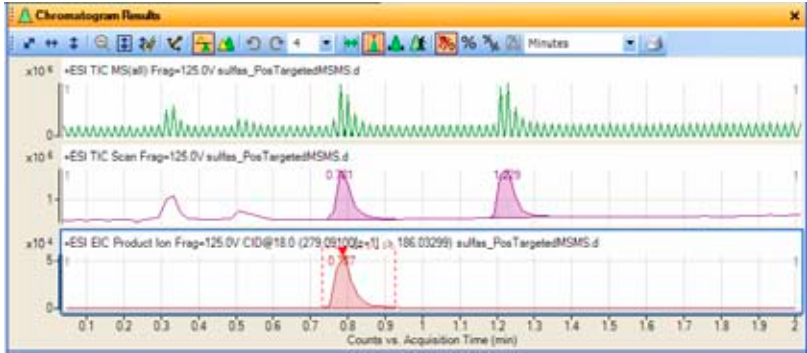


図 20 スレッシュホールド設定で最大ピーク積分された TIC MS と MS/MS のクロマトグラム

タスク 10. クロマトグラムの対話形式の積分 (MS と MS/MS) (続き)

ステップ	詳細説明	コメント
4 右記のいずれかのオプションを用いて、 sulfas_PosTargetedMSMS.d データファイルの EIC プロダクトイオンクロマトグラムを積分します。	a EIC プロダクトイオンクロマトグラムをハイライトし、以下のコマンドのいずれかを選択し、クロマトグラムを積分します。 - メニューバーから、[クロマトグラム] > [クロマトグラムの積分] をクリックします。 [クロマトグラム] ウィンドウ内を右クリックし、[クロマトグラムの積分] をクリックします。 [データナビゲータ] ウィンドウで、sulfas_PosTargetedMSMS.d > [ユーザークロマトグラム] > [EIC プロダクトイオン] を選択し、[EIC プロダクトイオン] を右クリックし、[クロマトグラムの積分] をクリックします。	- クロマトグラムのすべてのピークが積分されたことを確認してください。 - MS データ、MS/MS データ、UV データ、ADC データに使用する積分を [メソッドエディタ] ウィンドウで選択します。
5 フィルタを高さのフィルタに変更します。 - MS/MS データの [メソッドエクスプローラ] から [積分メソッドエディタ] ウィンドウを表示します。 [フィルタをオン] をピークの高さに変更します。 [絶対高さ] チェックボックスをオンにします。	a [メソッドエクスプローラ] から、[クロマトグラム] > [積分 (MS/MS)] をクリックし、[積分] タブを表示します。 b [ピークフィルタ] タブをクリックします。 c [フィルタをオン] で、[ピーク高さ] をクリックします。 d [高さフィルタ] で、[絶対高さ] チェックボックスをオンにします。	現在のメソッドに保存されている値から設定を変更すると、青色三角形が表示されます。メソッドを保存すると、三角形は消えます。
6 クロマトグラムの再積分	e [メソッドエディタ] ツールバーの  ボタンをクリックし、新しい設定を用いて積分します。	最大ピークのみが積分されたことを確認してください。

1 定性分析の基礎の学習

タスク 10. クロマトグラムの積分 (MS と MS/MS)

タスク 10. クロマトグラムの対話形式の積分 (MS と MS/MS) (続き)

ステップ	詳細説明	コメント
------	------	------

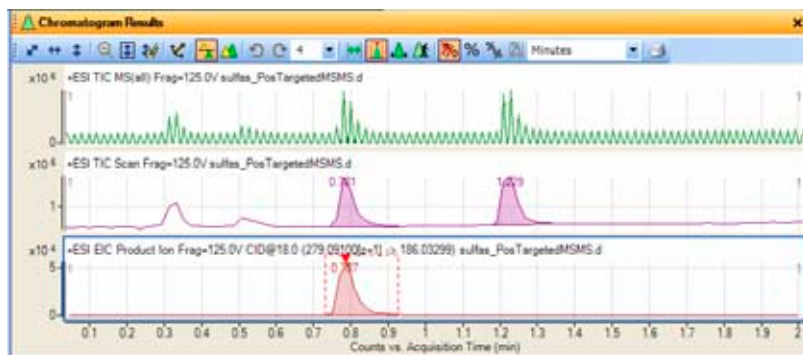


図 21 スレッシュホールド設定で積分された TIC MS と MS/MS のクロマトグラム

- 7 プロダクトイオンの EIC のシグナル / ノイズ比を計算します。
- 最初の [ピークラベル] を [面積] に、クロマトグラフピークに対する 2 番目の [ピークラベル] を [シグナル / ノイズ] に設定します。
 - [メソッドエディタ] を開きます。
 - ノイズ範囲に 0.0 – 0.76 を用いて、積分したピークのシグナル / ノイズ比を計算します。
- a [ツール] > [プロット表示オプション] をクリックし、最初の [ピークラベル] を [面積] に、2 番目の [ピークラベル] を [シグナル / ノイズ] に設定します。
- b [クロマトグラム] セクションの [メソッドエクスプローラ] で、[S/N 比の計算] をクリックします。
- c [ノイズ範囲] に 0.0 – 0.76 と入力し、[S/N 比の計算] アイコン  をクリックします。
- シグナル / ノイズ比を計算する前に、TIC がハイライトされていることを確認します。
 - ノイズ範囲に指定した面積が、[クロマトグラム結果] ウィンドウに太字で描かれます。

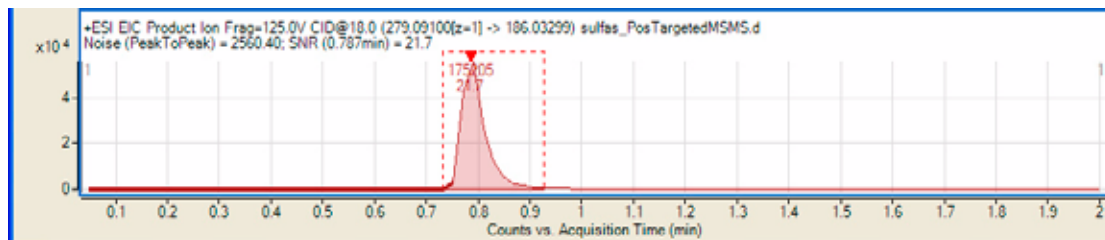


図 22 MS/MS EIC プロダクトイオンのシグナル / ノイズ結果

タスク 10. クロマトグラムの対話形式の積分 (MS と MS/MS) (続き)

ステップ	詳細説明	コメント
8 現在のメソッドに保存されている設定を復元し、[メソッドエディタ]を閉じます。	a [メソッドエクスプローラ]の[クロマトグラム]>[S/N 比の計算]セクションをクリックします。 b [メソッドエディタ]ツールバーの[ファイルの最後に保存した値に復元]アイコン  をクリックします。 c [メソッドエクスプローラ]の[クロマトグラム]>[積分 (MS/MS)]セクションをクリックします。 d アイコン  をクリックします。 e [メソッドエクスプローラ]の[クロマトグラム]>[積分 (MS)]セクションをクリックします。 f アイコン  をクリックします。 g [メソッドエディタ]を閉じます。	• 変更をキャンセルし、読み込まれたメソッドから値を復元するには、[メソッドエディタ]ツールバーの[ファイルの最後に保存した値に復元]アイコン  をクリックします。
9 ピークラベルを[リテンションタイム]に戻します。	a [ツール]>[プロット表示オプション]をクリックします。 b 最初の[ピークラベル]を[リテンションタイム]に、2番目の[ピークラベル]を[なし]に設定します。 c [OK]をクリックします。	
10 オリジナルのクロマトグラムを除き、すべてのクロマトグラムを削除します。	a [ユーザークロマトグラム]の下で、オリジナルのクロマトグラムを除きすべてのクロマトグラムをハイライトします。 b ハイライトしたクロマトグラムを右クリックし、[削除]をクリックします。	

1 定性分析の基礎の学習

タスク 11. クロマトグラムからのスペクトルの抽出 (MS と MS/MS)

タスク 11. クロマトグラムからのスペクトルの抽出 (MS と MS/MS)

このタスクでは、クロマトグラムで指定した正確な場所からスペクトルを抽出します。定性分析プログラムを呼び出し、特定のデータポイントからスペクトルを抽出するか、複数のデータポイントまたは範囲の平均から平均スペクトルを抽出することができます。

このタスクでは、クロマトグラムを進める方法、スペクトル表示オプションの変更方法、そしてバックグラウンドスペクトルの減算方法も示します。

タスク 11. クロマトグラムからのスペクトルの抽出 (MS と MS/MS)

ステップ	詳細説明	コメント
1 クロマトグラムを進め、 sulfas_PosTargetedMSMS.d の最後のピークのプリカーサイオンとプロダクトイオンを表示します。 1.15 ~ 1.35 分の範囲を拡大します。 [クロマトグラムを進める] アイコンを使用します。 - 約 1.15 分に始まるスペクトルをレビューし、矢印を右に移動させます。	- a [データナビゲータ] ウィンドウで [TIC MS (すべて)] クロマトグラムをクリックします。 - b 最後のピークを拡大するには、1.15 分のピークの上で右クリックし、1.35 分にドラッグした後、放します。 - c [クロマトグラム結果] ツールバーから [クロマトグラムを進める] アイコン  をクリックします。 - d [クロマトグラムを進める] カーソルを約 1.15 分の X 軸上に移動させ、クリックします。 - e スペクトル間を移動するには、キーボードの左右の矢印キーを使用します。	[クロマトグラムを進める] ツールは、プリカーサイオンとプロダクトイオンを同定するために、MS/MS データで特に便利です。 [クロマトグラム結果] ウィンドウでクリックする各ポイントのスペクトルは、自動的に開く [スペクトルレビュー] ウィンドウに自動的に表示されます。

タスク 11. クロマトグラムからのスペクトルの抽出 (MS と MS/MS)

タスク 11. クロマトグラムからのスペクトルの抽出 (MS と MS/MS) (続き)

ステップ	詳細説明	コメント
------	------	------



図 23 [クロマトグラムを進める]アイコンで、1.223 分のバックグラウンドの MS/MS とプロダクトイオンを表示

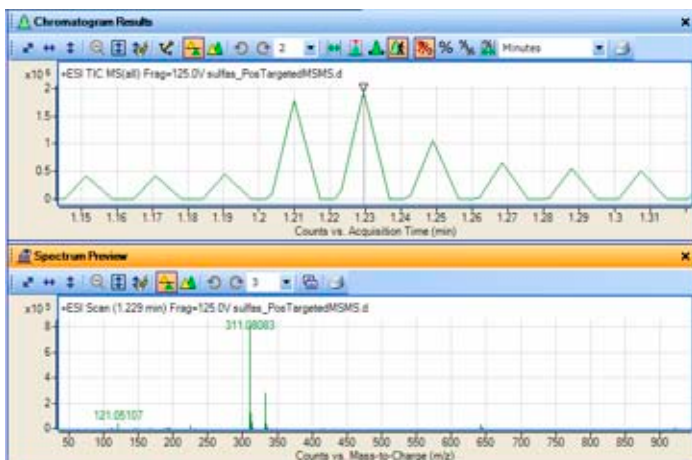


図 24 [クロマトグラムを進める]アイコンで、1.229 分のピークの MS スキャンを表示

1 定性分析の基礎の学習

タスク 11. クロマトグラムからのスペクトルの抽出 (MS と MS/MS)

タスク 11. クロマトグラムからのスペクトルの抽出 (MS と MS/MS) (続き)

ステップ	詳細説明	コメント
2	sulfas_PosTargetedMSMS.d データファイルの 0.33 分のピークと最後のピークの特定のデータポイントのスペクトルを抽出します。 0.3 ~ 0.4 分の範囲を拡大した後、[コメント]に記載のオプションのいずれかを用いて、0.33 分近辺のピーク (MS) の 1 つからスペクトルを抽出した後、谷 (MS/MS) の 1 つからのスペクトルを抽出します。 1.15 ~ 1.25 分の範囲を拡大した後、1.23 分近辺のピークの 1 つからスペクトルを抽出します (谷からはまだ抽出しません)。 - 表示を変更し、3 つ以上のスペクトルを表示します。	a [クロマトグラム結果] ツールバーの [範囲選択] アイコン  をクリックします。 b [スペクトルプレビュー] ウィンドウを閉じます。 c [クロマトグラム結果] ツールバーの [オートスケール (ズーム解除)] アイコン  をクリックします。 d 最初のピークを拡大するには、0.3 分のピークの上で右クリックし、0.4 分にドラッグした後、放します。 e 0.33 分近辺のピークで、コメント列に記載したいいずれかの方法でスペクトルを抽出します。 f 0.34 分近辺の谷で、スペクトルを抽出します。 g [クロマトグラム結果] ツールバーの [オートスケール (ズーム解除)] アイコン  をクリックします。 h 1.15 ~ 1.25 分の範囲を拡大します。 i 1.23 分近辺のピークで、コメント列に記載したいいずれかの方法でスペクトルを抽出します (谷のスペクトルはまだ抽出しません)。 j 必要に応じて、[MS スペクトル結果] ツールバーの [リストペインの最大数] アイコン隣の矢印をクリックし、3 をクリックします。 - ズームする場合、[ズーム中の Y 軸のオートスケール] アイコン  が「オン」になっていることを確認します。オンの場合、アイコンの背景色はオレンジ色です。 - 以下のいずれかの方法でスペクトルを抽出できます。 - クロマトグラムのデータポイントをダブルクリックします。 - クロマトグラムのデータポイントをクリックした後、クロマトグラム内を右クリックします。[MS スペクトルの抽出] をクリックします。[スペクトルの抽出] ダイアログボックスが表示されます。 sulfas_PosTargetedMSMS.d ファイルが選択されていることを確認し、[スペクトルの抽出] ダイアログボックスの [抽出] をクリックします。 - スペクトルを初めて抽出した時に、[MS スペクトル結果] ウィンドウが表示されスペクトルが表示されます。[ユーザースペクトル] の下にそのスペクトルとリテンションタイムのタイプが表示されます。抽出したスペクトルすべては、両方の場所に表示されます。

タスク 11. クロマトグラムからのスペクトルの抽出 (MS と MS/MS)

タスク 11. クロマトグラムからのスペクトルの抽出 (MS と MS/MS) (続き)



図 25 最初のピークの MS スキャンとプロダクトイオンスペクトル、および最後のピークの MS スキャンスペクトルが表示されたメインウィンドウ

1 定性分析の基礎の学習

タスク 11. クロマトグラムからのスペクトルの抽出 (MS と MS/MS)

タスク 11. クロマトグラムからのスペクトルの抽出 (MS と MS/MS) (続き)

ステップ	詳細説明	コメント
3	sulfas_PosTargetedMSMS.d データファイルの最後のピークのプロダクトイオンスペクトルを抽出します。 「スペクトルプレビュー」を表示します。 - リテンションタイム 1.237 分の谷からスペクトルを抽出します。 - このスペクトルを User Spectra フォルダにコピーします。 - 表示を変更し、4 つのスペクトルを表示します。 「スペクトルプレビュー」をオフにします。 a 「スペクトルプレビュー」アイコン  をクリックします。 b 1.23 分近辺の谷で、スペクトルを抽出します。 c 「スペクトル結果」ウィンドウでスペクトルを右クリックし、「ユーザースペクトルにコピー」をクリックします。 「スペクトルプレビュー」は、「MS スペクトル結果」ウィンドウの下にあります。 d 「スペクトルペイン」リスト隣の下矢印をクリックし、4 をクリックします。 e 「スペクトルプレビュー」ウィンドウを閉じます。	「スペクトルプレビュー」が有効な場合、手動で選択したスペクトルは、「データナビゲータ」の「ユーザースペクトル」セクションではなく、「スペクトルプレビュー」ウィンドウに表示されます。 「スペクトルプレビュー」がオンの場合、新しいスペクトルを抽出すると、定性分析により前のスペクトルが上書きされます。 - クロマトグラムのスペクトルを素早くレビューし、少数のみのスペクトルを保存する場合、「スペクトルプレビュー」モードが便利です。

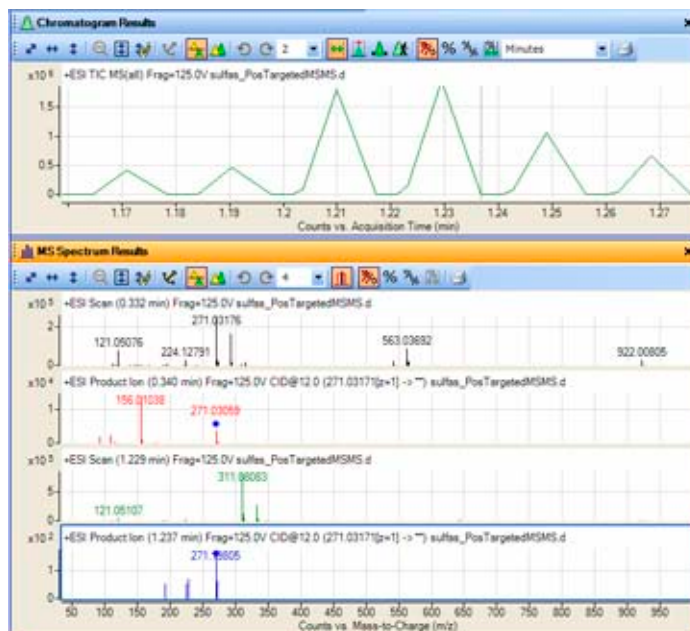


図 26 クロマトグラムの最後のピークのプロダクトイオンスペクトルを表示したメインウィンドウ

タスク 11. クロマトグラムからのスペクトルの抽出 (MS と MS/MS)

タスク 11. クロマトグラムからのスペクトルの抽出 (MS と MS/MS) (続き)

ステップ	詳細説明	コメント
4	sulfas_PosTargeted.d データファイルで、最後のピークの指定範囲内のすべてのポイントを平均したスペクトルを抽出します。 - ズームを解除します。 [クロマトグラム] ツールバーの [範囲選択] アイコンを使用します。 - 範囲をピーク全体に設定します。 - 記載されたオプションを用いてスペクトルを抽出します。 a [クロマトグラム結果] ツールバーの [X 軸と Y 軸のオートスケール] アイコン  をクリックし、完全にズームを解除します。 b [クロマトグラム] ツールバーの [範囲選択] アイコン  をクリックします。 c 最後のピークの約 1.15 分をクリックし、右の約 1.25 分の上にドラッグします。 d 右記のオプションのいずれかを用いて、平均スペクトルを抽出します。 e [スペクトルペイン] リスト隣の下矢印をクリックし、2 をクリックします。	- クロマトグラム内の選択範囲をダブルクリックすると、平均スペクトルを抽出できます。 - あるいは、クロマトグラム内を右クリックし、ショートカットメニューから [MS スペクトルの抽出] をクリックします。その後、[抽出] をクリックします。 - 平均 MS スペクトルと平均 MS/MS スペクトルの両方が表示されます。

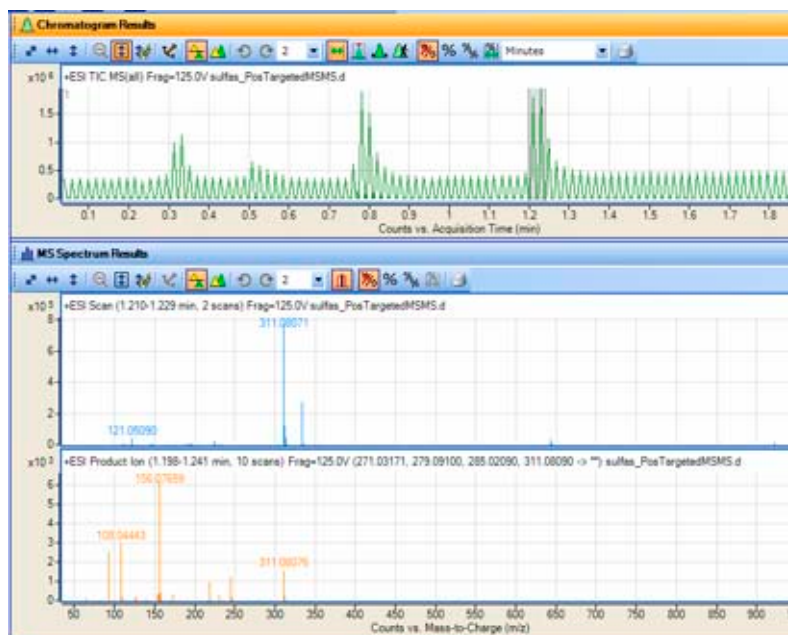


図 27 最後のピークを選択範囲から抽出した平均スペクトル

1 定性分析の基礎の学習

タスク 11. クロマトグラムからのスペクトルの抽出 (MS と MS/MS)

タスク 11. クロマトグラムからのスペクトルの抽出 (MS と MS/MS) (続き)

ステップ	詳細説明	コメント
5 sulfas_PosTargeted.d データファイルのピーク 1 と 4 の範囲を一緒に平均したスペクトルを抽出します。	a Ctrl キーを押したままにします。 b 最初のピーク左側の約 0.3 分をクリックし、右側の約 0.34 分の上にドラッグし、マウスを放します。 c Ctrl キーを放します。 d 以下オプションまたは右記のオプションのいずれかを用いて、平均スペクトルを抽出します。 いずれかのピークの選択範囲内をダブルクリックします。	2 番目のピークはステップ 4 で既に範囲が選択されています。 - スペクトルを抽出するために、クロマトグラム内を右クリックし、[MS スペクトルの抽出] をクリックすることもできます。[スペクトルの抽出] ダイアログボックスが表示されます。[抽出] をクリックします。
- ヒント：[範囲選択] アイコンと Ctrl キーを用いて、中間点から得られた [ピーク 1] の範囲を選択します。 - 右記のいずれかのオプションを用いて、スペクトルを抽出します。		



図 28 複数の範囲から作成された平均 MS と MS/MS スペクトル

タスク 11. クロマトグラムからのスペクトルの抽出 (MS と MS/MS)

タスク 11. クロマトグラムからのスペクトルの抽出 (MS と MS/MS) (続き)

ステップ	詳細説明	コメント
6 sulfas_PosTargetedMSMS.d から抽出された MS/MS TIC のピークスペクトルを抽出する際、バックグラウンドスペクトルを減算します。		
• [データナビゲータ] の [ユーザーズスペクトル] にあるスキャンをすべて削除します。 • ピークの開始とピークの終了のスペクトルの平均であるバックグラウンドスペクトルを抽出します。 • 積分したピークのピークスペクトルを抽出します。	a [データナビゲータ] の [ユーザーズスペクトル] にあるスペクトルを右クリックし、[削除] をクリックします。 b [はい] をクリックします。 c イオン 279.09100 の積分された MS/MS EIC を 100 ~ 300 の m/z 範囲で抽出します (35 ページの「タスク 9. クロマトグラムの抽出 (MS と MS/MS)」を参照)。 d [メソッドエクスプローラ] で、[スペクトル] > [抽出 (MS/MS)] をクリックします。 e [ピークスペクトル抽出 (MS/MS)] タブをクリックします。 f [ピークスペクトルバックグラウンド] ボックスで、[ピークの開始点と終了点のスペクトルの平均] をクリックします。 g [クロマトグラム結果] ツールバーの [ピーク選択] アイコンをクリックします。 h 0.8 分のピークを選択します。 i 右クリックし、[ピークスペクトルの抽出] をクリックします。	• この処理の最後に、抽出したピークスペクトルすべてに対して、指定したバックグラウンドスペクトルが自動的に減算されることを確認してください。

1 定性分析の基礎の学習

タスク 11. クロマトグラムからのスペクトルの抽出 (MS と MS/MS)

タスク 11. クロマトグラムからのスペクトルの抽出 (MS と MS/MS) (続き)

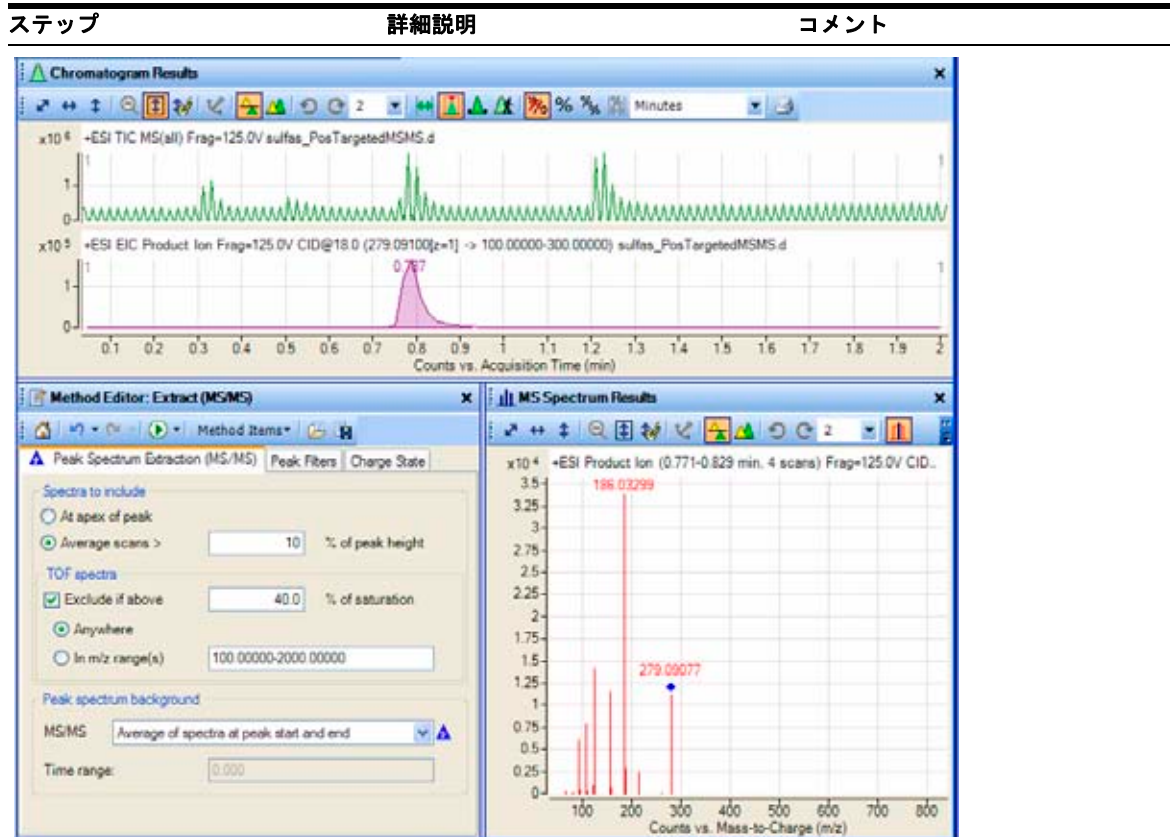


図 29 バックグラウンド減算されたプロダクトイオン (MS/MS) スペクトル

- 7 ステップ 6 からのプロダクトイオンスペクトル、186.03299 に基づく MS/MS EIC を抽出します。
 - 抽出後に積分するように選択します。
- a プロダクトイオンスペクトルを右クリックします。
- b [クロマトグラムの抽出] をクリックします。
- c [タイプ] リストで、[EIC] をクリックします。
- d [抽出時に積分] チェックボックスの選択を解除します。
- e [MS レベル] リストから、[MS/MS] をクリックします。
- f m/z 値のボックスに 186.03396 と 156.07760 を入力します。
- g [複数の質量を 1 つのクロマトグラムにマージ] チェックボックスをオンにします。
- h [OK] をクリックします。

タスク 11. クロマトグラムからのスペクトルの抽出 (MS と MS/MS)

タスク 11. クロマトグラムからのスペクトルの抽出 (MS と MS/MS) (続き)

ステップ	詳細説明	コメント
------	------	------

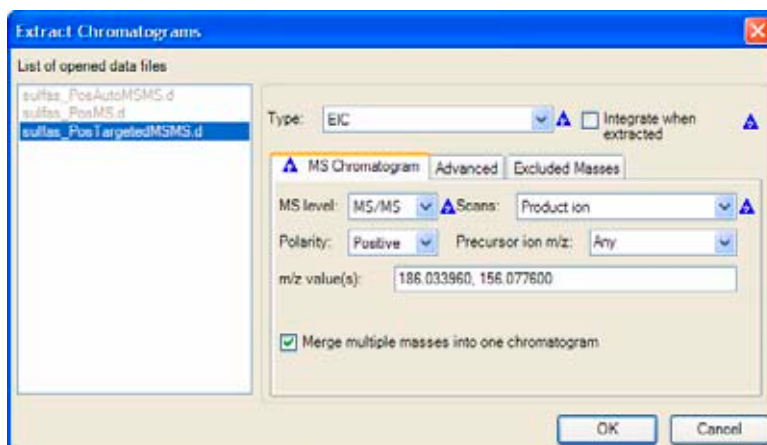


図 30 プロダクトイオンに基づく EIC に対する [クロマトグラムの抽出] ダイアログボックス

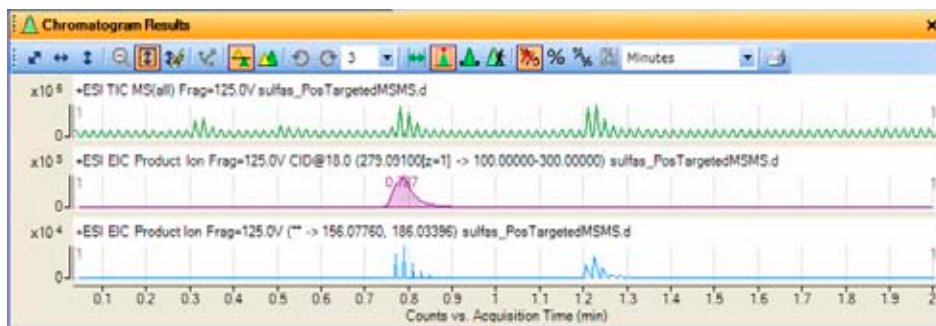


図 31 バックグラウンド減算されたプロダクトイオンスペクトルに基づく EIC

MS データと UV データのタスク

タスク 12. クロマトグラムの抽出 (MS と UV)

このタスクでは、MS と UV のクロマトグラムをデータファイルから抽出します。

タスク 12. クロマトグラムの抽出 (MS と UV)

ステップ	詳細説明	コメント
1 UV クロマトグラム (DAD1 と ADC1) を sulfas_PosMS.d データファイルから抽出します。		
sulfas_PosMS.d 以外のすべてのデータファイルを非表示にします。 - TIC MS (すべて) 以外のすべてのクロマトグラムを削除します。 - DAD1 クロマトグラムを抽出します。 - ADC1 クロマトグラムを抽出します。 - 表示されるペインの数を 3 に変更します。	a [データナビゲータ] ウィンドウで、sulfas-PosMS.d を除くデータファイルのチェックボックスの選択を解除します。 b sulfas-PosMS.d データファイルのチェックボックスをオンにします。 c TIC MS (すべて) 以外のすべてのクロマトグラムを削除します。 d 下記オプションまたは右のオプションのいずれかを用いて、[クロマトグラムの抽出] ダイアログボックスを表示します。 [クロマトグラム] > [クロマトグラムの抽出] をクリックします。 e 開いたデータファイルのリストで、sulfas-PosMS.d をクリックします。 f [タイプ] リストで、[その他のクロマトグラム] をクリックします。 g [検出器] コンボボックスで、[DAD1] を選択します。 h [OK] をクリックします。 i [クロマトグラムの抽出] ダイアログボックスを開きます。 j 開いたデータファイルのリストで、sulfas-PosMS.d をクリックします。 k [タイプ] リストで、[その他のクロマトグラム] をクリックします。 l [検出器] コンボボックスで、[ADC1] を選択します。 m [OK] をクリックします。 n [クロマトグラム結果] ツールバーで、[リストペインの最大数] が 3 に設定されていることを確認します。	- 以下の方法でもクロマトグラムを抽出できます。 - クロマトグラム内を右クリックし、[クロマトグラムの抽出] をクリックします。 [データナビゲータ] から、sulfas_PosMS.d の [TIC スキャン] をハイライトした後、[TIC スキャン] を右クリックし、[クロマトグラムの抽出] をクリックします。 - 抽出後、抽出したクロマトグラムを自動的に積分するように選択することもできます。

タスク 12. クロマトグラムの抽出 (MS と UV) (続き)

ステップ	詳細説明	コメント
------	------	------



図 32 [クロマトグラムの抽出] ダイアログボックス
[タイプ]はその他のクロマトグラム



図 33 元の TIC と比較した DAD1 と ADC1

1 定性分析の基礎の学習

タスク 13. クロマトグラムの積分 (UV) とシステム適合性値の計算 (MS と UV)

タスク 13. クロマトグラムの積分 (UV) とシステム適合性値の計算 (MS と UV)

このタスクでは、クロマトグラムを対話形式で積分し、積分パラメータを変更して結果を変更し、各ピークのシグナル / ノイズ比を表示するさまざまな方法を学習します。

タスク 13. クロマトグラムの対話形式の積分 (MS と UV)

ステップ	詳細説明	コメント
1 右のオプションのいずれかを用いて、 sulfas_PosMS.d UV クロマトグラムを積分します。 - DAD1 と ADC1 のクロマトグラムをハイライトします。 - クロマトグラムを積分します。	a DAD1 と ADC1 のクロマトグラムをハイライトします。 b 以下のオプションのいずれかを用いて、sulfas_PosMS.d UV クロマトグラムを積分します。 - メインメニューから、[クロマトグラム] > [クロマトグラムの積分] をクリックします。 - クロマトグラムをハイライトします。次に、クロマトグラムを右クリックし、[クロマトグラムの積分] をクリックします。 [データナビゲータ] で、sulfas_PosMS.d > [ユーザークロマトグラム] セクションの [TIC スキャン] をハイライトします。次に、[TIC スキャン] を右クリックし、[クロマトグラムの積分] をクリックします。	- 積分では、default.m メソッドで選択されている一般 MS 積分方式が使用されます。[クロマトグラム] > [積分 (UV)] > [積分] タブで、この値を変更できます。 - デフォルトパラメータを用いた積分では非常に小さなピークを検出することに注意してください。

タスク 13. クロマトグラムの積分 (UV) とシステム適合性値の計算 (MS と UV)

タスク 13. クロマトグラムの対話形式の積分 (MS と UV) (続き)

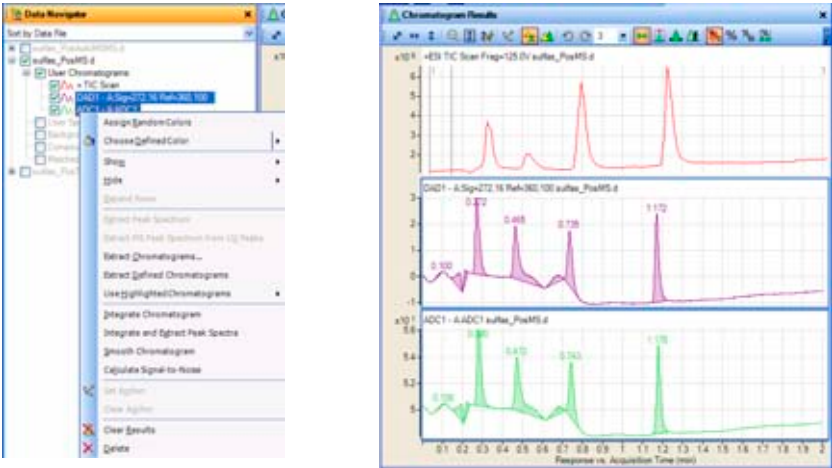
ステップ	詳細説明	コメント
		

図 34 [データナビゲータ]からのショートカットメニューと、積分された sulfas_PosMS.d TIC クロマトグラム

- 2 システム適合性の計算を有効にします。
 - [クロマトグラム] > [積分 (UV)] > [適合性] タブを表示します。
 - 適合性の計算を有効にします。
- a [メソッドエクスプローラ] から、[クロマトグラム] > [積分 (UV)] をクリックし、[積分] タブを表示します。
- b [適合性] タブをクリックします。
- c [システム適合性の計算を有効にする] をオンにします。
- d [米国薬局方 (USP)] を選択します。
- e [カラム空隙時間] ボックスに、0.15 を入力します。
- f [カラム長さ] ボックスに、500 を入力します。

- 現在のメソッドに保存されている値から設定を変更すると、青色三角形が表示されます。メソッドを保存すると、三角形は消えます。

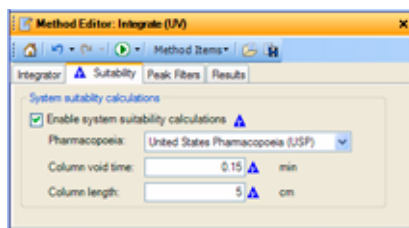


図 35 [クロマトグラム] > [積分 (UV)] > [適合性] タブ

1 定性分析の基礎の学習

タスク 13. クロマトグラムの積分 (UV) とシステム適合性値の計算 (MS と UV)

タスク 13. クロマトグラムの対話形式の積分 (MS と UV) (続き)

ステップ	詳細説明	コメント
3 クロマトグラムを再積分します	・ [メソッドエディタ] ツールバーの [クロマトグラムの積分] アイコン  をクリックし、新しい設定を用いて積分します。	
4 システム適合性の計算を表示します。 ・ [積分ピークリスト] ウィンドウを開きます。 ・ ノイズ範囲の値をレビューし、積分したピークのシグナル / ノイズ比を計算します。	- a [表示] > [積分ピークリスト] をクリックします。 - b [積分ピークリスト] ウィンドウのヘッダーを右クリックし、[フローティング] をクリックします。 - c 表示しない列のいずれかの列ヘッダーを右クリックし、[列の削除] をクリックします。 - d 任意の列ヘッダーを右クリックし、[列の追加 / 削除] をクリックして表示される列を変更します。	・ システム適合性の計算が [積分ピークリスト] テーブルに含まれます。 ・ この値には、[k']、[テーリングファクタ]、[プレート]、[プレート / M]、[対称度] などがあ



Peak	RT	Area	Area%	Height	k'	Max Y	Width	Tailing fact	Plates	Plates/M	Resolution	Symmetry
1	0.1	0.1	2.07	0.01	-0.3	0.18	0.043	0.5	1602	30040	-20	23.5
2	0.185	1.03	21.16	0.61	0.2	0.16	0.057	0.7	266	5320	4.8	3.14
3	0.214	0.45	9.19	0.46	0.4	0.25	0.028	1	1325	26500	0.8	1
4	0.272	4.39	90.03	2.91	0.8	3	0.089	1.7	815	16300	1.9	0.45
5	0.485	4.88	100	2.02	2.1	1.94	0.169	3.4	1692	33840	4.6	0.18
6	0.676	0.81	16.53	0.25	3.5	0.05	0.095	0.8	334	6680	2.2	1.77
7	0.735	3.5	71.74	2.11	3.9	1.76	0.08	1.3	4688	93760	0.6	0.62
8	1.172	4.72	96.71	3.37	6.8	2.4	0.085	1.5	19207	384140	11.4	0.58

図 36 [面積] と [シグナル / ノイズ] のラベルが付いた積分 TIC

5 デフォルトメソッドの設定を復元し、[メソッドエディタ] と [積分ピークリスト] のウィンドウを閉じます。	- a 変更をキャンセルし、デフォルトメソッドから値を復元するには、[メソッドエディタ] ツールバーの [ファイルの最後に保存した値に復元] アイコン  をクリックします。 - b [メソッドエディタ] を閉じます。 - c [積分ピークリスト] ウィンドウのヘッダーを右クリックし、[フローティング] をクリックします。 - d [積分ピークリスト] を閉じます。	ショートカットメニューから [フローティング] コマンドを 2 回目にクリックすると、[積分ピークリスト] ウィンドウが元の位置にドッキングします。
---	---	--

タスク 14. クロマトグラムからのスペクトルの抽出 (UV)

このタスクでは、クロマトグラムで指定した場所からスペクトルを正確に抽出します。定性分析プログラムを呼び出し、特定のデータポイントから UV スペクトルを抽出するか、複数のデータポイントまたは範囲の平均から平均 UV スペクトルを抽出するか、またはピークスペクトルを抽出することができます。

タスク 14. クロマトグラムからのスペクトルの抽出 (MS と UV)

ステップ	詳細説明	コメント
1	sulfas_PosMS.d データファイルの 1.2 分のピークと最後のピークの特定のデータポイントのスペクトルを抽出します。 - ADC1 クロマトグラムを削除します。 0.17 ~ 0.31 分の範囲を拡大した後、以下のコメントで説明するオプションのいずれかを用いて、0.27 分近辺のピークからスペクトルを抽出します。 [スペクトルプレビュー]を開きます。 1.1 ~ 1.3 分の範囲を拡大した後、1.17 分近辺ピークからスペクトルを抽出します。 - このスペクトルを [ユーザースペクトル] セクションにコピーします。 - 表示を変更し、2 つ以上のスペクトルを表示します。 a ADC1 クロマトグラムを削除します。 b [クロマトグラム結果] ツールバーの [X 軸と Y 軸のオートスケール] アイコン  をクリックし、完全にズーム解除します。 c [クロマトグラム] ツールバーの [範囲選択] アイコン  をクリックします。 d DAD1 クロマトグラムをハイライトします。 e 最初のピークを拡大するには、0.17 分で右クリックし、0.31 分までドラッグした後、放します。 f 0.27 分近辺のピークで、コメントに記載された方法で UV スペクトルを抽出します。 g [クロマトグラム結果] ツールバーの [オートスケール (ズーム解除)] アイコン  をクリックします。 h [スペクトルプレビュー] を開くには、[スペクトルプレビュー] アイコン  をクリックします。 i 1.1 ~ 1.3 分の範囲を拡大します。 j 1.22 分近辺のピークで、スペクトルを抽出します。スペクトルは [スペクトルプレビュー] ウィンドウに表示されます。 k スペクトルを右クリックし、[ユーザースペクトルにコピー] をクリックします。[スペクトルプレビュー] ウィンドウには、[UV スペクトル結果] ウィンドウのタブが付けられます。 l 必要に応じて、[MS スペクトル結果] ツールバーの [リストペインの最大数] アイコン隣の矢印をクリックし、2 を選択します。	- ADC クロマトグラムからスペクトルを抽出することはできません。 - ズームする場合、[ズーム中の Y 軸のオートスケール] アイコン  が「オン」になっていることを確認します。「オン」の場合、アイコンの背景色はオレンジ色です。 - 以下のいずれかの方法でスペクトルを抽出できます。 - クロマトグラムのデータポイントをダブルクリックします。 - クロマトグラムのデータポイントをクリックした後、クロマトグラム内を右クリックします。[UV スペクトルの抽出] をクリックします。[スペクトルの抽出] ダイアログボックスが表示されます。 sulfas_PosMS.d ファイルが選択されていることを確認し、[抽出] をクリックします。 - スペクトルを初めて抽出する場合、[UV スペクトル結果] ウィンドウが表示され、スペクトルが表示されます。[データナビゲータ] の [ユーザースペクトル] の下にそのスペクトルとリテンションタイムのタイプが表示されます。 [スペクトルプレビュー] が有効の場合、手動で選択したスペクトルが表示されますが、[ユーザースペクトル] セクションには保存されません。 [スペクトルプレビュー] がオンの場合、新しいスペクトルを抽出すると、前のスペクトルが上書きされます。

1 定性分析の基礎の学習

タスク 14. クロマトグラムからのスペクトルの抽出 (UV)

タスク 14. クロマトグラムからのスペクトルの抽出 (MS と UV) (続き)

ステップ	詳細説明	コメント
------	------	------

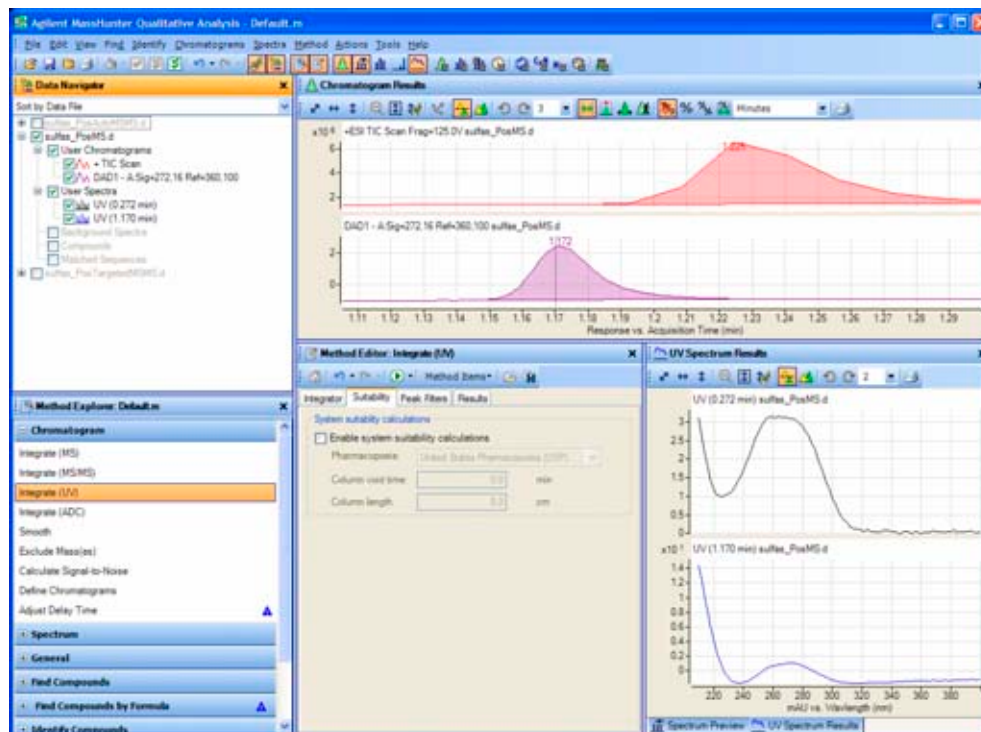


図 37 sulfas_PosMS.d ファイルの積分した 2 つのピークから抽出した UV スペクトルを表示するメインウィンドウ

タスク 14. クロマトグラムからのスペクトルの抽出 (MS と UV) (続き)

ステップ	詳細説明	コメント
2	sulfas_PosMS.d データファイルで、最後の積分 UV ピークの指定範囲内のすべての UV ポイントを平均したスペクトルを抽出します。 - 既存の [ユーザースペクトル] すべてを削除します。 - クロマトグラムのズームを解除します。 [スペクトルプレビュー] をオフにします。 [クロマトグラム] ツールバーの [範囲選択] アイコンを使用します。 - 範囲設定でピークを選択します。 - 記載されたオプションを用いてスペクトルを抽出します。 a 削除する [ユーザースペクトル] をハイライトします (Ctrl を使用)。 b 選択した [ユーザースペクトル] を右クリックし、[削除] をクリックします。 c [削除] ダイアログボックスが表示される場合、[はい] をクリックします。 d [X 軸と Y 軸のオートスケール] アイコン  をクリックし、ズームを解除します。 e [スペクトルプレビュー] ウィンドウをクリックした後、ウィンドウを閉じます。 f [クロマトグラム] ツールバーの [範囲選択] アイコン  をクリックします。 g DAD1 クロマトグラムで最後の積分ピークをクリックし、ピークの右側までドラッグします。 h 下記または右記のオプションを用いて、平均スペクトルを抽出します。 - ピークの範囲内で右クリックし、ショートカットメニューから [UV スペクトルの抽出] をクリックします。 [スペクトルの抽出] ダイアログボックスの [抽出] をクリックします。	- クロマトグラムの選択した範囲をダブルクリックしても、平均スペクトルを抽出できます。 [メッセージボックスオプション] ダイアログボックスを用いることで、クロマトグラムを削除するとき、確認を求められるかどうかを変更できます。このダイアログボックスは、[ツール] > [メッセージボックスオプション] コマンドから表示されます。 - 複数のデータファイルが読み込まれている場合に限り、[スペクトルの抽出] ダイアログボックスが表示されます。

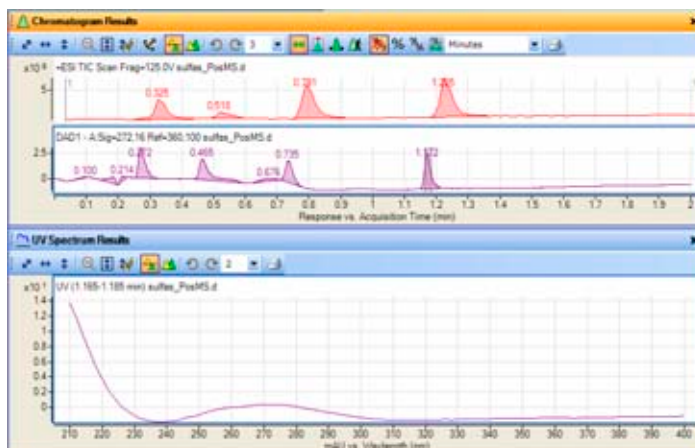


図 38 最後のピークの選択範囲から抽出した平均スペクトル

1 定性分析の基礎の学習

タスク 14. クロマトグラムからのスペクトルの抽出 (UV)

タスク 14. クロマトグラムからのスペクトルの抽出 (MS と UV) (続き)

ステップ	詳細説明	コメント
3	sulfas_PosMS.d の UV ピークスペクトルを抽出します。 • [データナビゲータ] の [ユーザーズペクトル] にあるスキャンをすべて削除します。 • DAD1 クロマトグラムを積分します。 • 3 番目の積分ピークのピークスペクトルを抽出します。	a [データナビゲータ] の [ユーザーズペクトル] にある、削除する [ユーザーズペクトル] をハイライトします (Ctrl を使用)。 b スペクトルを右クリックし、[削除] をクリックします。 c [はい] をクリックします。 d DAD1 クロマトグラムをハイライトします。 e [クロマトグラム] > [クロマトグラムの積分] をクリックします。 f [クロマトグラム結果] ツールバーの [ピーク選択] アイコンをクリックします。 g DAD1 クロマトグラムの 3 番目の積分ピークをクリックします。 h ピークを右クリックし、[ピークスペクトルの抽出] をクリックします。

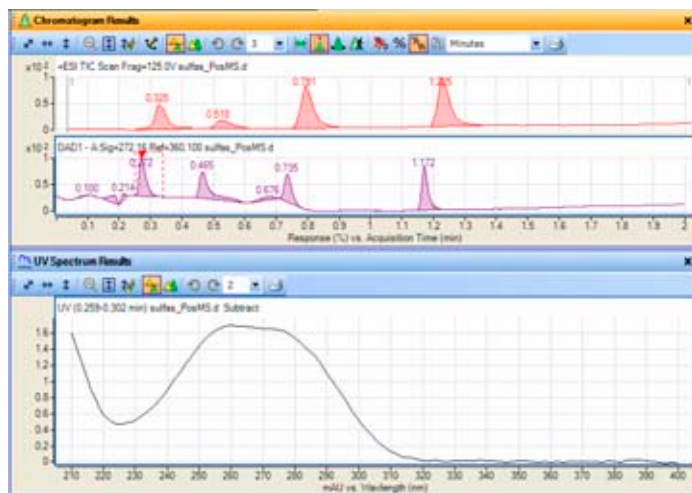


図 39 積分された DAD1 クロマトグラムと UV ピークスペクトル

4	結果またはメソッドを保存しないでプログラムを終了します。	a [ファイル] > [終了] をクリックします。 b 結果とメソッドの保存を求められたら、[いいえ] を 2 回クリックします。
---	-------------------------------------	--



実習 2 化合物の検出と同定

MS のみのデータのタスク (TOF、Q-TOF、トリプル四重極)	63
タスク 1. Molecular Feature による化合物の検出 (MS のみ)	63
タスク 2. 化学式の作成と化合物の同定 (MS のみ)	67
タスク 3. 化合物レポートの印刷 (MS のみ)	69
タスク 4. 化学式による化合物の検出とサンプル純度の計算 (MS のみ)	70
タスク 5. タンパク質消化物の Molecular Feature Extraction の実行 (MS のみ)	73
MS/MS データのタスク (Q-TOF またはトリプル四重極)	76
タスク 1. 化合物の検出 (MS と MS/MS)	76
タスク 2. 化合物の同定と化学式の推定 (MS と MS/MS)	79
タスク 3. 化合物レポートの印刷 (MS/MS のみ)	82
タスク 4. タンパク質消化物の Molecular Feature Extraction の実行 (MS と MS/MS)	84

この実習では、複雑なマトリックス中の低濃度サルファ剤を検出および同定し、TOF と Q-TOF の両データに対して化学式を作成します。TOF と Q-TOF の両データを用いた、タンパク質消化物の **Molecular Feature Extraction** も行います。トリプル四重極データでも、これらのタスクを実行できます。

- タスク 1 では、[化合物の検出] アルゴリズムを用いて化合物を検出し、各化合物の平均スペクトルを作成します。
- タスク 2 では、化学式を推定し、データベース検索を行い、化合物を同定します。
- タスク 3 では、タスク 1 と 2 の結果に基づく化合物レポートを印刷します。
- タスク 4 では、タンパク質消化物の **Molecular Feature Extraction** を実行します。



2 化合物の検出と同定

実習方法を示す表は、以下の 3 列に分けて表示されています。

- ステップ - 操作概要です。各自でプログラムを実行します。
- 詳細説明 - ステップの実行に必要な手順を示しています。
- コメント - 実習の各ステップに関するヒントや追加情報を記しています。

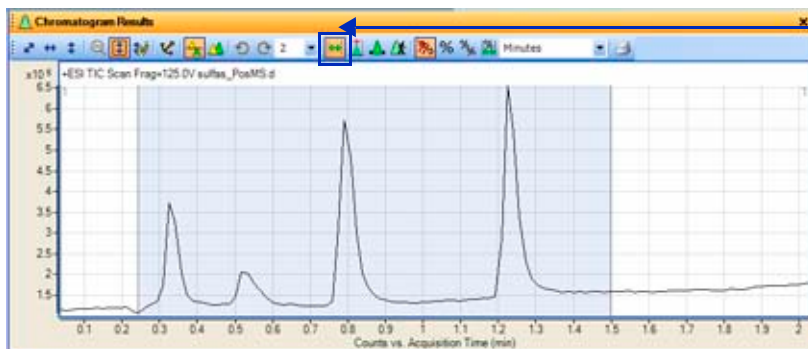
MS のみのデータのタスク (TOF、Q-TOF、トリプル四重極)

タスク 1. Molecular Feature による化合物の検出 (MS のみ)

[化合物の検出] アルゴリズムにより、データ中の化合物を検出し、各化合物の平均 MS スペクトルを作成します。この機能は、複雑なデータから情報を見つけ出すための簡単な方法です。このアルゴリズムは、MS スキャンデータを含むデータのみで使用できます。ユニットマス分解能を含むデータ (トリプル四重極データなど) では動作しません。

タスク 1. 化合物の検出 (MS のみ)

ステップ	詳細説明	コメント
1 sulfas_PosMS.d クロマトグラムを開きます。		
- 一般ワークフローを使用します。 0.24 ~ 1.5 分の範囲を選択します。	a [MassHunter 定性分析] アイコンをダブルクリックします。 b デモデータファイルのディレクトリの sulfas_PosMS.d データファイルをクリックします。[結果データの読み込み] チェックボックスの選択を解除し、[開く] をクリックします。 c [表示] > [ワークフロー用にコンフィグレーション] > [一般] をクリックします。 d [範囲選択] ツールをクリックし、0.24 ~ 1.5 分の範囲を選択します。	- Default.m メソッドが自動的に読み込まれます。このメソッドを対話的に読み込むには、[メソッド] > [開く] をクリックします。Default.m を選択し、[開く] をクリックします。 - ウィンドウがアクティブの時に F1 キーを使用すると、ウィンドウ、ダイアログボックス、タブに関するヘルプが表示できます。



[範囲選択] ツール

図 40 TIC クロマトグラムの時間範囲の選択

2 化合物の検出と同定

タスク 1. Molecular Feature による化合物の検出 (MS のみ)

タスク 1. 化合物の検出 (MS のみ) (続き)

ステップ	詳細説明	コメント
2	クロマトグラムの化合物を検出します。 • m/z を 100 ~ 350 に制限します。 • すべての化合物のクロマトグラムとスペクトルが見えることを確認します。	a [メソッドエクスプローラ]で、[化合物の検出]>[Molecular Feature による検出]をクリックします。 b [ターゲット]のデータタイプに[低分子(クロマトグラフ)]を選択します。 c [m/z の制限]チェックボックスをオンにします。 d 100-350 を入力します。 • [ターゲット]のデータタイプの詳細については、オンラインヘルプを参照してください。 • 化合物を検出するクロマトグラムの範囲を選択します。63 ページの図 40 を参照してください。 • 現在のメソッドに保存されている値から設定を変更すると、青色三角形が表示されます。メソッドを保存すると、三角形は消えます。

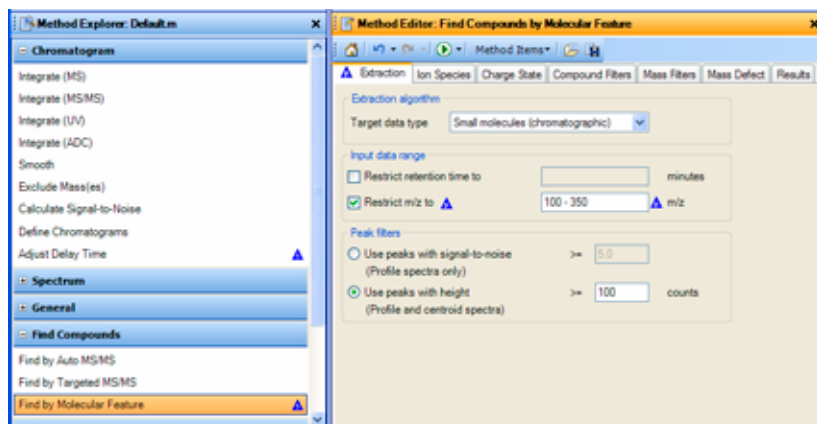
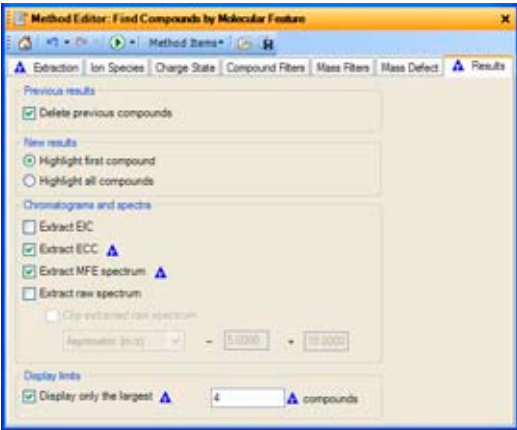


図 41 Molecular Feature により化合物を検出するための質量範囲の制限

- | | |
|--|--|
| <p>e [結果]タブをクリックします。</p> <p>f [ECC の抽出]と[MFE スペクトルの抽出]をオンにします。</p> <p>g [最大のみを表示]をオンにして、化合物の数に 4 を入力します。</p> | <ul style="list-style-type: none">• 化合物がハイライトされている場合、[検出]>[完全な結果セットを抽出]コマンドを用いて検出した後、化合物の結果一式を抽出できます。 |
|--|--|

タスク 1. 化合物の検出 (MS のみ) (続き)

ステップ	詳細説明	コメント
		
図 42	[Molecular Feature による化合物の検出] > [結果] タブの結果の変更	
h	 をクリックして、データファイルの [Molecular Feature による化合物の検出] アルゴリズムを実行します。	定性分析プログラムにより、選択した範囲から 4 つの主要化合物が検出されます。
i	[クロマトグラム結果] と [MS スペクトル結果] の両ウィンドウに表示するペイン数を変更します。	[メソッドエディタ] ツールバーで  をクリックすると、選択した範囲が自動的に使用されます。[検出] > [Molecular Feature による検出] メニューコマンドでは、[クロマトグラム全体] または [選択範囲外] のいずれかをクリックします。

2 化合物の検出と同定

タスク 1. Molecular Feature による化合物の検出 (MS のみ)

タスク 1. 化合物の検出 (MS のみ) (続き)

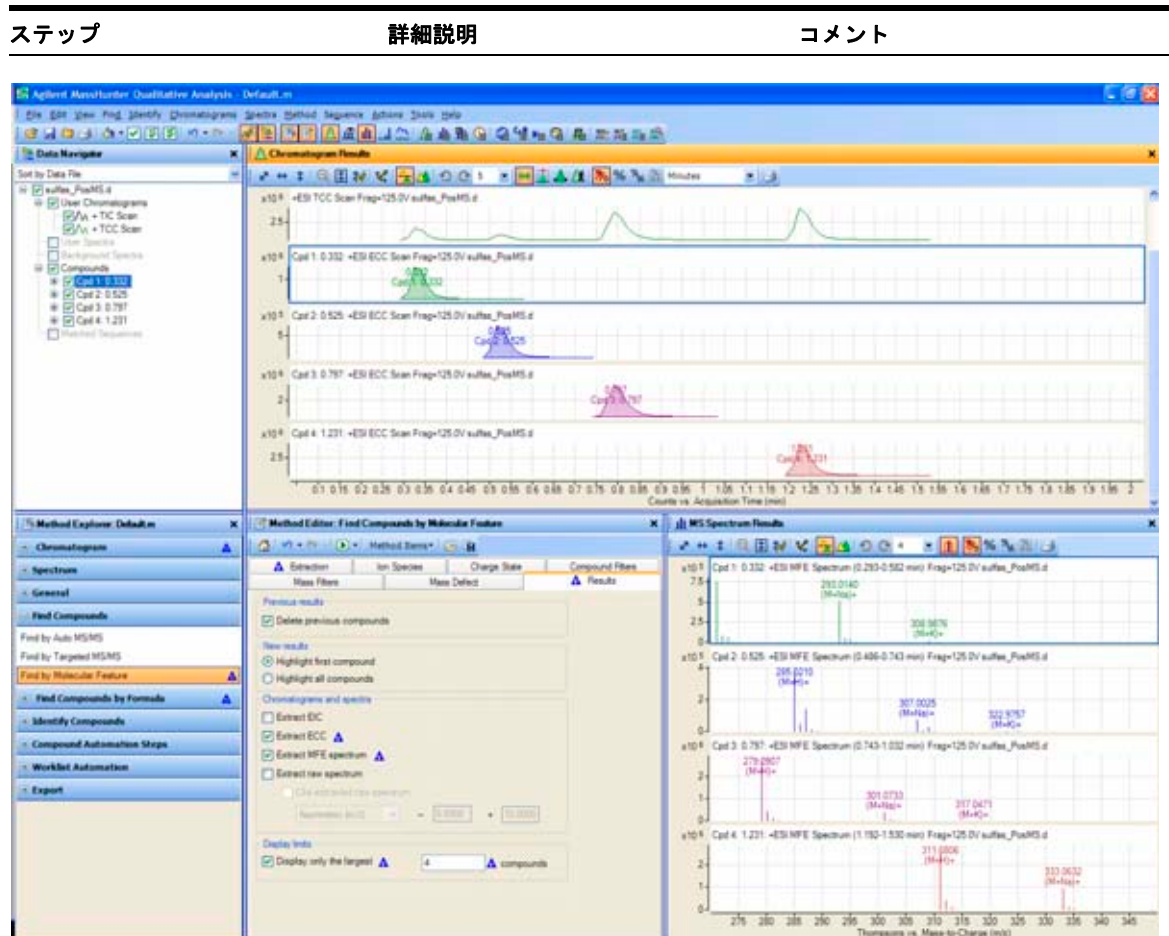


図 43 サルファ剤混合物中の 4 つの化合物すべての検出

タスク 2. 化学式の作成と化合物の同定 (MS のみ)

このタスクでは、使用できる可能性のある化学式を作成し、タスク 1 で検出された各化合物を検索します。

タスク 2. 化学式の作成と化合物の同定 (MS のみ)

ステップ	詳細説明	コメント
1 化合物 1 ~ 4 の化学式を作成します。 - 各化合物の [MS 化学式結果] を表示します。 [化合物リスト] を表示します。 [MS スペクトル結果] ウィンドウを閉じます。	a [メソッドエクスプローラ]で、[化合物の同定]>[化学式の作成]をクリックします。 b [電荷の状態] タブをクリックし、同位体モデルに[一般的な有機分子]を選択します。 c [データナビゲータ] ウィンドウで、[化合物]をクリックしてすべての化合物をハイライトします。 d [化合物から化学式を作成] アイコン  をクリックし、アルゴリズムを実行します。 e [データナビゲータ] で化合物をクリックし、その化合物の [MS 化学式結果] を確認します。 f 必要に応じて、[表示]>[化合物リスト] をクリックします。 g [表示]>[MS スペクトル結果] をクリックし、[MS スペクトル結果] ウィンドウを閉じます。	- デフォルトで、[MS 化学式結果] ウィンドウは[クロマトグラム結果] ウィンドウとともにタブが付けられます。ウィンドウの下にあるタブをクリックし、ウィンドウ間で切り替えます。 - 該当する m/z で拡大すると、スペクトルプロットの予測同位体存在比が見えます。詳細は、オンラインヘルプを参照してください。 [メソッドエディタ] ツールバーの[実行] アイコン  で、選択可能な処理から処理を選択できる場合もあります。たとえば、このセクションの[実行] アイコンをクリックすると、2つの異なる処理が行えます。矢印をクリックすると、選択可能な処理のリストが示され、どの処理を実行するかを選択できます。リストから違う処理を選択して、デフォルトの処理を変更します。[実行] ボタンをクリックすると、デフォルトの処理が実行されます。
2 化合物 1 ~ 4 の化学式に基づき、データベース検索を実行します。 化学式のデータベース検索を行います。	a [データナビゲータ] ウィンドウで、[化合物] をクリックします。 b [メソッドエクスプローラ] で、[化合物の同定]>[データベースの検索] をクリックします。 c [検索基準] の [分子式] をクリックします。 d メインメニューで [同定]>[データベースで化合物を検出] をクリックします。	[化合物リスト] の 4 つのサルファ剤がすべてを同定されたことを確認してください (図 44 を参照)。 [データベース検索結果] ウィンドウが表示されていない場合、[表示]>[データベース検索結果] をクリックします。

2 化合物の検出と同定

タスク 2. 化学式の作成と化合物の同定 (MS のみ)

タスク 2. 化学式の作成と化合物の同定 (MS のみ)

ステップ

詳細説明

コメント

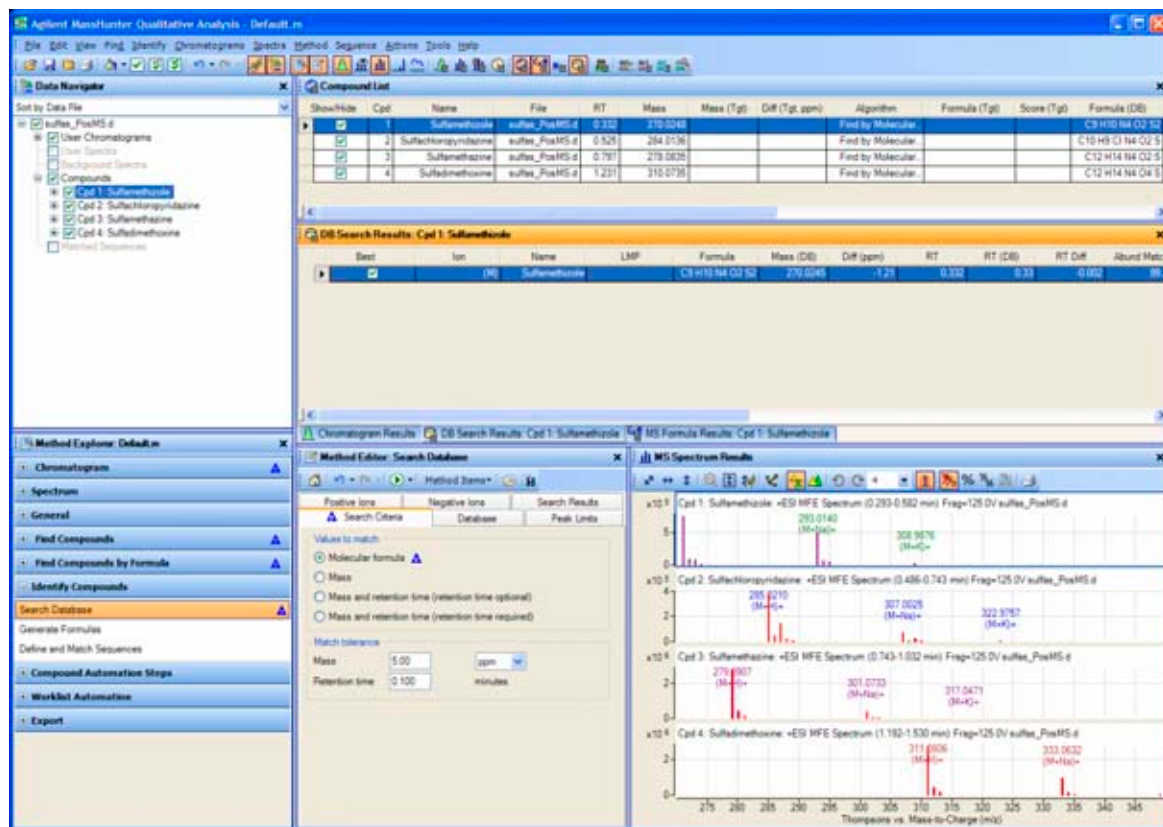


図 44 sulfas_PosMS.d の化合物 1 ～ 4 の MS 化学式とデータベース検索結果

タスク 3. 化合物レポートの印刷 (MS のみ)

このタスクでは、**タスク 1. Molecular Feature** による化合物の検出 (MS のみ) ([63 ページ](#)) で検出され、**タスク 2. 化学式の作成と化合物の同定 (MS のみ)** ([67 ページ](#)) で同定された各化合物のレポートを作成します。

タスク 3. 化合物レポートの印刷 (MS のみ)

ステップ	詳細説明	コメント
1 化合物レポートに対するメソッドの選択の一部を変更します。	- a [メソッドエクスプローラ]で、[一般]>[化合物レポート]をクリックします。 - b [MS スペクトルの表示 (指定ピークの拡大表示)]チェックボックスの選択を解除します。 - c [MS/MS スペクトルの表示]チェックボックスの選択を解除します。 - d [MS/MS ピークテーブルの表示]チェックボックスの選択を解除します。 - e [化合物レポートの印刷]アイコンをクリックし、アルゴリズムを実行します。	• これらのチェックボックスにより、情報が使用できる場合にレポートに含めることのできる情報を指定できます。情報が使用できない場合、このセクションは自動的に省略されます。たとえば、データファイルに MS データしかない場合、MS/MS 結果がレポートに含まれることはありません。

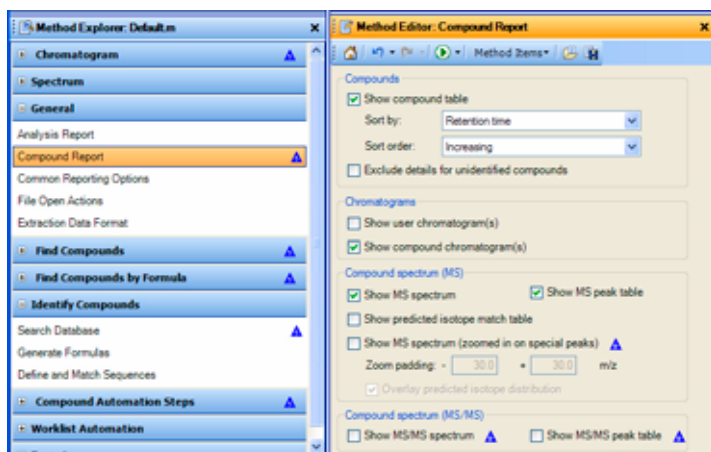


図 45 [メソッドエディタ]の[化合物レポート]ウィンドウ

- 2 結果を保存しないで、データファイルを閉じます。
 - a [ファイル]>[データファイルを閉じる]をクリックします。
 - b 結果の保存を求められたら、[いいえ]をクリックします。

2 化合物の検出と同定

タスク 4. 化学式による化合物の検出とサンプル純度の計算（MS のみ）

タスク 4. 化学式による化合物の検出とサンプル純度の計算（MS のみ）

[化合物の検出] アルゴリズムにより、データ中の化合物を検出し、各化合物の平均 MS スペクトルを作成します。この機能は、複雑なデータから情報を見つけ出すための簡単な方法です。また、サンプルの純度も計算できます。

タスク 4. 化学式による化合物の検出（MS のみ）

ステップ	詳細説明	コメント
1 sulfas_PosMS.d クロマトグラムを開きます。 - 一般ワークフローを使用します。 0.2 ~ 1.5 分の範囲を選択します。	- a [ファイル] > [データファイルを開く] をクリックします。 - b sulfas_PosMS.d を選択して [OK] をクリックします。 - c [表示] > [ワークフロー用にコンフィグレーション] > [一般] をクリックします。 - d [クロマトグラム結果] ツールバーの [ズーム中に Y 軸をオートスケール] ボタンをクリックします。 - e [範囲選択] ツールをクリックし、0.2 ~ 1.5 分の範囲を選択します。	- 化学式確認とサンプル純度のワークフローに切り替える場合、[化合物リスト] テーブルは自動的にサンプル純度の列を表示します。 [化学式確認とサンプル純度のワークフロー] セクションには [式による検出] セクションがあります。
2 クロマトグラムの指定範囲内の化合物を検出します。 - サンプル純度の計算を有効にします。 - TIC %、ADC %、UV A%、UV B% の純度値を計算します。 - 純度値には最大値を使用します。 [化合物リスト] ウィンドウに列を追加します。 - 結果をレビューします。	- a [メソッドエクスプローラ] で、[化学式による化合物の検出] > [化学式による検出オプション] タブをクリックします。 - b 確認する化学式の [ソース] として [データベース] をクリックします。 - c [メソッドエクスプローラ] で、[化学式による化合物の検出] > [化学式による検出サンプル純度] タブをクリックします。 - d [サンプル純度の計算] チェックボックスをオンにします。 - e [TIC %]、[ADC %]、[UV A%]、[UV B%] のチェックボックスをオンにします。 - f [選択したすべてのアルゴリズムの最大値] をクリックします。 - g [最小許容純度] ボックスに 20 を入力します。	現在のメソッドに保存されている値から設定を変更すると、青色三角形が表示されます。メソッドを保存すると、三角形は消えます。

タスク 4. 化学式による化合物の検出とサンプル純度の計算 (MS のみ)

タスク 4. 化学式による化合物の検出 (MS のみ) (続き)

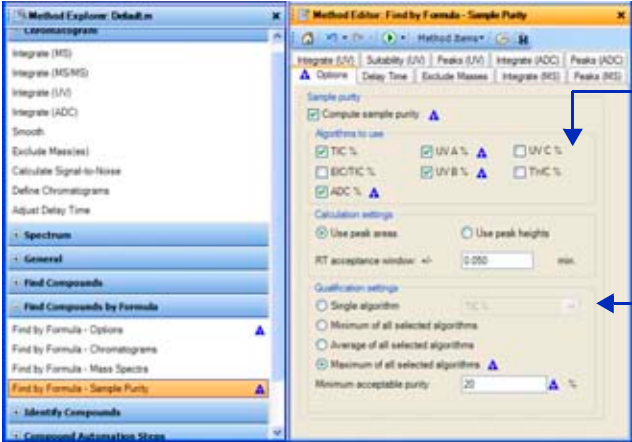
ステップ	詳細説明	コメント
		サンプル純度の計算に使用されない場合でも、選択されたすべてのアルゴリズムが計算されます。 このセクションでサンプル純度を計算する方法を指定します。

図 46 [化学式による化合物の検出] アルゴリズムのサンプル純度オプション設定

- h  をクリックして、データファイルの [化学式による化合物の検出] アルゴリズムを実行します。
 - i [クロマトグラム結果] と [MS スペクトル結果] の両ウィンドウに表示するペイン数を変更します。
 - j [表示] > [化合物リスト] をクリックし、[化合物リスト] ウィンドウを開きます。
 - k 化合物リストの列を右クリックし、[列の追加 / 削除] をクリックして [化合物列] ダイアログボックスを開きます。
 - l [カテゴリ] 列ヘッダーをクリックして、列を並べ替えます。
 - m [純度値]、[純度結果]、[ADC% 面積]、[TIC% 面積]、[UVA% 面積]、[UVB% 面積] の各列をオンにします。
 - n [OK] をクリックします。
- ・ 定性分析プログラムにより、選択した範囲から 6 つの主要化合物が検出されます。
 - ・ 選択していない他の列は [化合物リスト] テーブルから削除され、[サンプル純度] 結果のみ表示できます。
 - ・ [化合物リスト] は [定性分析] ウィンドウの上部にドッキングされ、さらに多くの列が表示されるようになります。ウィンドウの移動の詳細については、19 ページの「[タスク 4. ウィンドウレイアウトの変更](#)」を参照してください。

2 化合物の検出と同定

タスク 4. 化学式による化合物の検出とサンプル純度の計算 (MS のみ)

タスク 4. 化学式による化合物の検出 (MS のみ) (続き)

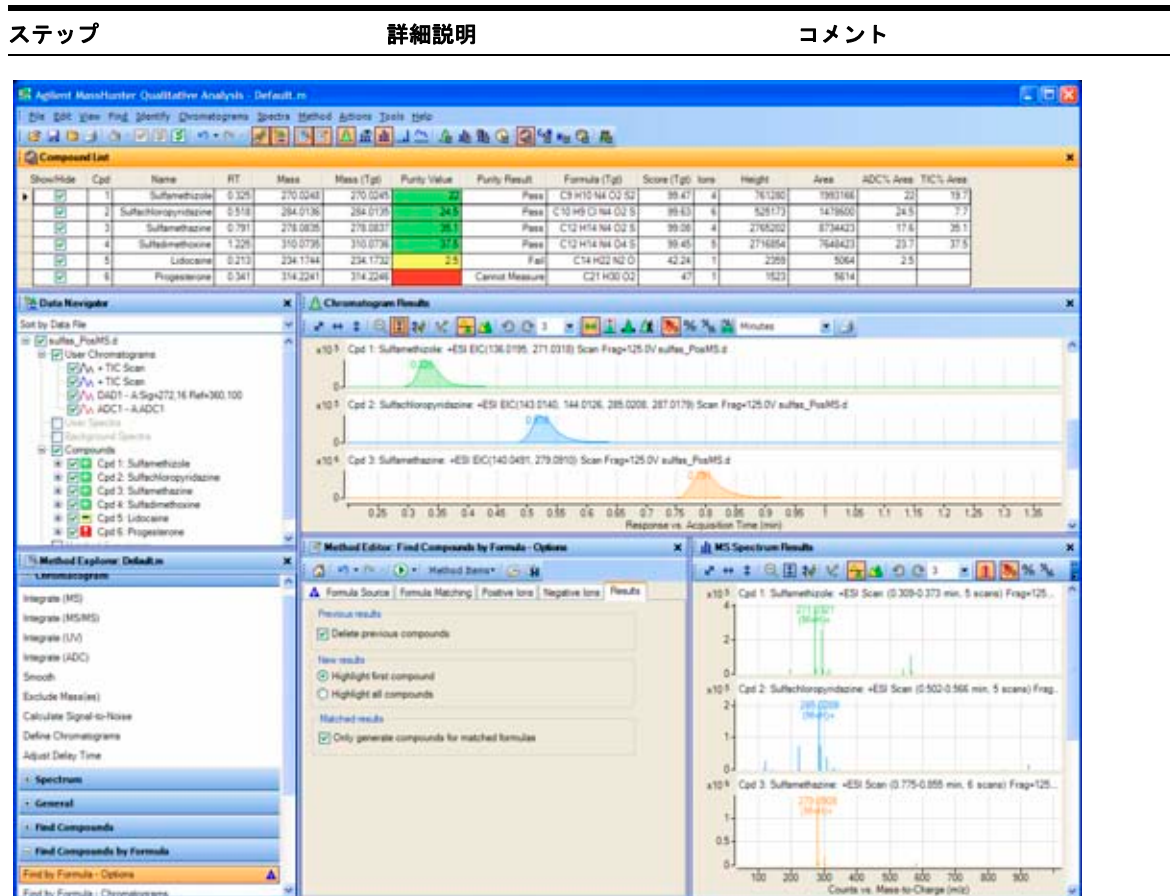


図 47 サルファ剤混合物中の 4 つの化合物すべての検出

- [データナビゲータ] の [化合物] のアイコンは、化合物がサンプル純度テストに合格したかどうかを示します。

- [純度値] 列は次のように色分けされています。
 - 緑 - 合格
 - 黄色 - 不合格
 - 赤 - 測定不可

3 結果を保存しないで、データファイルを閉じます。

- [ファイル] > [データファイルを閉じる] をクリックします。
- 結果の保存を求められたら、[いいえ] をクリックします。

タスク 5. タンパク質消化物の Molecular Feature Extraction の実行 (MS のみ)

このタスクでは、MS データのみを用いてタンパク質消化物の Molecular Feature Extraction を行います。

タスク 5. タンパク質消化物の Molecular Feature Extraction の実行 (MS のみ)

ステップ	詳細説明	コメント
1	以下のパラメータを用いて、データファイル peptide-ms-only.d の Molecular Feature Extraction を行います。 - 時間範囲は 2.5 ~ 4 分です。 - 同位体モデルをペプチドに指定します。 - アバンダンスの最大 20 化合物のみを表示するようにフィルタをかけます。 - ウィンドウレイアウトを変更し、図 48 (次ページ) に合わせます。 a peptide-ms-only.d データファイルを開きます。 b [メソッドエクスプローラ] で [化合物の検出] > [Molecular Feature による検出] をクリックし、[メソッドエディタ] ウィンドウにパラメータを表示します。 c [抽出] タブで、[リテンションタイムの制限] チェックボックスをオンにします。 d 2.5 - 4 と入力します。 e 必要に応じて、[m/z の制限] チェックボックスの選択を解除します。 f [電荷の状態] タブで [同位体モデル] ボックスに [ペプチド] を選択します。 g [化合物フィルタ] タブで、[最大化合物の数を制限する] チェックボックスをオンにし、化合物数を 20 と入力します。 h [結果] タブで [ECC の抽出] と [MFE スペクトルの抽出] チェックボックスをオンにします。 i  をクリックして、データファイルの [Molecular Feature による化合物の検出] アルゴリズムを実行します。 j 必要に応じて、[クロマトグラム結果] ツールバーの [リストペインの最大数] から 2 をクリックします。	[最大化合物の数を制限する] フィルタで抽出される Feature 数は制限されません。定性分析プログラムで表示される化合物数を制限するだけです。 - 生成される .mhd ファイルは、データファイルディレクトリの Results ディレクトリに保存されます。 [定性分析 Molecular Feature] アルゴリズムを用いて、Feature を抽出します。この後、Agilent MassHunter Profiling ソフトウェアまたは GeneSpring MS ソフトウェアを用いて、異なる抽出からのデータを比較できます。 [MHD ファイルにすべてのフィルタを適用] をクリックすると、フィルタに適合する化合物のみが MHD ファイルに書き込まれます。これをクリックしない場合、化合物は、フィルタが適用される前に MHD ファイルに書き込まれます。[最大化合物の数を制限する] フィルタが MHD ファイルに適用されることはありません。
2	m/z 570.7362 イオンの化合物スペクトルを検出し、電荷の状態、質量、イオン種を特定します。 a [MS スペクトル結果] ウィンドウで、スクロールして m/z 570.7362 のイオンを含むスペクトルを検出します。 b 電荷の状態を検出します。 c イオン種を検出します。 d [化合物リスト] でこの化合物を検出します。 e 質量を検出します。	- 化合物 4 には、電荷状態が +2 のこのイオンを含むスペクトルがあります。 - 質量は 1139.4577 です。イオン種は (M+2H)+2 です。イオン種は [MS スペクトル結果] ウィンドウに表示されます。また [スペクトルピークリスト] ウィンドウの [イオン] という名前の列にも表示されます。

2 化合物の検出と同定

タスク 5. タンパク質消化物の Molecular Feature Extraction の実行 (MS のみ)

タスク 5. タンパク質消化物の Molecular Feature Extraction の実行 (MS のみ)

ステップ

詳細説明

コメント

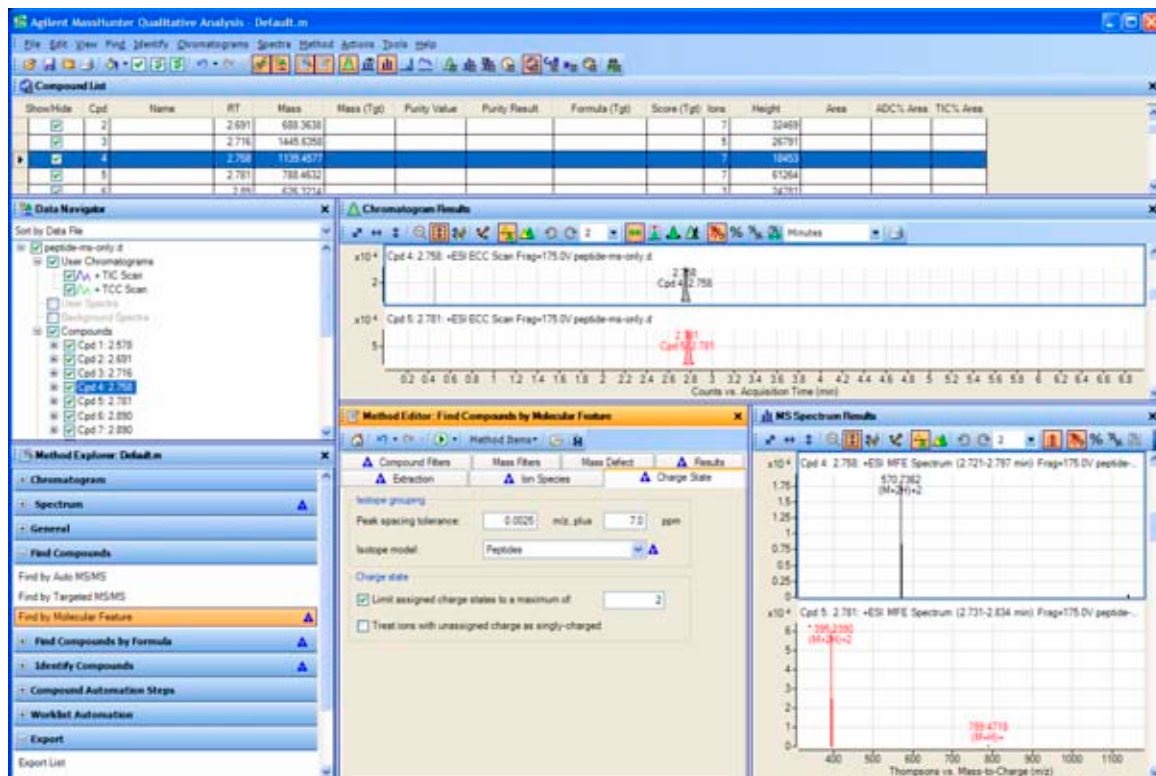


図 48 定性分析での Molecular Feature による化合物の検出

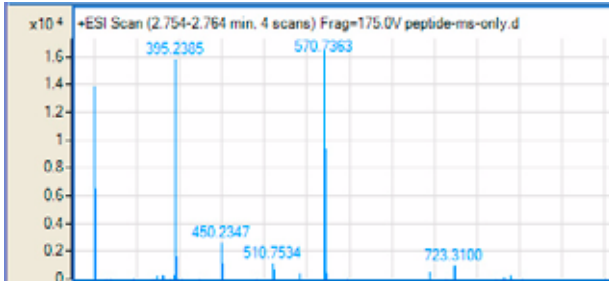
3 このペプチドの積分した EIC を抽出します。

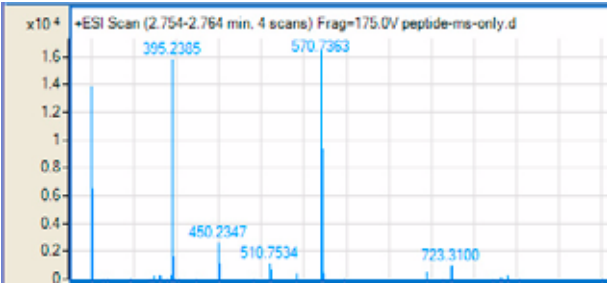
- m/z 値として 570.7362 を使用します。

- データファイルの TIC を右クリックし、[クロマトグラムの抽出] をクリックします。
- [タイプ] リストで、[EIC] をクリックします。
- [抽出時に積分] チェックボックスをオンにします。
- m/z 値に 570.7362 を入力し、[OK] をクリックします。

タスク 5. タンパク質消化物の Molecular Feature Extraction の実行 (MS のみ)

タスク 5. タンパク質消化物の Molecular Feature Extraction の実行 (MS のみ)

ステップ	詳細説明	コメント
4	EIC の最初の積分ピークの平均スペクトルを抽出します。 - 最初の積分ピークであると思われる物を拡大します。 - 最高ピークを中間点とした範囲を選択します。	a EIC を右クリックし、カーソルをドラッグし、最初の積分ピーク周辺を拡大します。 b [範囲選択] アイコンが選択されていることを確認し、ピーク全域にわたる範囲を選択します。
		
	c ピークの影の付いた領域をダブルクリックし、平均スペクトルを抽出します。	
		
5	データファイルを閉じます。	a [ファイル]>[データファイルを閉じる] をクリックします。 b 結果の保存を求められたら、[いいえ] をクリックします。



2 化合物の検出と同定

MS/MS データのタスク (Q-TOF またはトリプル四重極)

MS/MS データのタスク (Q-TOF またはトリプル四重極)

タスク 1. 化合物の検出 (MS と MS/MS)

[化合物の検出] アルゴリズムにより、MS/MS データ中の化合物を同定し、各化合物の平均 MS スペクトルと MS/MS スペクトルを作成します。この機能は、複雑なデータから情報を見つけ出すための簡単な方法です。

タスク 1. 化合物の検出 (MS と MS/MS)

ステップ	詳細説明	コメント
1 sulfas-PosAutoMSMS.d データファイルの TIC を開き、0.2 ～ 1.3 分の範囲を選択します。 - 一般ワークフローを使用します。 0.2 ～ 1.3 分の範囲をハイライトします。	- a プログラムが開いていない場合、[Masshunter 定性分析] アイコンをダブルクリックします。開いている場合は、[ファイル] > [データファイルを開く] をクリックします。 - b デモデータファイルのディレクトリの sulfa-PosAutoMSMS.d データファイルをクリックし、[開く] をクリックします。 - c [表示] > [ワークフロー用にコンフィグレーション] > [一般] コマンドをクリックします。 - d 必要に応じて、[クロマトグラム結果] ツールバーの [範囲選択] アイコンをクリックし、0.2 ～ 1.3 分の範囲を選択します。	• default.m メソッドが自動的に開きます。別のメソッドを開くには、[メソッド] > [開く] をクリックしてメソッドを選択し、[開く] をクリックします。 • 青色の三角形が [メソッドエクスプローラ] の [遅延時間の調整] タブに自動的に表示されます。このデータファイルは DAD データと ADC データにも含まれます。遅延時間を入力する場合以外は、この青色の三角形は無視してかまいません。

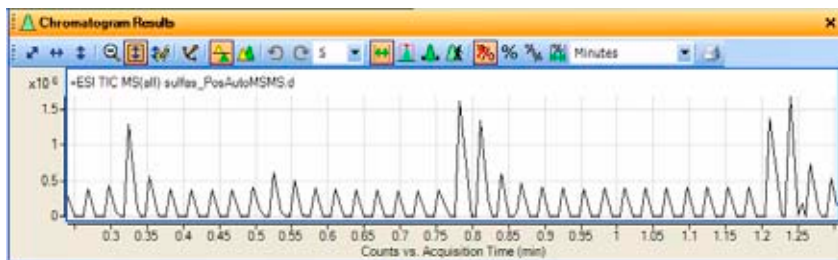


図 49 sulfas-PosAutoMSMS.d データファイルの TIC クロマトグラムに選択された範囲

タスク 1. 化合物の検出 (MS と MS/MS)

ステップ	詳細説明	コメント
2	クロマトグラムの 0.2 ~ 1.3 分から化合物を検出します。 - 正の MS/MS TIC スレッシュホールド 100,000 を入力します。 121.0504 と 922.0097 の質量を定量しないようにします。 a [メソッドエクスプローラ]で、[化合物の検出]>[自動 MS/MS で検出]をクリックします。 b [処理]の[正の MS/MS TIC スレッシュホールド]に、100000 を入力します。 c [除外する質量]タブをクリックします。 d [すべての新しいクロマトグラムから質量 (または m/z 範囲) を除外する]をクリックします。 e 121.0504、922.009 を入力します。 f [対称 (ppm)]を選択します。 g 20 を選択します。	- 化合物を検出するクロマトグラムの範囲を選択します。図 49 を参照してください。 - 化合物がハイライトされている場合、[検出]>[完全な結果セットを抽出]メニュー項目を用いて検出した後、化合物の完全な結果セットを抽出できます。

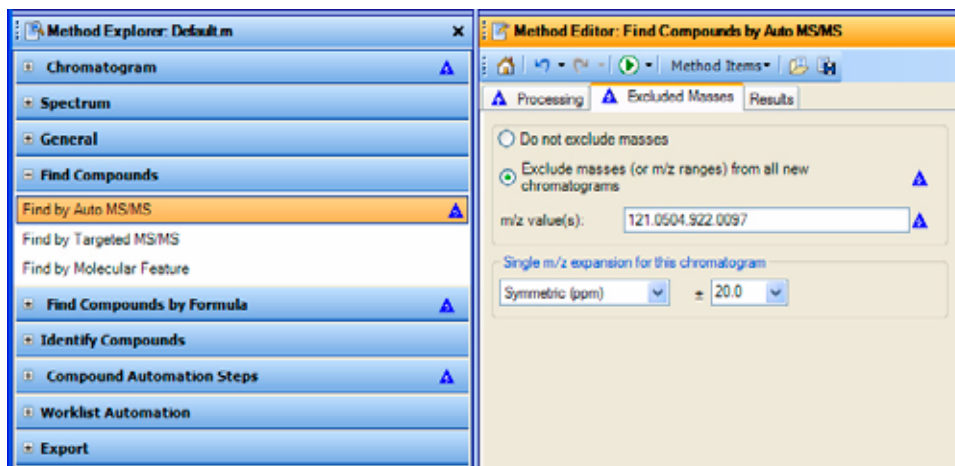


図 50 [自動 MS/MS で化合物を検出]の[除外する質量]タブ

- EIC、MS スペクトル、MS/MS スペクトルの抽出を選択します。
- h [結果]タブをクリックします。
- i [EIC、MS、MS/MS の抽出]チェックボックスをオンにします。
- j [実行]をクリックして、データファイルの[自動 MS/MS による化合物の検出]アルゴリズムを実行します。
- 定性分析プログラムにより、これらの条件で選択範囲から 4 つの化合物が検出されます。
- 次のタスクでは、どの化合物がサルファ剤かを同定します。

2 化合物の検出と同定

タスク 1. 化合物の検出 (MS と MS/MS)

タスク 1. 化合物の検出 (MS と MS/MS)

ステップ	詳細説明	コメント
3 化合物 4 のみの MS,MS/MS 両スペクトルを表示します。図 51 を参照してください。	a 化合物 4 のみをハイライトします。 b メインツールバーの[ハイライトされた項目のみを表示]アイコンをクリックします。 c 化合物 4 を展開し、クロマトグラムと 2 つのスペクトルを表示します。	- MS,MS/MS 両方のスペクトルを表示できると、ひとつの化合物のすべての情報を表示できて便利です。 - プリカーサとプロダクトの両スペクトルが各化合物から抽出されることに注目してください。赤の菱形はプリカーサイオンを表します。

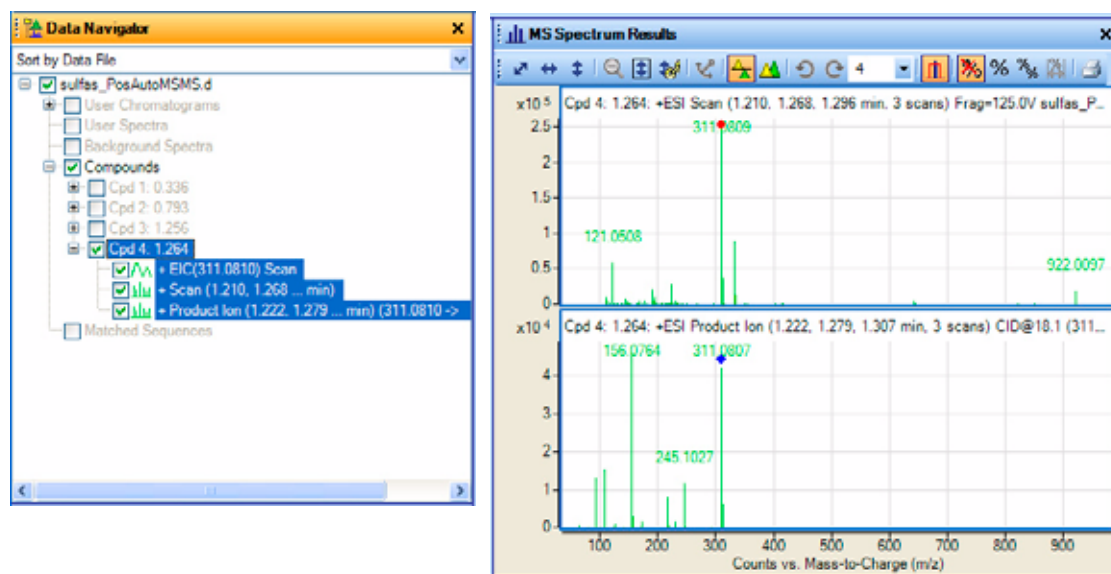


図 51 化合物 4 の MS スペクトルと MS/MS スペクトルを表示した [データナビゲータ] ウィンドウと [MS スペクトル結果] ウィンドウ

タスク 2. 化合物の同定と化学式の推定 (MS と MS/MS)

このタスクでは、タスク 1 で検出された化合物の化学式を同定および推定します。

タスク 2. 化合物の同定と化学式の推定 (MS と MS/MS)

ステップ	詳細説明	コメント
1 質量に基づき化合物 1～4 のデータベース検索を行います。	a [データナビゲータ]ウィンドウのすべての化合物をハイライトします。 b [メソッドエクスプローラ]で、[化合物の同定]>[データベース検索]をクリックします。 c [検索基準]タブの[質量]をクリックします。 d メインメニューで[同定]>[化合物のデータベースを検索]をクリックします。[データベースで化合物を検索]アイコン  を代わりにクリックし、アルゴリズムを実行することもできます。 e [表示]>[化合物リスト]をクリックします。 f [表示]>[MS スペクトル結果]をクリックして、[MS スペクトル結果]ウィンドウを閉じます。 g [化合物リスト]の各化合物の[表示 / 非表示]チェックボックスをオンにします。最後のタスクでは化合物 1～4 は非表示にされています。あるいは、メインツールバーの[ハイライトされた項目をすべて表示]アイコンを使用します。 h [クロマトグラム結果]タブをクリックして、[クロマトグラム結果]ウィンドウを表示します。このウィンドウには、[MS 化学式結果]ウィンドウと[データベース検索結果]ウィンドウとともにタブが付けられます。	[化合物リスト]で 3 つのサルファ剤が同定されたことを確認してください (81 ページの図 53 を参照)。 - データベース検索で、化合物 3 の化合物名が検出されなかったことを確認してください。

2 化合物の検出と同定

タスク 2. 化合物の同定と化学式の推定 (MS と MS/MS)

タスク 2. 化合物の同定と化学式の推定 (MS と MS/MS)

ステップ

詳細説明

コメント

The screenshot displays the Agilent MassHunter Qualitative Analysis software interface. The 'Data Navigator' on the left shows the project structure for 'sulfas-PosAutoMSMS.d'. The 'Compound List' table at the top right lists four identified compounds: Sulfamethazole, Sulfamethoxazole, Sulfadiazine, and Sulfathiazole. The 'Chromatogram Results' section shows four stacked chromatograms corresponding to these compounds, with peaks labeled at retention times 0.736, 0.736, 1.256, and 1.256 minutes. The 'Method Editor' at the bottom shows the search criteria and results for the 'Sulfamethazole' compound.

Show/Hide	Cpd	Name	File	RT	Mass	Mass (Tgt)	Diff (Tgt, ppm)	Algorithm	Formula (Tgt)	Score (Tgt)	Formula (DB)
☒	1	Sulfamethazole	sulfas_PosAuto	0.736	270.026			Auto MS/MS			C7H10N4O2 S
☒	2	Sulfamethoxazole	sulfas_PosAuto	0.736	278.0836			Auto MS/MS			C12H14N4O3 S
☒	3	Sulfadiazine	sulfas_PosAuto	1.256				Auto MS/MS			
☒	4	Sulfathiazole	sulfas_PosAuto	1.256	310.0796			Auto MS/MS			C13H14N4O4 S

Chromatogram Results

Chromatogram Results: DB Search Results: Cpd 1: Sulfamethazole

Method Editor: Search Database

Search Criteria: Databases: Peak Limits: Positive ions: Negative ions: Search Results

Values to match:

- ☐ Molecular formula
- ☒ Mass
- ☐ Mass and retention time (Intermission time optional)
- ☐ Mass and retention time (Intermission time required)

Match tolerance:

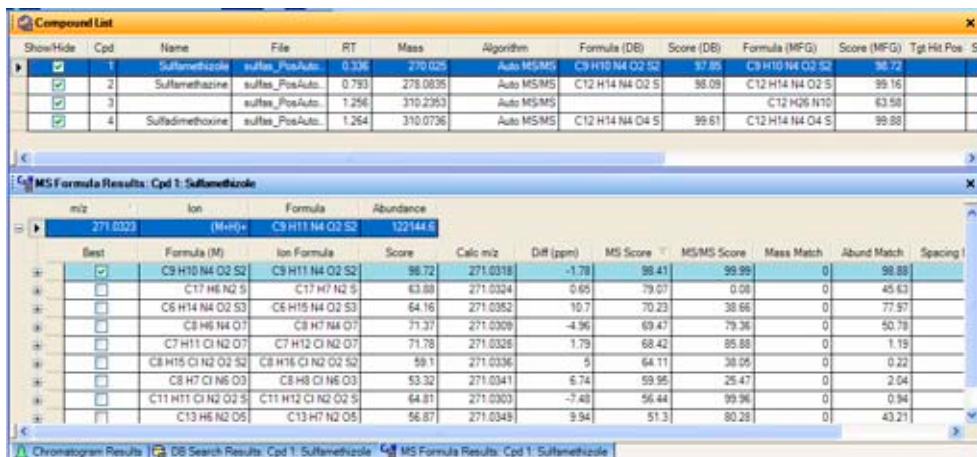
Mass: 1.00 ppm

Retention time: 1.00 minutes

図 52 sulfas-PosAutoMSMS.d データファイルの化合物とその同定

タスク 2. 化合物の同定と化学式の推定 (MS と MS/MS)

ステップ	詳細説明	コメント
2 化合物 1 ~ 4 の化学式を推定します。	a [メソッドエクスプローラ]で、[化合物の同定]>[化学式の作成]をクリックします。	デフォルトでは、[MS 化学式結果]ウィンドウは[クロマトグラム結果]ウィンドウとともにタブが付けられます。ウィンドウの下にあるタブをクリックし、ウィンドウ間を切り替えます。
• 各化合物の [MS 化学式結果] を表示します。	b [電荷の状態] タブをクリックし、[一般的な有機分子]を選択します。	該当する m/z で拡大すると、スペクトルプロットの予測同位体存在比が見えます。詳細は、オンラインヘルプを参照してください。
• [化合物リスト] を表示します。	c [化合物から化学式を作成] アイコン  をクリックし、アルゴリズムを実行します。	すべての化合物に関して 1 つ以上の化学式が検出されます。
• [MS スペクトル結果] ウィンドウを閉じます。	d [MS 化学式結果] ウィンドウの [+] 記号をクリックして、テーブルを展開します。	• [列の削除] ショートカットコマンドを使用して、[化合物テーブル] から空白の列を削除します。
ヒント: 図 53 と同じ結果を得るため、同位体モデルに [一般的な有機分子] が選択されていることを確認してください。	e [表示] > [MS/MS 化学式の詳細] をクリックします。	• データベース検索で検出された化学式は、[化学式の作成] アルゴリズムで特定された化学式と同じです。
	f [MS 化学式結果] ウィンドウの下に、このウィンドウを移動させます。	• [ツール] > [化合物ラベルコンフィギュレーション] をクリックして化合物ラベルを変更します。
	g [データーナビゲータ] で、表示する [MS 化学式結果] と [MS/MS 化学式の詳細] の化合物をハイライトします。	
	h [化合物リスト] ウィンドウのスクロールバーを用いて、MFG の結果を表示します。	



The screenshot displays the MassHunter software interface. The top window, 'Compound List', shows a table with columns: Show/Hide, Cpd, Name, File, RT, Mass, Algorithm, Formula (DB), Score (DB), Formula (MFG), Score (MFG), Tgt Hit Pos, and S. Four compounds are listed, with Sulfamethazole (Cpd 1) selected. Below this, the 'MS Formula Results' window for Cpd 1: Sulfamethazole is open. It shows a table with columns: m/z, Ion, Formula, Abundance, Best, Formula (M), Ion Formula, Score, Calc m/z, Diff (ppm), MS Score, MSMS Score, Mass Match, Abund Match, and Spacing. The table lists various ions and their corresponding formulas and scores, with the top result being C9 H10 N4 O2 S2 at a score of 96.72.

図 53 sulfas_PosAutoMSMS.d の化合物 1 の [MS 化学式結果] と [MS/MS 化学式の詳細]

2 化合物の検出と同定

タスク 3. 化合物レポートの印刷 (MS/MS のみ)

タスク 3. 化合物レポートの印刷 (MS/MS のみ)

このタスクでは、タスク 1 で検出し、タスク 2 で同定した各化合物のレポートを作成します。

タスク 3. 化合物レポートの印刷 (MS/MS のみ)

ステップ	詳細説明	コメント
1 化合物レポートに対するメソッドの選択の一部を変更します。 - 必要に応じて、拡大された指定ピークの MS スペクトルの表示をオフにします。 - レポートの MS/MS オプションをオンにします。	- a [メソッドエクスプローラ]で、[一般]>[化合物レポート]をクリックします。 - b 必要に応じて、[MS スペクトルの表示 (指定ピークの拡大表示)]チェックボックスの選択を解除します。 - c [MS/MS スペクトルの表示]と[MS/MS ピークテーブルの表示]チェックボックスをオンにします。	このタブでオンにしたセクションのみがレポートに含まれます。

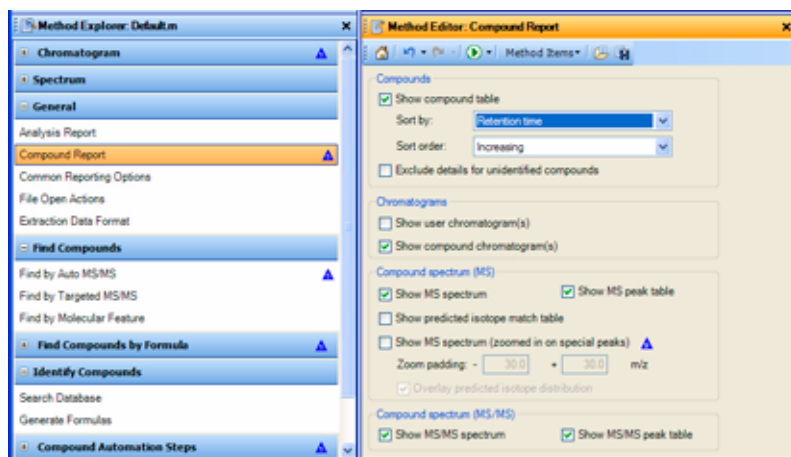
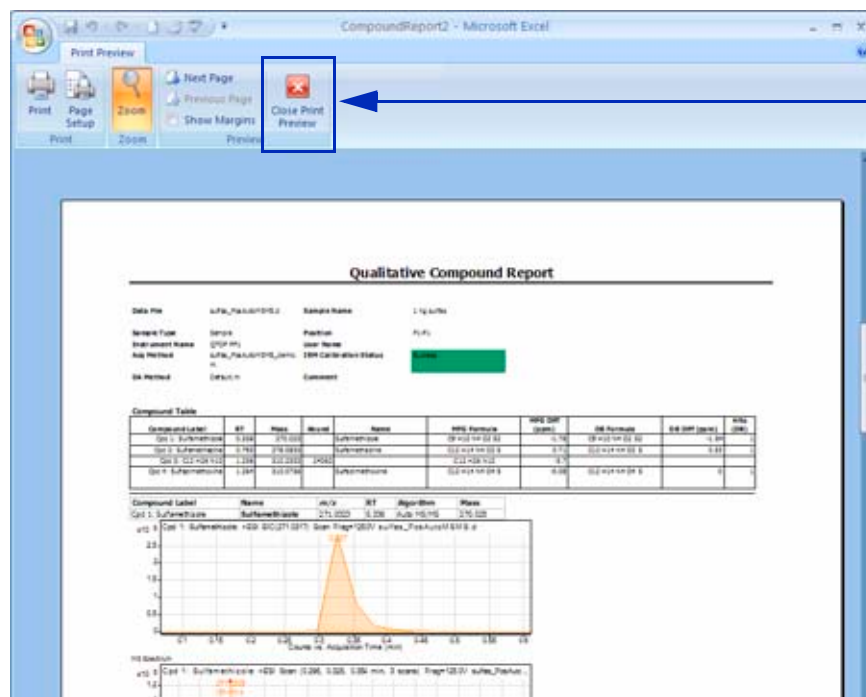


図 54 [メソッドエディタ]の[化合物レポート]ウィンドウ

- | | | |
|---|---|---|
| <p>2 レポートを印刷します。</p> <ul style="list-style-type: none">レポートをプレビューします。 | <ul style="list-style-type: none">a [化合物レポートの印刷]アイコンをクリックし、レポートを印刷します。b [化合物レポートの印刷]ダイアログボックスで[すべての結果]をクリックします。c [レポートの印刷]をオンにします。d [印刷プレビュー]をオンにします。e [OK]をクリックします。 | <ul style="list-style-type: none">• [PDF ファイルとしてレポートを保存]チェックボックスをオンにしても、PDF ファイルを作成することができます。この方法は、Excel のインストール後に Microsoft Excel PDF のアドインをインストールしている場合にのみ使用できます。 |
|---|---|---|

タスク 3. 化合物レポートの印刷 (MS/MS のみ)

ステップ	詳細説明	コメント
------	------	------



このボタンは、レポートをプリンタに送信しないで、[印刷プレビュー]ウィンドウを閉じます。

図 55 [メソッドエディタ]の[化合物レポート]ウィンドウ

- 3 [印刷プレビュー]ウィンドウを閉じます。
 - a ツールバーで[印刷プレビューを閉じる]をクリックします。
 - ・ レポートを印刷するには、[印刷]ボタンをクリックします。レポートは[化合物レポートの印刷]ダイアログボックスで選択されたプリンタで印刷されます。
- 4 結果を保存しないで、データファイルを閉じます。
 - a [ファイル]>[データファイルを閉じる]をクリックします。
 - b 結果の保存を求められたら、[いいえ]をクリックします。

2 化合物の検出と同定

タスク 4. タンパク質消化物の Molecular Feature Extraction の実行 (MS と MS/MS)

タスク 4. タンパク質消化物の Molecular Feature Extraction の実行 (MS と MS/MS)

このタスクでは、[オート MS/MS] モードの Q-TOF で得られたタンパク質消化物データの Molecular Feature Extraction を実行します。

タスク 4. タンパク質消化物の Molecular Feature Extraction の実行 (MS と MS/MS)

ステップ	詳細説明	コメント
1	以下のパラメータを用いて、データファイル peptide-auto.d の Molecular Feature Extraction を行います。 - レイアウトがデフォルトレイアウトに戻っていることを確認します。 - 時間範囲は 2.5 ~ 4 分です。 - 同位体モデルにペプチドを設定します。 - アバンダンスの最大 20 化合物のみを表示するようにフィルタをかけます。 - ウィンドウレイアウトを変更し、図 56 (次ページ) に合わせます。	- デフォルトレイアウトに戻すには、[表示] > [ウィンドウレイアウト] > [デフォルトレイアウトの復元] をクリックします。 [最大化合物の数を制限する] フィルタで抽出される Feature 数は制限されません。定性分析プログラムで表示される化合物数を制限するだけです。 [定性分析 Molecular Feature] アルゴリズムを用いて、Feature を抽出します。この後、Agilent MassHunter Profiling ソフトウェアまたは GeneSpring MS ソフトウェアを用いて、異なる抽出からのデータを比較できます。 - 生成される .mhd ファイルは、データファイルディレクトリの Results ディレクトリに保存されます。
2	m/z 625.31585 イオンの化合物スペクトルを検出し、電荷状態を確認します。	化合物 7 には、電荷状態が +1 のこのイオンを含むスペクトルがあります。

タスク 4. タンパク質消化物の Molecular Feature Extraction の実行 (MS と MS/MS)

タスク 4. タンパク質消化物の Molecular Feature Extraction の実行 (MS と MS/MS)

ステップ	詳細説明	コメント

図 56 自動 MS/MS データを用いたタンパク質消化物の Molecular Feature による化合物の検出

- 3 結果またはメソッドを保存しないでプログラムを終了します。
 - a [ファイル]>[終了]をクリックします。
 - b 結果とメソッドの保存を求められたら、[いいえ]を2回クリックします。

2 化合物の検出と同定

タスク 4. タンパク質消化物の Molecular Feature Extraction の実行 (MS と MS/MS)



実習 3

異なるワークフローでの定性分析 メソッドの設定と実行

タスク 1. 一般ワークフローでの定性分析メソッドの設定と実行	89
タスク 2. クロマトグラムピーク調査ワークフローでの自動解析メソッドの設定と実行	94
タスク 3. MS ターゲット化合物スクリーニングワークフローでの化合物同定を自動化するメソッドの設定と実行	99
タスク 4. ワークリストで実行する定性メソッドの設定	105

この実習では、定性分析メソッドの設定および実行を学習します。そして、解析や化合物同定を自動化するためのメソッドの編集も学習します。その後、データファイルを開くときに、メソッドから自動的に処理を実行します。そして、ワークリストを用いて自動化を実行するメソッドの作成も学習します。

定性分析パラメータのみ、または測定パラメータと定性分析パラメータの両方を用いたワークリストメソッドの作成を学習します。

説明には、**MS** のみのデータファイル (**Q-TOF**) を使用しますが、すべてのタスクは **Q-TOF** またはトリプル四重極のどちらの **MS/MS** データにも適用できます。

ここでの例では異なるワークフローを使用します。実行するタスクに最も適したワークフローを決定する前に、異なるワークフローを見て回ることができます。詳細は、114 ページの「[ワークフロー](#)」を参照してください。



3 異なるワークフローでの定性分析メソッドの設定と実行

各実習方法を示す表は、以下の 3 列に分けて表示されています。

- ステップ - 操作概要です。各自でプログラムを実行します。
- 詳細説明 - ステップの実行に必要な手順を示しています。
- コメント - 実習の各ステップに関するヒントや追加情報を記しています。

タスク 1. 一般ワークフローでの定性分析メソッドの設定と実行

定性分析プログラムを初めて起動した場合、default.m メソッドが読み込まれます。そのメソッドを変更して保存することも、新しいメソッドを開き、変更を加えて保存することもできます。default.m メソッドを上書きすることはできません。

データファイルを開いた際に、メソッドで特定の処理を実行するようにも設定できます。

データファイルを開いた際に、そのデータファイルに保存されている結果の作成に使用したメソッドを読み込むこともできます。データファイルに結果を保存するたびに、このメソッドは自動的に保存されます。

タスク 1. 定性分析メソッドの設定と実行

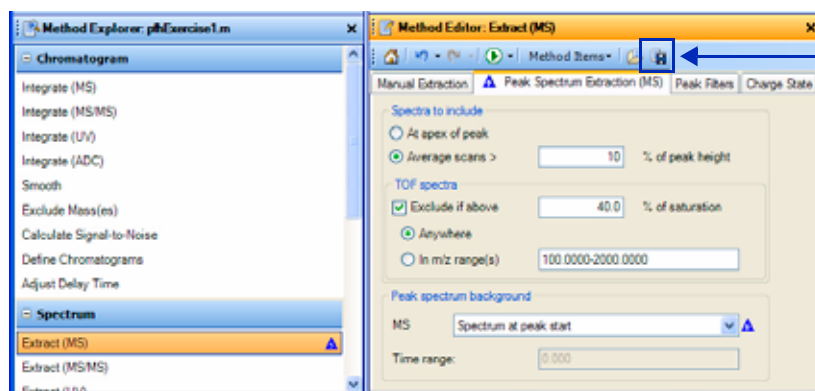
ステップ	詳細説明	コメント
1	メソッドを設定し、TIC クロマトグラムを抽出します。 - sulfas_PosMS.d データファイルを開きます。 - データファイルが開かれたときに、プログラムによる自動ファイル処理が実行されないことを確認します。 - メソッドが Default.m であることを確認します。 - ウィンドウレイアウトがデフォルトレイアウトであることを確認します。 - MS データに TIC クロマトグラムを定義します。 - これは MS のみのデータファイルであるため、サイクル合計をオフにします。	- 一般ワークフローのデフォルトのレイアウトが自動的に読み込まれます。このデフォルトレイアウトに戻すには、[表示]>[ウィンドウレイアウト]>[デフォルトレイアウトの復元]をクリックします。このコマンドは常に、一般ワークフローに使用されるレイアウトに復元します。 - メソッドを読み込むには、以下の操作を行います。 [メソッド]>[開く]をクリックします。 - メソッドを選択します。 [開く]をクリックします。 - 先の実習で述べたように、メソッドに変更を加えると、変更された項目の横と、[メソッドエクスプローラ]の変更されたセクションの横に青色三角形が表示されます。 [ツール]>[ワークフロー用にコンフィグレーション]メニューでコマンドをクリックしてもワークフローを変更できます。
	a デスクトップの[定性分析]アイコンをダブルクリックします。 b [データファイルを開く]ダイアログボックスで sulfas_PosMS.d を選択します。 c [選択したメソッドから 'ファイルを開く' ときにする処理を実行]チェックボックスの選択を解除します。 d 必要に応じて、[結果データの読み込み]チェックボックスの選択を解除します。 e [開く]をクリックします。 f [表示]>[ワークフロー用にコンフィグレーション]>[一般]コマンドをクリックします。 g [OK]をクリックしてワークフローの読み込みを続行します。 h メソッドの変更を保存するには[いいえ]をクリックします。 i [メソッドエクスプローラ]で、[クロマトグラム]>[クロマトグラムの定義]を選択します。 j 定義済みクロマトグラムから BPC の選択を削除します。 k [タイプ]として TIC を選択します。 l [MS レベル]が MS であることを確認します。 m [サイクル合計を実行]チェックボックスの選択を解除します。 n [追加]をクリックします。	

3 異なるワークフローでの定性分析メソッドの設定と実行

タスク 1. 一般ワークフローでの定性分析メソッドの設定と実行

タスク 1. 定性分析メソッドの設定と実行

ステップ	詳細説明	コメント
2	メソッドを編集し、データを積分します。 4 つの最大ピークのみ積分します。 a [メソッドエクスプローラ]で、[クロマトグラム]>[積分 (MS)]をクリックします。 b [ピークフィルタ]タブをクリックします。 c [ピークの最大数]セクションで、[最大化合物 (高さベース) の数を制限する]チェックボックスをオンにします。 d 4 と入力します。	[クロマトグラム]>[積分 (MS)]セクションの[ピークフィルタ]タブの値を更新すると、[メソッドエクスプローラ]の他のセクションの値も更新されます。青色三角形が表示されたセクションが、その他の更新されたセクションです。
3	積分をテストし、積分したピーク 4 つのみが表示されることを確認します。 • [クロマトグラムの積分]アイコン  をクリックし、データファイルの処理を実行します。	
4	メソッドを <i>iiiexercise1</i> に保存します。ここで、「<i>iii</i>」はユーザーのイニシャルです。 a トップメニューから、[メソッド]>[名前を付けて保存]をクリックします。 b <i>iiiexercise1</i> と入力します。 c [保存]をクリックします。	メソッドを保存すると、メソッドで値が変わっていることを示す青色三角形のすべてが消えることを確認してください。
5	ピークスペクトルバックグラウンドを変更し、ピーク開始時のスペクトルを使用します。 a [メソッドエクスプローラ]で、[スペクトル]>[抽出 (MS)]をクリックします。 b [ピークスペクトル抽出 (MS)]をクリックします。 c ピークスペクトルバックグラウンドに、[ピーク開始点のスペクトル]を選択します。	メソッド保存後にさらに変更すると、再度青色三角形が表示されます。



[メソッドの保存]アイコンをクリックすると、現在のメソッドを保存できます。

図 57 [スペクトル]>[抽出 (MS)]>[ピークスペクトル抽出 (MS)] タブ

- 6 MS スペクトル抽出をテストし、バックグラウンドスペクトルが減算されることを確認します。
- [MS スペクトルの抽出]アイコン  をクリックし、データファイルの処理を実行します。

タスク 1. 定性分析メソッドの設定と実行

ステップ	詳細説明	コメント
7 メソッドを保存します。	- 以下の 3 つの方法のいずれかで、メソッドを保存します。  [メソッドエディタ] の [メソッドの保存] アイコンをクリックします。 [メソッドエディタ] を右クリックし、[メソッドの保存] をクリックします。 - トップメニューから、[メソッド] > [保存] をクリックします。	[メソッドの保存] アイコンは 90 ページの図 57 に示されています。
8 メソッドを設定し、変更したパラメータの処理を自動化します。 このデータファイルか別のデータファイルを開く際に実行する処理をリストにします。 ヒント: [メソッドエクスプローラ] の [一般] を見ます。	[メソッドエクスプローラ] で、[一般] > [選択したメソッドから 'ファイルを開く' ときにする処理を実行] を選択します。 [使用可能なアクション] リストから [ピークスペクトルの積分と抽出] を選択します。 [追加] ボタン  をクリックし、選択した処理を [実行する処理] リストに移動させます。選択した処理をダブルクリックして他のリストに移動させることもできます。 [ファイルを開くときにする処理を今すぐ実行] アイコン  をクリックし、データファイルの処理を実行します。	クロマトグラムとスペクトルは上書きされません。新たなクロマトグラムとスペクトルが追加されます。
9 [ファイルを開くときにする処理] をテストします。		

[実行する処理] リストには、2 つの処理があります。最初の処理では定義済みのクロマトグラムを抽出します。その後、そのクロマトグラムが積分され、ピークが抽出されます。

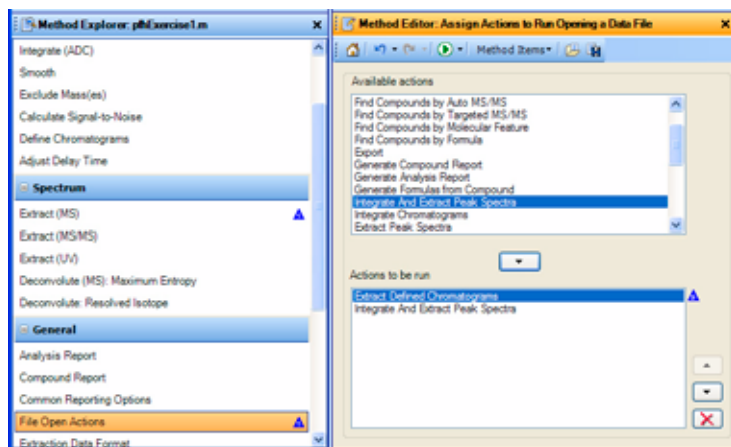


図 58 [メソッドエディタ] の [一般] > [ファイルを開くときにする処理] セクション

3 異なるワークフローでの定性分析メソッドの設定と実行

タスク 1. 一般ワークフローでの定性分析メソッドの設定と実行

タスク 1. 定性分析メソッドの設定と実行

ステップ	詳細説明	コメント
10 メソッドを保存し、結果を保存しないでデータファイルを閉じます。	a [メソッドエディタ]の[メソッドの保存]アイコンをクリックします。 b [ファイル]>[データファイルを閉じる]をクリックし、結果の保存を求められたら[いいえ]をクリックします。	
11 データファイルを再び開き、指定された処理を実行します。	a [ファイル]>[データファイルを開く]をクリックし、sulfas_PosMS.d を選択します。 b [選択したメソッドから'ファイルを開く'ときにする処理を実行]チェックボックスをオンにします。	・ 間違って前の結果を保存した場合、[結果データの読み込み]チェックボックスの選択を解除します。

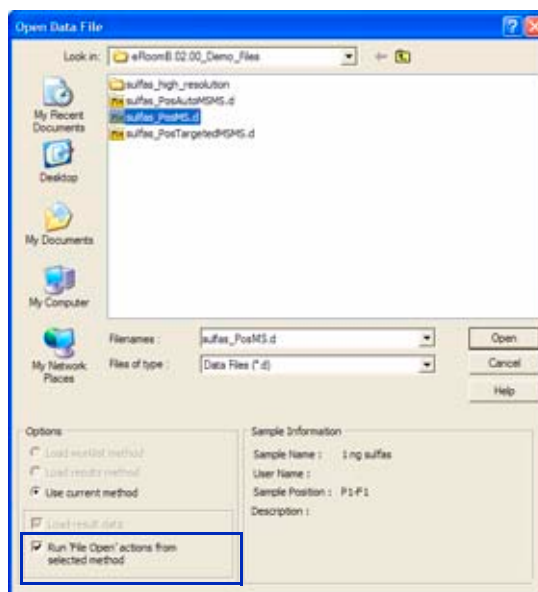


図 59 [選択したメソッドから'ファイルを開く'ときにする処理を実行]をオンにした[データファイルを開く]ダイアログボックス

- c [開く]をクリックします。
- ・ 画面は、図 60 のように見えるはずですが（場合によっては、ウィンドウのサイズを変更してください）。

タスク 1. 定性分析メソッドの設定と実行

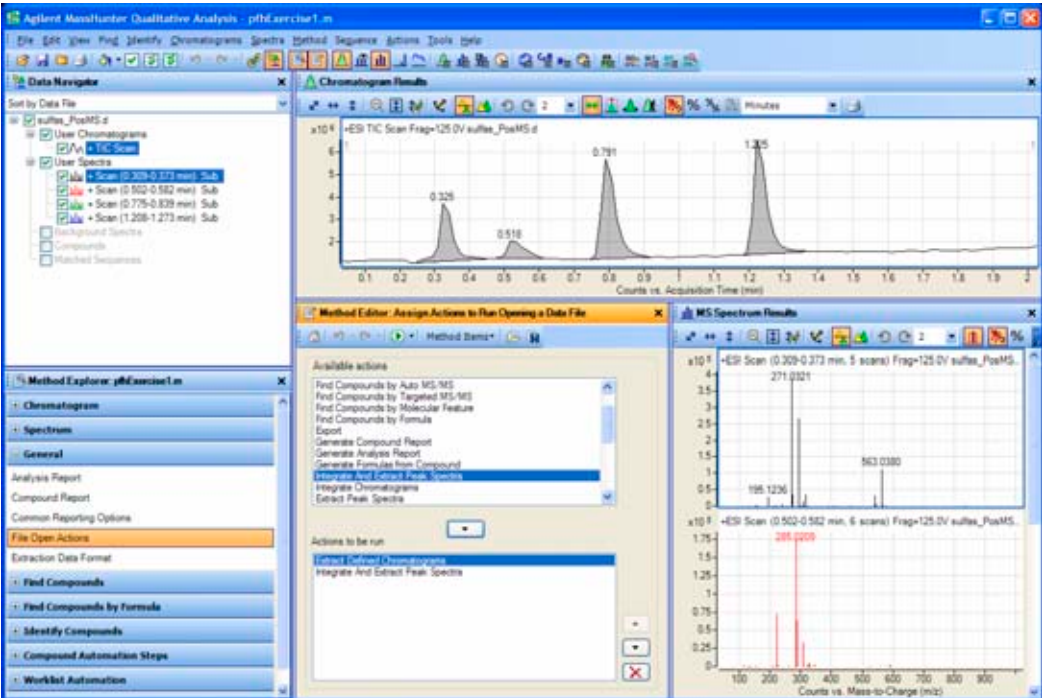
ステップ	詳細説明	コメント
		

図 60 積分された TIC とバックグラウンド減算されたスペクトル - sulfas_PosMS.d データファイルが開かれた場合の結果

- 12 結果を保存しないで、データファイルを再び閉じます。
- [ファイル]>[データファイルを閉じる]をクリックします。
 - 結果の保存を求められたら、[いいえ]をクリックします。

3 異なるワークフローでの定性分析メソッドの設定と実行

タスク 2. クロマトグラムピーク調査ワークフローでの自動解析メソッドの設定と実行

タスク 2. クロマトグラムピーク調査ワークフローでの自動解析メソッドの設定と実行

このタスクでは、特定の順序で実行する解析処理のリストを含む定性分析メソッドを設定します。この設定では、クロマトグラムの抽出と積分、スペクトルの抽出、ピークスペクトルのデータベース検索、スペクトルの化学式の作成、解析レポートの印刷を行います。

このメソッドを設定するにはクロマトグラムピーク調査ワークフローに切り替えます。

データファイルを開いたときに、メソッドでこの自動解析を実行するようにも設定します。

タスク 2. 自動解析メソッドの設定と実行

ステップ	詳細説明	コメント
1 sulfas_PosMS.d を再び開きます。 - ファイルを開く際に、メソッドによってデータファイルの処理が実行されないことを確認します。 - メソッドが iiiexercise1.m であることを確認します。	- a [表示] > [ワークフロー用にコンフィグレーション] > [クロマトグラムピーク調査ワークフロー] コマンドをクリックします。 - b [OK] をクリックしてワークフローを切り替えます。 - c メソッドの変更を保存するには [いいえ] をクリックします。 - d [ファイル] > [データファイルを開く] をクリックします。 - e [データファイルを開く] ダイアログボックスで sulfas_PosMS.d を選択します。 - f [選択したメソッドから 'ファイルを開く' アクションを実行] チェックボックスの選択を解除します。 - g [開く] をクリックします。 - h [メソッド] > [開く] をクリックして iiiexercise1.m メソッドを選択し、[開く] をクリックします。	• [結果データの読み込み] チェックボックスが透明か灰色表示のどちらかになっていることを確認します。 • 異なるワークフローに切り替えると、新しいメソッドと新しいウィンドウレイアウトが読み込まれ、新しいセクションが [メソッドエクスプローラ] に加わります。 • メソッドへの変更の保存を求められたら、[いいえ] をクリックします。
2 [クロマトグラムピーク調査] アルゴリズムのセクションを参照してください。	• [メソッドエクスプローラ] で、[クロマトグラムピーク調査ワークフロー] をクリックします。	• このワークフローにはセクションが 9 つあります。ほとんどのセクションは、メソッドの他のセクションと同じです。 • [メソッドエクスプローラ] の開いている他の項目を閉じます。
3 新しい結果が前の結果を上書きすることを確認します。	- a [メソッドエクスプローラ] で [前の結果] を選択します。 - b [前のすべての結果を削除] をオンにします。	

タスク 2. 自動解析メソッドの設定と実行

ステップ	詳細説明	コメント
4 TIC を抽出し、4 つの大きなピークを積分します。	a [クロマトグラムの抽出] を選択します。 b [クロマトグラム] タブをクリックします。 c マススペクトルの検出に使用されるクロマトグラムに TIC が選択されていることを確認します。 d [抽出する追加のクロマトグラム] で [シグナル A] をオンにします。 e [クロマトグラムの積分] を選択します。 f [ピーク (MS)] タブをクリックし、[最大に対するリミット値 (高さによる)] をオンにし、4 を入力します。	• このセクションは他の場所には存在しないセクションです。この情報は [メソッドエディタ] の他の箇所からは入力できません。
5 MS スペクトルを抽出し、ピーク前後のスペクトルの平均ピークスペクトルバックグラウンドを減算するように設定します。	a [マススペクトルの抽出] を選択します。 b [ピークスペクトル] タブをクリックします。 c [ピークバックグラウンドスペクトル] に [ピークの開始点と終了点のスペクトルの平均] を選択します。	• [メソッドエクスプローラ] の他のセクションに、青色三角形が表示されていることを確認してください。これは、他の場所でも同じパラメータ値が変更されたことを示します。
6 すべてのスペクトルピークに対してデータベースを検索し、化学式を作成するように選択します。 • [分子式作成] または [データベース検索] のパラメータ値は変更しないでください。	a [スペクトルピーク同定] を選択します。 b [各ピークのデータベースを検索] チェックボックスをオンにします。 c [各ピークの化学式を作成] チェックボックスをオンにします。 d [すべてのピーク] をクリックします。	• このセクションは他の場所には存在しないセクションです。この情報は [メソッドエディタ] の他の箇所からは入力できません。
7 この時点までの自動解析プロセスをテストします。	• [スペクトルピークの同定] セクションから [クロマトグラムピーク調査の実行] アイコン  をクリックします。	• [分子式作成] セクションから  アイコンをクリックする場合、矢印をクリックし、適用可能な処理のリストから [クロマトグラムピーク調査の実行] を選択します。デフォルトでこのセクションで実行される処理は [スペクトルピークから化学式を作成] です。他のセクションには異なるデフォルト処理が設定されています。

3 異なるワークフローでの定性分析メソッドの設定と実行

タスク 2. クロマトグラムピーク調査ワークフローでの自動解析メソッドの設定と実行

タスク 2. 自動解析メソッドの設定と実行

ステップ	詳細説明	コメント
8	以下を表示するためのウィンドウを開きます。 - データベース検索結果リスト - MS 化学式結果リスト - これらのリストは、図 61 のように「クロマトグラム結果」とともにタブが付けられています。 - 各 MS スキャンの各リストをレビューします。 - 自動化が正しく実行された場合は、メソッドを保存します。	- 実習 1 のタスク 4 を参照して、メイン画面にウィンドウを移動させる方法を学習します。 - メインツールバーのアイコンを使用しても、これらのウィンドウを表示できます。
	a [表示]>[データベース検索結果]をクリックします。 b [表示]>[MS 化学式結果]をクリックします。 c 図 61 のように、これらのウィンドウが「クロマトグラム結果」ウィンドウとともにタブ付けされるように、ウィンドウを移動させます。 d 各 MS スキャンの各リストをレビューして、「クロマトグラムピーク調査」アルゴリズムのすべての処理が実行されたことを確認します。	

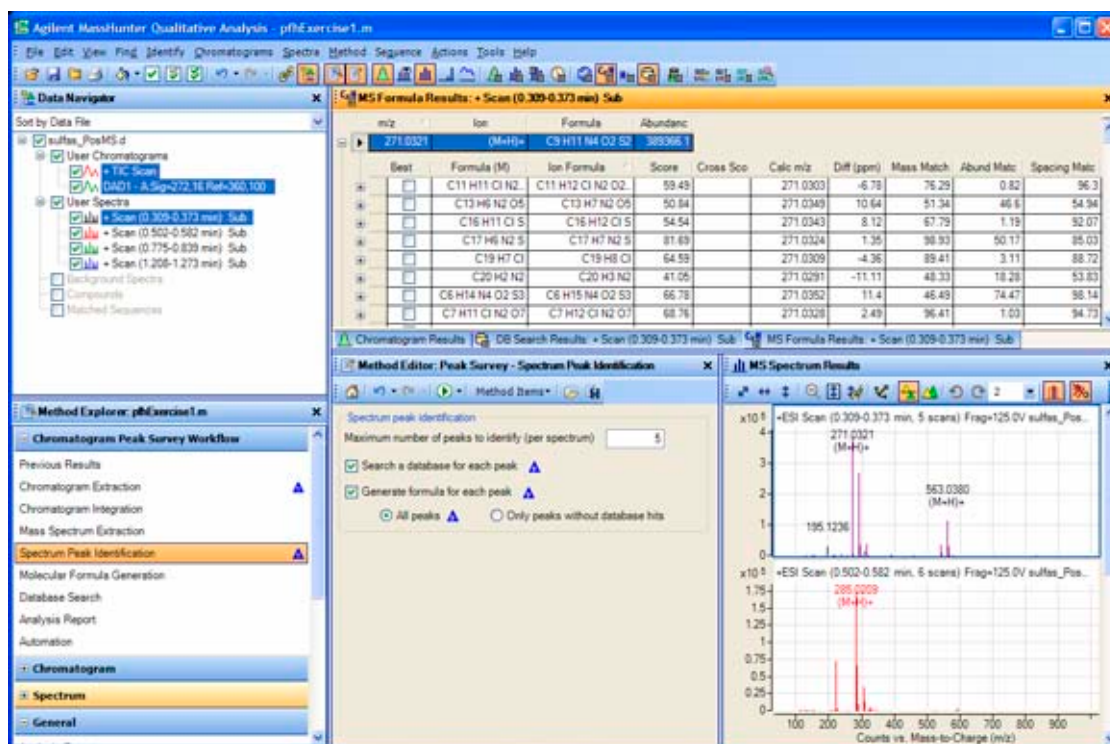


図 61 実行している自動解析ステップからのタブ付けされた結果

タスク 2. 自動解析メソッドの設定と実行

ステップ	詳細説明	コメント
9 メソッドを <i>iiiexercise2</i> に保存します。ここで、「 <i>iii</i> 」はユーザーのイニシャルです。	a トップメニューから、[メソッド] > [名前を付けて保存] をクリックします。 b <i>iiiexercise2</i> と入力します。 c [保存] をクリックします。	メソッドを保存すると、メソッドで値が変わっていることを示す青色三角形のすべてが消えることを確認してください。
10 解析レポートを設定し、この実習で印刷するセクションを指定します。 メソッドを保存します。	a [解析レポート] を選択します。 b 必要な変更を行います。 c [解析レポートの印刷] アイコンをクリックします。 d 必要に応じて、[メソッドエディタ] の [メソッドの保存] アイコンをクリックします。	処理を実行する際に、レポートを印刷するかどうかを選択します。
11 データファイルが開くと自動解析を実行するメソッドを設定します。 メソッドを保存します。	a [クロマトグラムピーク調査ワークフロー] > [自動化] > [ファイルを開くときにする処理] を選択します。 b [実行する処理] リストの各項目を選択し、[削除] アイコン  をクリックします。 c [使用可能なアクション] リストで [解析レポートを作成しないクロマトグラムピーク調査] を選択し、[追加] ボタン  をクリックします。 d [メソッドエディタ] の [メソッドの保存] アイコンをクリックします。	必要に応じて、これらの処理もテストできます。
12 [メソッドエディタ]、[メソッドエクスプローラ]、[データナビゲータ] を閉じます。  62 のレイアウトと同様に、ウィンドウを移動します。 - 結果を保存しないで、データファイルを閉じます。	a [メソッドエディタ]、[メソッドエクスプローラ]、[データナビゲータ] の [閉じる] ボタンをクリックします。 b ウィンドウが  62 同様に、ウィンドウを移動します。 c [ファイル] > [データファイルを閉じる] をクリックします。 d 結果の保存を求められたら、[いいえ] をクリックします。	新しいデータファイルを開いたときに表示されるウィンドウレイアウトは、最後に使用したウィンドウレイアウトです。
13 <i>sulfas_PosMS.d</i> データファイルを再び開き、自動解析を実行します。  62 と同様の結果になることを確認します。	a [ファイル] > [データファイルを開く] をクリックします。 b <i>sulfas_PosMS.d</i> を選択します。 c [選択したメソッドから 'ファイルを開く' ときにする処理を実行] チェックボックスをオンにします。 d [開く] をクリックします。	

3 異なるワークフローでの定性分析メソッドの設定と実行

タスク 2. クロマトグラムピーク調査ワークフローでの自動解析メソッドの設定と実行

タスク 2. 自動解析メソッドの設定と実行

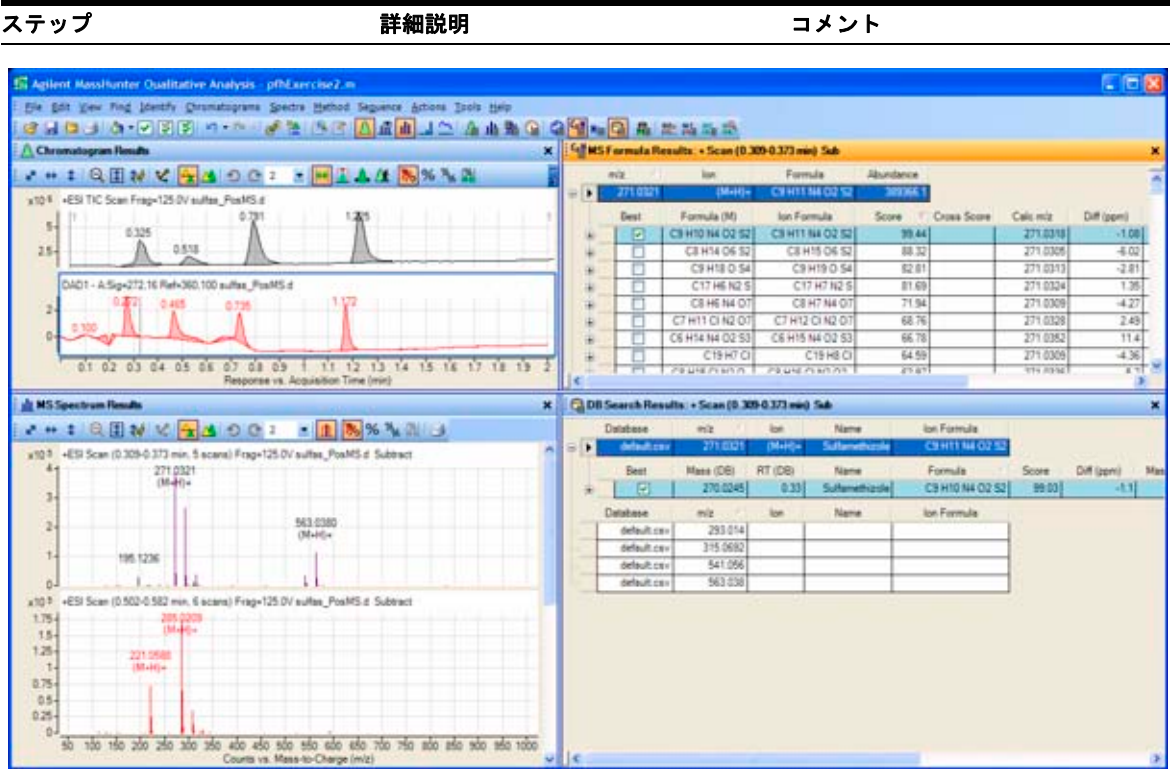


図 62 sulfas_PosMS.d データファイルを開いた場合のクロマトグラムピーク調査処理の結果

- 14 結果を保存しないで、データファイルを閉じます。
- a [ファイル]>[データファイルを閉じる]をクリックします。
 - b 結果の保存を求められたら、[いいえ]をクリックします。

タスク 3. MS ターゲット化合物スクリーニングワークフローでの化合物同定を自動化するメソッドの設定と実行

このタスクでは、化合物を検出および同定する処理のリストを含む定性分析メソッドを設定します。この設定では、選択したアルゴリズムに基づく化合物の検出、化合物のデータベース検索、特定化合物の化学式の作成、化合物レポートの作成を行います。

このメソッドを設定するには MS ターゲット化合物スクリーニングワークフローに切り替えます。[化合物自動化ステップ] セクションを使用しても、このメソッドを設定できます。

データファイルを開いたときにメソッドで化合物の自動化を実行するようにも設定します。

タスク 3. 化合物同定を自動化するメソッドの設定と実行

ステップ	詳細説明	コメント
1 sulfas_PosMS.d を再び開きます。		
- ファイルを開く際に、メソッドによってデータファイルの処理が実行されないことを確認します。 - メソッドが <i>iiiexercise2.m</i> であることを確認します。 - MS ターゲット化合物スクリーニングワークフローで作業を開始します。	a [表示]>[ワークフロー用にコンフィグレーション]>[MS ターゲット化合物のスクリーニング] をクリックします。 b [OK] をクリックしてワークフローを切り替えます。 c メソッドの変更を保存するには [いいえ] をクリックします。 d [ファイル]>[データファイルを開く] をクリックします。 e [データファイルを開く] ダイアログボックスで sulfas_PosMS.d を選択します。 f [選択したメソッドから 'ファイルを開く' ときにする処理を実行] チェックボックスの選択を解除します。 g [開く] をクリックします。 h [メソッド]>[開く] をクリックします。 <i>iiiexercise2.m</i> メソッドを選択します。 i [開く] をクリックします。 j メソッドの変更を保存するには [いいえ] をクリックします。	[結果データの読み込み] チェックボックスが透明か灰色表示のどちらかになっていることを確認します。 - MS ターゲット化合物スクリーニングワークフローに切り替えると、Screening-Default.m メソッドが読み込まれます。

3 異なるワークフローでの定性分析メソッドの設定と実行

タスク 3. MS ターゲット化合物スクリーニングワークフローでの化合物同定を自動化するメソッドの設定と実行

タスク 3. 化合物同定を自動化するメソッドの設定と実行

ステップ	詳細説明	コメント
2 化合物の検出と同定に関する自動化ステップを開きます。 [メソッドエディタ] ウィンドウを任意の場所にタブ付けします。	a [メソッドエクスプローラ]で、[MS ターゲット化合物のスクリーニング]>[自動化]をクリックします。 b (オプション) [メソッドエディタ] ウィンドウを[データナビゲータ] ウィンドウとともにタブ付けします。 c [化合物リスト] ウィンドウを閉じます。	このワークフローでは、[メソッドエディタ]はフローティングウィンドウです。フローティングウィンドウのままにしておくことも、[データナビゲータ] ウィンドウなどの別のウィンドウとともにタブ付けすることもできます。
3 すべての化合物に対してデータベースを検索し、化学式を作成するように選択します。 Molecular Feature で化合物を検出していることを確認します。	a [解析オプション] タブをクリックします。 b [Molecular Feature による検出] をクリックします。 c [各化合物をデータベースで検索] チェックボックスをオンにします。 d [各化合物の化学式を作成] チェックボックスをオンにします。 e [すべての化合物] をクリックします。 f [同定された化合物のみを表示] チェックボックスをオンにします。	化合物は[データベース検索]または[化学式の作成]アルゴリズム、または化合物が検出されている場合は[化学式による検出]アルゴリズムを使用して同定できます。MassHunter BioConfirm ソフトウェアがインストールされている場合は、化合物は[シーケンスを一致]アルゴリズムでも同定できます。
4 新しい結果が前の結果を上書きすることを確認します。	a [結果] タブをクリックします。 b [前の結果をすべて削除] チェックボックスをオンにします。	
5 この時点までの自動化プロセスをテストします。	[MS ターゲット化合物スクリーニングワークフロー]>[自動化セクション]のいずれかから[化合物自動化ステップの実行]アイコン  をクリックします。	

タスク 3. MS ターゲット化合物スクリーニングワークフローでの化合物同定を自動化するメソッドの設定と実行

タスク 3. 化合物同定を自動化するメソッドの設定と実行

ステップ	詳細説明	コメント
6 以下を表示するためのウィンドウを開きます。 - 化合物リスト - データベース検索リスト - MS 化学式結果リスト - これらのリストが図 63 のように [クロマトグラム結果] とともにタブが付けられていることを確認します。 - 各化合物（化合物 1 と 4 を除く）の各リストをレビューします。	a [表示]>[化合物リスト]をクリックします。 b (オプション) [表示]>[データベース検索結果]をクリックします。 c (オプション) [表示]>[MS 化学式結果]をクリックします。 d [データナビゲータ]の化合物 1 と化合物 4 のチェックボックスの選択を解除します。[化合物リスト]ウィンドウの [表示 / 非表示] 列でも、化合物 1 と化合物 4 のチェックボックスの選択を解除できます。 e 各同定済み化合物の各リストをレビューして、化合物自動化ステップのすべての処理が実行されたことを確認します。	- 実習 1 のタスク 4 を参照して、メイン画面にウィンドウを移動させる方法を学習します。 [MS 化学式結果]ウィンドウと [データベース検索結果]ウィンドウは、図 63 のように [クロマトグラム結果]ウィンドウとともにタブ付けされています。
7 メソッドを <i>iiiexercise3</i> に保存します。ここで、「 <i>iii</i> 」はユーザーのイニシャルです。	a トップメニューから、[メソッド]>[名前を付けて保存]をクリックします。 b <i>iiiexercise3</i> と入力します。 c [保存]をクリックします。	メソッドを保存すると、メソッドで値が変わっていることを示す青色三角形のすべてが消えることを確認してください。

3 異なるワークフローでの定性分析メソッドの設定と実行

タスク 3. MS ターゲット化合物スクリーニングワークフローでの化合物同定を自動化するメソッドの設定と実行

タスク 3. 化合物同定を自動化するメソッドの設定と実行



図 63 実行している化合物自動同定ステップからのタブ付けされた結果

- 8 この実習用の化合物レポートを設定します。
 - a [化合物レポート]を選択します。
 - b 必要な変更を行います。
 - c 必要に応じて、[メソッドエディタ]の[メソッドの保存]アイコンをクリックします。

タスク 3. MS ターゲット化合物スクリーニングワークフローでの化合物同定を自動化するメソッドの設定と実行

タスク 3. 化合物同定を自動化するメソッドの設定と実行

ステップ	詳細説明	コメント
9 データファイルが開くと自動化化合物同定を実行するメソッドを設定します。 • メソッドを保存します。	a [MS ターゲット化合物スクリーニングワークフロー]>[自動化]>[ファイルを開くときにする処理]を選択します。 b [実行する処理]リストの各処理を選択し、[削除]アイコン  をクリックします。 c [使用可能なアクション]リストで[レポートを作成しない化合物自動化]を選択し、[追加]ボタン  をクリックします。 d [メソッドエディタ]の[メソッドの保存]アイコンをクリックします。	必要に応じて、これらの処理もテストできます。
10 [メソッドエディタ]、[メソッドエクスプローラ]、[データナビゲータ]を閉じます。 •  64 のレイアウトと同様に見えるように、ウィンドウを移動します。 • 結果を保存しないで、データファイルを閉じます。	a [メソッドエディタ]、[メソッドエクスプローラ]、[データナビゲータ]の[閉じる]ボタンをクリックします。 b ウィンドウが  64 同様に見えるように、ウィンドウを移動します。 c [ファイル]>[データファイルを閉じる]をクリックします。 d 結果の保存を求められたら、[いいえ]をクリックします。	実習 1 のタスク 4 を参照して、ウィンドウを移動させる方法を学習します。
11 sulfas_PosMS.d データファイルを再び開き、自動化化合物同定を実行します。 •  64 と同様の結果になることを確認します。 • [化合物リスト]で化合物 1 と 4 を非表示にします。	a [ファイル]>[データファイルを開く]をクリックします。 b [選択したメソッドから‘ファイルを開く’ときにする処理を実行]チェックボックスをオンにします。 c [開く]をクリックします。 d [化合物リスト]の化合物 1 と 4 の[表示 / 非表示]チェックボックスの選択を解除します。	化合物 1 と 4 はデータベース検索アルゴリズムで検出されていませんが、化学式作成アルゴリズムで化学式が作成されています。

3 異なるワークフローでの定性分析メソッドの設定と実行

タスク 3. MS ターゲット化合物スクリーニングワークフローでの化合物同定を自動化するメソッドの設定と実行

タスク 3. 化合物同定を自動化するメソッドの設定と実行



図 64 sulfas_PosMS.d データファイルを開いた際の自動化化合物同定の結果

- 12 結果を保存しないで、データファイルを閉じます。
- a [ファイル]>[データファイルを閉じる]をクリックします。
 - b 結果の保存を求められたら、[いいえ]をクリックします。

タスク 4. ワークリストで実行する定性メソッドの設定

このタスクでは、ワークリストを実行する際に行う処理リストを含む定性分析メソッドを設定します。測定パラメータと定性分析パラメータの両方を含むメソッドの保存方法を学習しますが、このタスクでは実際には行いません。

3 異なるワークフローでの定性分析メソッドの設定と実行

タスク 4. ワークリストで実行する定性メソッドの設定

タスク 4. ワークリストで実行する定性メソッドの設定

ステップ	詳細説明	コメント
1	ワークリストの各解析完了時に自動的に実行されるメソッドを設定します。 - タスク 2 で保存したメソッドを含む sulfas_PosMS.d データファイルを開きます。 - ファイルを開くときにする処理が実行されないことを確認します。 - デフォルトのウィンドウレイアウトを復元します。 以下のタスクを実行するメソッドを設定します。 - 定義したクロマトグラムの抽出 - ピークスペクトルの積分と抽出 - 解析レポートの作成 ヒント：[メソッドエクスプローラ]の[ワークリスト自動化]を見ます。	- このタスクでは、定性分析パラメータのみを含むメソッドを作成します。 - このメソッドからワークリストメソッドを作成するには、測定プログラムのこのメソッドに測定パラメータを追加する必要があります。 [データファイルを開く]ダイアログボックスの[ワークリストメソッドの読み込み]（使用可能と仮定する）を選択すると、データファイルを作成したワークリストの測定メソッドの定性分析部分を用いて、データファイルが開かれます。 - 既存の測定メソッドに定性分析パラメータを保存することで、測定パラメータと定性分析パラメータの両方を含むワークリストメソッドを作成できます。 - すべての解析を自動ステップにしたメソッドを設定することもできます。設定後に、これらの自動解析処理を削除することも、再度追加することもできます。 [化合物自動化]でも同じ操作が可能です。
	a [ファイル]>[データファイルを開く]をクリックします。 b [データファイルを開く]ダイアログボックスで sulfas_PosMS.d を選択します。 c [選択したメソッドから「ファイルを開く」ときにする処理を実行]チェックボックスの選択を解除します。 d [開く]をクリックします。 e デフォルトワークフローに戻すには、[表示]>[ワークフロー用にコンフィグレーション]>[一般]をクリックします。 f [OK]をクリックして続行します。 g iiiExercise2.m メソッドを読み込みます。 h [ワークリスト自動化]>[ワークリスト処理]を選択して[実行する処理をワークリストから割り当て]セクションを表示します。 i 以下の処理が、この順番で[実行する処理]リストにあることを確認します。 - 定義したクロマトグラムの抽出 - ピークスペクトルの積分と抽出 - 解析レポートの作成 j 必要に応じて、[使用可能なアクション]リストからこれらの処理のそれぞれを選択し、[追加]ボタン  をクリックし、選択した処理を[実行する処理]リストに移動します。 選択した処理をダブルクリックして他のリストに移動させることもできます。 k 必要に応じて、上記のリストにはない[実行する処理]リストのいずれかの処理を選択し、[削除]アイコン  をクリックします。	

タスク 4. ワークリストで実行する定性メソッドの設定

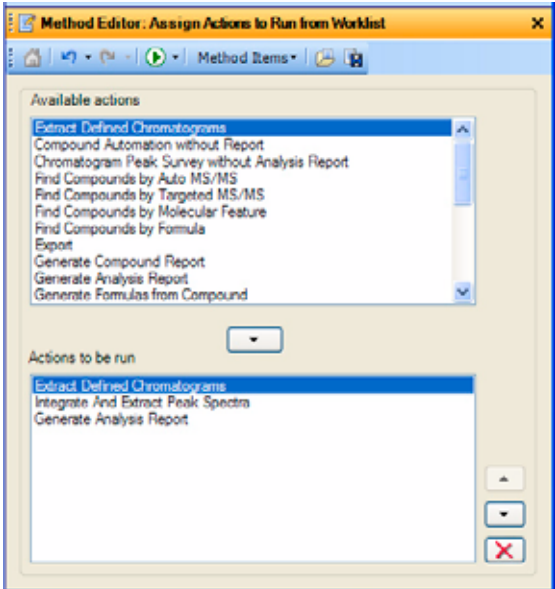
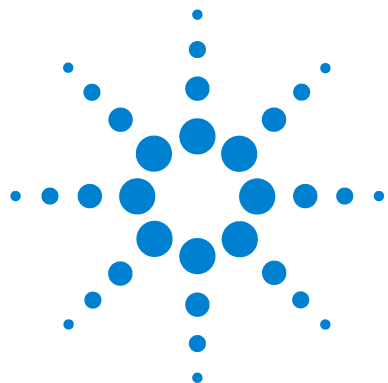
ステップ	詳細説明	コメント
		

図 65 [ワークリスト処理]ウィンドウが表示された[メソッドエディタ]

- 2 メソッドを *iiiexercise2worklist.m* に保存します。ここで、「iii」はユーザーのイニシャルです。
 - 結果を保存せずに、プログラムを閉じます。
 - a メソッドを保存するには、[メソッド]>[名前を付けて保存]をクリックします。
 - b *iiiexercise2worklist.m* と入力します。
 - c [保存]をクリックします。
 - d [ファイル]>[終了]をクリックします。
 - e 結果の保存を求められたら、[いいえ]をクリックします。
- メソッドの測定プログラムに、測定パラメータを追加した後、同じ名前または違う名前でもメソッドは保存できます。
 - ワークリストから実行する場合、このメソッドは（追加した測定パラメータを利用して）、データを連続して自動的に測定、解析します。[ワークリスト処理]セクションの[実行する処理]リストにある処理が自動的に実行されます。

3 異なるワークフローでの定性分析メソッドの設定と実行

タスク 4. ワークリストで実行する定性メソッドの設定



リファレンス

ウィンドウの処理	110
[データナビゲータ] の結果データの処理	111
クロマトグラムの操作を行う	112
MS または MS/MS スペクトルで操作を行う	113
クロマトグラフ表示データの処理	113
ワークフロー	114
レポートテンプレートのカスタマイズ	117

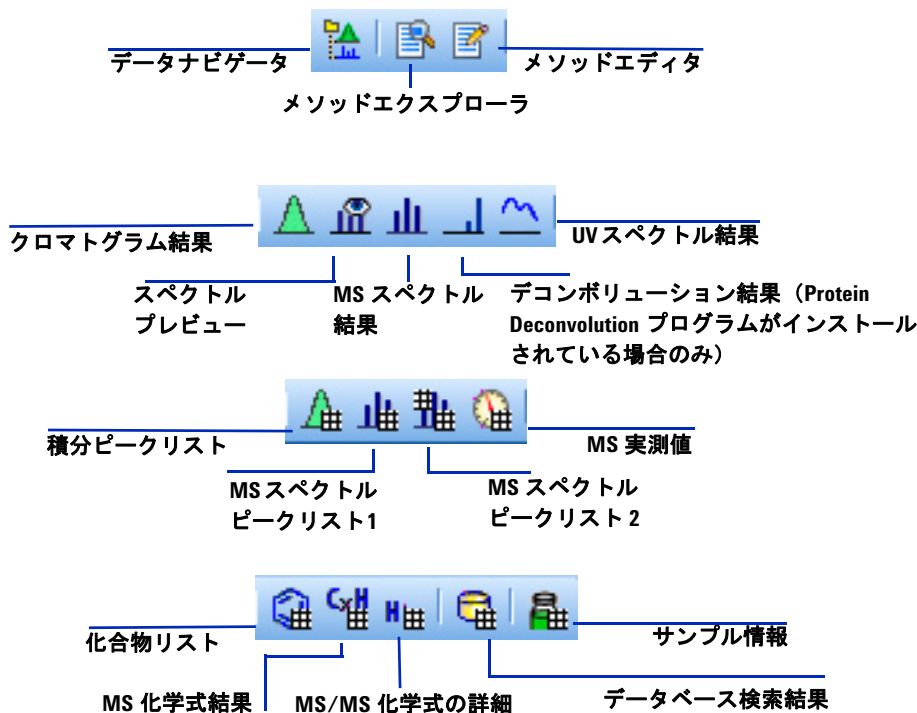


ウィンドウの処理

プログラムの初期設定では、デフォルトレイアウトとして3つのウィンドウ、[データナビゲータ]、[メソッドエクスプローラ]、[クロマトグラム結果]が表示されます。[表示]メニューを用いて、以下のその他のウィンドウを起動できます：[メソッドエディタ]、[スペクトルプレビュー]、[MS スペクトル結果]、[UV スペクトル結果]、[積分ピークリスト]、[MS スペクトルピークリスト 1]、[MS スペクトルピークリスト 2]、[MS 実測値]、[化合物リスト]、[MS 化学式結果]、[MS/MS 化学式の詳細]、[データベース検索結果]、[サンプル情報]。関連ツールを用いて開始する際に表示される3つのツールウィンドウ、[化学式計算ツール]、[質量計算ツール]、[再キャリブレーション]も表示できます。

メインツールバーのウィンドウアイコン

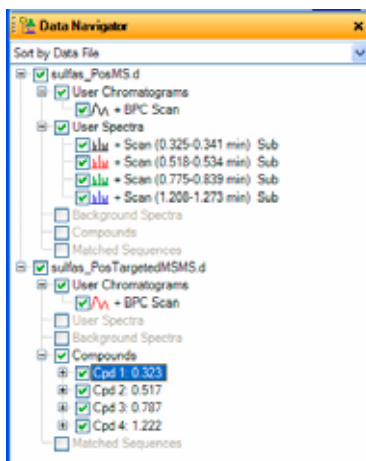
メインツールバーの以下のアイコンを用いて、[定性分析] ウィンドウを開き、閉じます。MassHunter BioConfirm ソフトウェアがインストールされている場合は、使用できるアイコンが他にもあります。



[データナビゲータ] の結果データの処理

[データナビゲータ] ウィンドウとツール

[データナビゲータ] で、データファイルまたはデータタイプのいずれかで、抽出とスペクトル選択の結果すべてを整理します。



[リンクナビゲーション] アイコン

有効な場合（デフォルト）、[データナビゲータ] のクロマトグラムをハイライトすると、対応するスペクトルもハイライトされます。対応するクロマトグラムとスペクトル表示結果もハイライトされます。[リンクナビゲーション] は、[クロマトグラム] メニューの [積分] と [ピークスペクトルの抽出] メニューを使用した場合か、[化合物] アルゴリズムのいずれかを実行した場合に限り機能します。



チェックマークツール

シングルチェックマーク - ハイライトしたデータすべてのチェックボックスをオンにします。

ダブルチェックマーク、1つ灰色 - ハイライトしたデータのチェックボックスをオンにして、その他のチェックボックスの選択を解除します。

ダブルチェックマーク - すべてのチェックボックスをオンにします。

チェックボックスがオンになると、クロマトグラムとスペクトルが表示されます。

クロマトグラムの操作を行う

メニュー項目を用いて、クロマトグラム全体、あるいはクロマトグラムの選択範囲で、以下の操作を行えます。

処理	メニュー項目
クロマトグラムの抽出	[クロマトグラム] > [クロマトグラムの抽出]
定義したクロマトグラムの抽出	[クロマトグラム] > [定義済みクロマトグラムの抽出]
クロマトグラムの積分	[クロマトグラム] > [クロマトグラムの積分]
ピークスペクトルの積分と抽出	[クロマトグラム] > [ピークスペクトルの積分と抽出]
クロマトグラムのスムージング	[クロマトグラム] > [クロマトグラムのスムージング]
S/N 比の計算	[クロマトグラム] > [S/N 比の計算]
自動 MS/MS データからの化合物の 検出	[検出] > [自動 MS/MS による化合物の検出]
ターゲット MS/MS データからの 化合物の検出	[検出] > [ターゲット MS/MS による化合物の検出]
MS (1) データの化合物の検出	[検出] > [Molecular Feature による化合物の検出]
特定化学式に一致する化合物の検出	[検出] > [化学式による化合物の検出]

ショートカットメニューからの範囲操作の選択

クロマトグラフ範囲を選択した場合、上記に記載されている操作と記載されていないその他の操作に加えて、スペクトルを抽出し、バックグラウンドにスペクトルを抽出することもできます。

- 1 これらの操作にアクセスするには、[クロマトグラム結果] ツールバーの [範囲選択] アイコンをクリックします。
- 2 範囲の開始点をクリックし、範囲をドラッグし、放します。
- 3 クロマトグラム内を右クリックし、ショートカットメニューから操作をクリックします。

データファイルに結果を保存します。

- [保存] アイコンをクリックするか、[ファイル] > [結果を保存] をクリックします。

プログラムを終了する際、結果をデータファイルに保存するか問われます。（この機能はオフにできます）

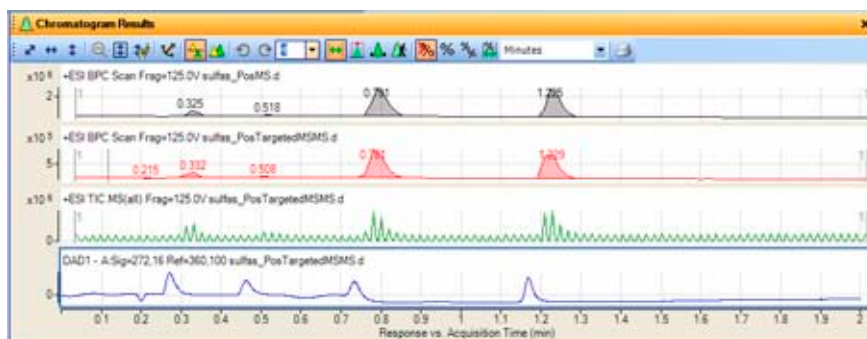
MS または MS/MS スペクトルで操作を行う

メニュー項目を用いて、MS または MS/MS スペクトル、あるいは MS または MS/MS スペクトルの選択範囲で以下の操作を行います。

処理	メニュー項目
m/z、アバンダンス、電荷の状態、スペクトルに関するその他の情報の表示	[表示] > [MS スペクトルピークリスト 1]
バックグラウンドスペクトルの減算	[スペクトル] > [バックグラウンドスペクトルの減算]
2 つのスペクトルをひとつにする	[スペクトル] > [スペクトルの加算] (その後、別のスペクトルをクリック)
スペクトルの特定質量に一致する化合物のデータベース検索	[スペクトル] > [データベースでスペクトルを検索]
スペクトルの選択範囲の質量の化学式作成	[スペクトル] > [スペクトルピークから化学式の作成] (MS スペクトルで範囲が選択されている場合)
分離された同位体アルゴリズムを使用するデコンボリュート	[スペクトル] > [デコンボリュート (分離された同位体)]

クロマトグラフ表示データの処理

[クロマトグラム結果] ウィンドウ



クロマトグラム結果ツール

整理された
ズームツール



整理された選択ツール



ツール選択を解除するには、別のツールまたはアイコンをクリックします。

X 軸と Y 軸のオートスケール

X 軸のオートスケール

Y 軸のオートスケール

ズーム解除

ズーム中に Y 軸をオートスケール

Y 軸リンクモード

範囲選択 - オンにすると、処理を実行したいクロマトグラムの範囲を選択できます

ピーク選択 - オンにすると、積分ピークのスペクトルの頂点が選択できます

マニュアル積分 - オンにすると、積分できます

クロマトグラムを進める - オンにすると、各ポイントををクリックするか、キーボードの左右矢印を用いて、個々のスペクトルを確認できます

ワークフロー

ワークフローは、用途に応じてユーザーインターフェイスをカスタマイズするのに役立ちます。各ワークフローは、そのワークフローに適切なパラメータを持つ異なるメソッドを読み込みます。また、各ワークフローは異なるレイアウトを読み込みます。このレイアウトでは各テーブルに表示される列もカスタマイズしています。最後に、レイアウトのうちの 4 つには、特別なメソッドエディタのセクションが追加されて、各ワークフローに重要なメソッドエディタのセクションをコピーできます。特殊なワークフローで使用する **Feature** をまとめてグループ化すると、メソッドのカスタマイズに便利です。

定性分析プログラムでは、次の 5 つのワークフローが使用できます。

- 一般
- **BioConfirm** - このワークフローは、**BioConfirm** ソフトウェアがインストールされ、[ユーザーインターフェイスコンフィグレーション] ダイアログボックスでオンにされている場合に限り使用できます。
- クロマトグラムピーク調査
- **MS** ターゲット化合物スクリーニング
- 化学式の確認とサンプル純度

特有のメソッド

各ワークフローは、そのワークフローにより適切な設定のある特定のデフォルトメソッドを読み込みます。たとえば、BioConfirm ワークフローに切り替えると、[Molecular Feature による化合物の検出] アルゴリズムの [ターゲット] のデータタイプが [巨大分子 (タンパク質、オリゴ)] に設定されます。この設定は BioConfirm ワークフローには適していますが、デフォルトでは他のワークフローには適していません。

特有のレイアウト

各ワークフローでは、特有のレイアウトが読み込まれます。レイアウトを構成しているのは以下のものです。

- 各ウィンドウの位置とサイズ
- タブ付けされているウィンドウの指定
- フローティングウィンドウの指定
- 重ねられるタブ付けされているウィンドウの指定
- デフォルトで表示されるウィンドウの指定
- ステータスバーが表示されるかどうかの指定

各プロットウィンドウ ([クロマトグラム結果]、[スペクトルプレビュー]、[MS スペクトル結果]、[デコンボリューション]、[UV スペクトル結果] ウィンドウ) では以下が指定されています。

- グラフィックが重ね書きされるかどうか
- [ズーム中に Y 軸をオートスケール] モードがオンかどうか
- [Y 軸リンクモード] がオンかどうか

各テーブルウィンドウでは以下が指定されています。

- 表示される列の指定
- 列の順番
- 各列の幅

[メソッドエクスプローラ]と[メソッドエディタ]の特有のセクション

[メソッドエディタ]を使用すると、メソッドのすべてのパラメータが変更できます。4つのワークフローでは、[メソッドエクスプローラ]にセクションが1つ追加されています。セクションには、そのワークフローに役立つ[メソッドエディタ]機能(タブ)が含まれます。これらのセクションやタブは一般の[メソッドエクスプローラ]ウィンドウや[メソッドエディタ]ウィンドウですでに使用しているものですが、そのワークフロー

に重要なセクションをグループ化することで、見やすくなっています。ワークフローセクションのパラメータを変更すると、一般の [メソッドエディタ] セクションの該当するセクションのパラメータも変更します。

一般の [メソッドエディタ] セクションには、存在しないタブもあります。[スペクトルピークの同定] セクションと [データベース検索] > [検索基準] タブは、クロマトグラムピーク調査ワークフローのみに含まれます。これらのセクションは、[クロマトグラムピーク調査] アルゴリズムのみに影響します。このアルゴリズムはこのワークフロー、もしくは [解析レポートを作成しないクロマトグラムピーク調査] 処理または [解析レポートを作成するクロマトグラムピーク調査] 処理のみで使用できます。

BioConfirm メソッドとレイアウト

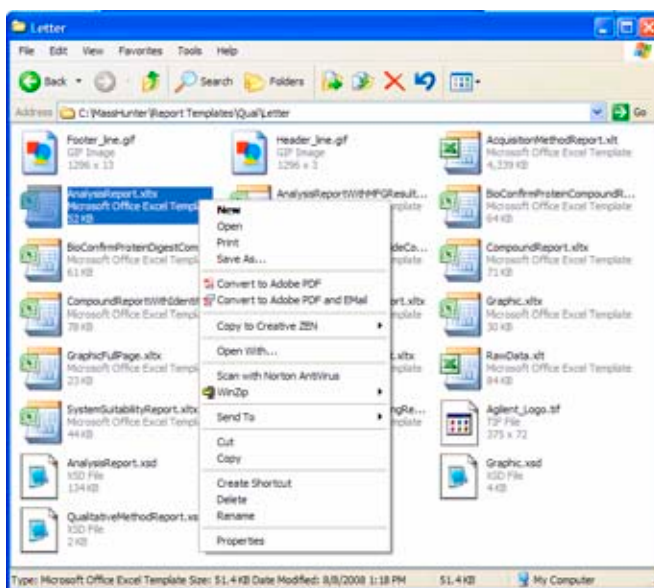
その他のデフォルトメソッドとレイアウトは、シーケンス一致用の独自のカスタマイズメソッドを作成する際の出発点として、BioConfirm ソフトウェアから提供されます。

ワークフロー	メソッド	レイアウト	新しい [メソッドエディタ] セクション
一般	default.m	Default.xml	なし
BioConfirm	BioConfirm IntactProtein-Default.m	BioConfirm- IntactProtein- MaximumEntropy- Default.xml	BioConfirm ワークフロー
クロマトグラムピーク調査	ChromPeakSurvey- Default.m	Default.xml	クロマトグラムピーク調査ワークフロー
MS ターゲット化合物スクリーニング	Screening-Default.m	Screening-Default.xml	MS ターゲット化合物スクリーニングワークフロー
化学式の確認とサンプル純度	SamplePurity- Default.m	SamplePurity- Default.xml	化学式の確認とサンプル純度ワークフロー

レポートテンプレートのカスタマイズ

レポートテンプレートの変更方法の詳細については、MassHunter Report Designer アドインのオンラインヘルプ、または MassHunter Report Designer の『クイックスタートガイド』を参照してください。次のステップでは、テンプレートのカスタマイズの概要を示します。

- 1 レポートテンプレートを含むフォルダに移動します。デフォルトでは、次のフォルダです。**¥MassHunter¥Report Templates¥Qual¥ja¥A4**。[メソッドエクスプローラ]の[一般]>[共通レポートオプション]>[テンプレート]タブで異なるフォルダを選択できます。
- 2 変更するテンプレートを右クリックし、ショートカットメニューを表示し、ショートカットメニューから[開く]をクリックします。

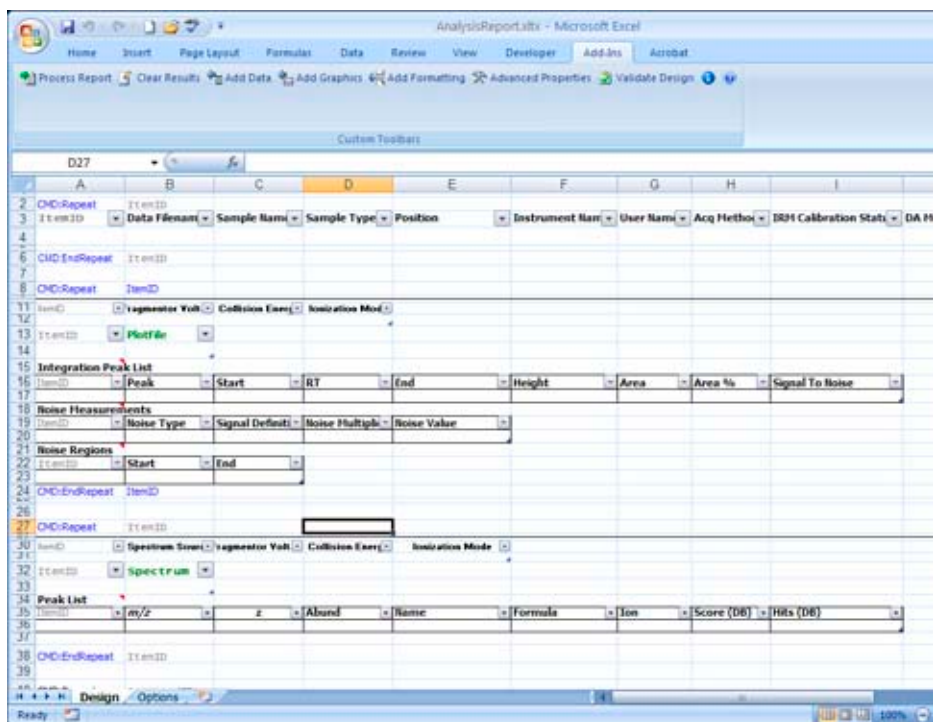


テンプレートをこの方法で開くと、Excel はこのファイルがテンプレートファイルであることを認識します。テンプレートを開いて、ヘッダーとフッターの変更、パラメータ列の追加、削除、移動を行えます。詳細は、オンラインヘルプを参照してください。すべての定性分析テンプレートは、読み取り専用にされています。テンプレートの編集前にこのプロパティを変更しておいてください。

定性分析プログラムには多数のテンプレートがインストールされています。各レポートテンプレートの内容の詳細については、定性分析のオンラインヘルプを参照してください。

4 リファレンス

レポートテンプレートのカスタマイズ



- 3 必要な変更を行います。
- 4 新しいテンプレートを保存するには、[Microsoft Office] ボタンから [名前を付けて保存] > [その他のフォーマット] をクリックします。
- 5 任意の名前を入力し、[保存] をクリックします。

File name:	AnalysisReportCustom.xlsx
Save as type:	Excel Template (*.xltx)

www.agilent.com

本書の内容

このガイドには、Agilent
MassHunter ワークステーション
ソフトウェア - 定性分析
の使い方を学習するための
情報が含まれています。

© Agilent Technologies, Inc. 2009

第 3 版、2009 年 6 月

G3335-96060

G3335-96060



Agilent Technologies