
Analyst MD Software

Scheduled MRM Algorithmus-Tutorial



Dieses Dokument wird Käufern eines SCIEX-Geräts für dessen Gebrauch zur Verfügung gestellt. Dieses Dokument ist urheberrechtlich geschützt und jegliche Vervielfältigung dieses Dokuments, im Ganzen oder in Teilen, ist strengstens untersagt, sofern keine schriftliche Genehmigung von SCIEX vorliegt.

IVD

Die in diesem Dokument beschriebene Software unterliegt einer Lizenzvereinbarung. Das Kopieren, Ändern oder Verbreiten der Software auf einem beliebigen Medium ist rechtswidrig, sofern dies nicht ausdrücklich durch die Lizenzvereinbarung genehmigt wird. Darüber hinaus kann es nach der Lizenzvereinbarung untersagt sein, die Software zu disassemblieren, zurückzuentwickeln oder zurückzuübersetzen. Es gelten die aufgeführten Garantien.

Teile dieses Dokuments können sich auf andere Hersteller und/oder deren Produkte beziehen, die wiederum Teile enthalten können, deren Namen als Marken eingetragen sind und/oder die Marken ihrer jeweiligen Inhaber darstellen. Jede Nennung solcher Marken dient ausschließlich der Bezeichnung von Produkten eines Herstellers, die von SCIEX für den Einbau in die eigenen Geräte bereitgestellt werden, und bedeutet nicht, dass eigene oder fremde Nutzungsrechte und/oder -lizenzen zur Verwendung derartiger Hersteller- und/oder Produktnamen als Marken vorliegen.

CE

Die Garantien von SCIEX beschränken sich auf die zum Verkaufszeitpunkt oder bei Erteilung der Lizenz für die eigenen Produkte ausdrücklich anerkannten Garantien und sind die von SCIEX alleinig und ausschließlich anerkannten Zusicherungen, Garantien und Verpflichtungen. SCIEX gibt keinerlei andere ausdrückliche oder implizite Garantien wie beispielsweise Garantien zur Marktgängigkeit oder Eignung für einen bestimmten Zweck, unabhängig davon, ob diese auf gesetzlichen oder sonstigen Rechtsvorschriften beruhen oder aus Geschäftsbeziehungen oder Handelsbrauch entstehen, und lehnt alle derartigen Garantien ausdrücklich ab; zudem übernimmt SCIEX keine Verantwortung und Haftungsverhältnisse, einschließlich solche in Bezug auf indirekte oder nachfolgend entstehenden Schäden, die sich aus der Nutzung durch den Käufer oder daraus resultierende widrige Umstände ergeben.

UK
CA

Zur Verwendung in der *In-vitro*-Diagnostik. Das Produkt/die Produkte ist/sind nicht in allen Ländern verfügbar. Weitere Informationen erhalten Sie von Ihrem lokalen Vertriebspartner oder unter sciex.com/diagnostics.

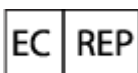
Rx only.

Ein oder mehrere Produkte sind möglicherweise nicht in allen Ländern erhältlich. Weitere Informationen erhalten Sie von Ihrem Vertriebspartner vor Ort oder unter sciex.com.

Die hier erwähnten Marken und/oder eingetragenen Marken, einschließlich deren Logos, sind Eigentum der AB Sciex Pte. Ltd. oder ihrer jeweiligen Inhaber in den Vereinigten Staaten und/oder anderen Ländern (siehe sciex.com/trademarks).

AB Sciex™ wird unter Lizenz verwendet.

© 2022 DH Tech. Dev. Pte. Ltd.



Leica Microsystems CMS GmbH
Ernst-Leitz-Strasse 17-37
35578 Wetzlar
Germany



AB Sciex Pte. Ltd.
Blk33, #04-06 Marsiling Industrial Estate Road 3
Woodlands Central Industrial Estate, Singapore 739256

Inhalt

Scheduled MRM Algorithmus-Tutorial	5
Ziele	5
Über den <i>Scheduled</i> MRM-Algorithmus	5
Zugehörige Dokumente	6
Voraussetzungen	7
Erstellen einer csv- oder txt-Datei	7
Erstellen einer <i>Scheduled</i> MRM Algorithmus-Erfassungsmethode	7
Erstellen einer Erfassungsmethode mit zwei <i>Scheduled</i> MRM Algorithmus-Experimenten	15
Generieren Sie ein Extracted Ion Chromatogram (Extrahiertes Ionenchromatogramm) ...	16
Anzeigen von MRM-Übergängen	17
Quantifizierungsmethoden erstellen	18
Überprüfen Sie die „Results Table“	20
Über den <i>Scheduled</i> MRM Pro-Algorithmus	22
Erstellen einer Erfassungsmethode für einen <i>Scheduled</i> MRM Pro Algorithmus	23
Auswirkungen des <i>Scheduled</i> MRM Pro Algorithmus in IDA	28
Erstellen einer IDA <i>Scheduled</i> MRM Pro Algorithmus-Erfassungsmethode	28
Anzeige der <i>Scheduled</i> MRM Pro Algorithmus-Parameter in den Dateinformationen	29
Erstellen einer <i>Scheduled</i> MRM Basic oder Pro Algorithmus-Erfassungsmethode mit Scheduled Ionization	30
 Kontaktangaben	 32
Kundenschulung	32
Online-Lernzentrum	32
SCIEX Support	32
Cybersicherheit	32
Dokumentation	32

Scheduled MRM Algorithmus-Tutorial

Ziele

Benutzer lernen, wie man:

- Eine Methode erstellt, um *Scheduled* MRM Algorithmus-Übergänge zu überwachen.
- *Scheduled* MRM-Algorithmus-Übergänge in einem extrahierten Ionenchromatogramm anzeigt.
- Die quantitativen Daten durch die Erstellung einer Quantifizierungsmethode und Überprüfung der „Results Table“ analysiert.
- Eine *Scheduled* MRM Pro Algorithmus-Erfassungsmethode erstellt.
- Eine IDA *Scheduled* MRM Pro Algorithmus-Erfassungsmethode erstellt.

Über den *Scheduled* MRM-Algorithmus

Der *Scheduled* MRM-Algorithmus hilft bei der Erfassung von Hunderten von Verbindungen basierend auf einer Liste von Multiple Reaction Monitoring (MRM)-Übergängen, Retentionszeiten und Verbindungs-IDs, die Sie bei der Erstellung der Erfassungsmethode bereitgestellt werden. Durch die *Scheduled* MRM-Algorithmus-Funktionalität wird die Notwendigkeit für Multi-Periodenexperimente reduziert. Diese kann auch als Vorläuferscan in einer IDA-Methode (Information Dependent Acquisition, informationsabhängige Erfassung) verwendet werden.

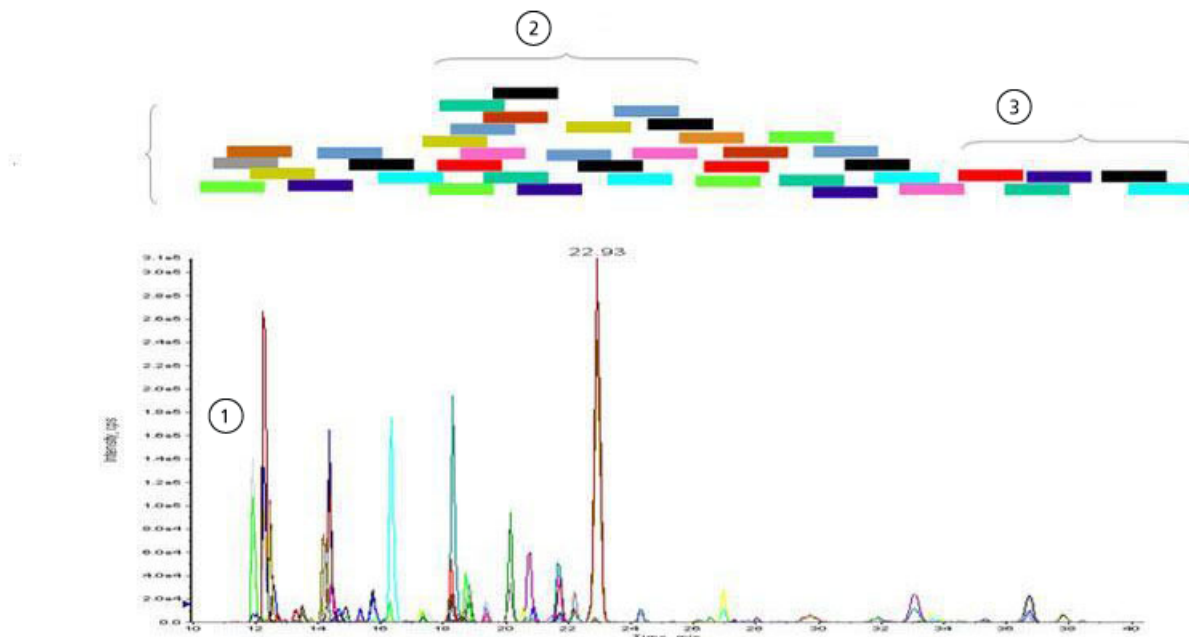
Der Algorithmus maximiert die Punkte bei den chromatographischen Peaks und bietet damit eine bessere Peak-Erkennung und eine verbesserte Reproduzierbarkeit. Mit dieser Funktion kann der Benutzer auch Datendateien mit vielen MRM-Übergängen anzeigen, indem Sie die Spalten für „Compound ID“, „Analyte Integration Quality Index“ und „IS (internal standard) Integration Quality Index“ in der „Results Table“ einblenden. Bei den SCIEX 3200MD Systemen werden maximal 1.000 Übergänge vom *Scheduled* MRM-Algorithmus unterstützt. Bei SCIEX 4500MD- und Citrine-Systemen werden maximal 4.000 Übergänge vom *Scheduled* MRM-Algorithmus unterstützt.

Hinweis: Die Spalten **Analyte Integration Quality Index** und **IS Integration Quality Index** sind auch für alle MRM-Daten in der „Results Table“ verfügbar.

Die folgende Abbildung zeigt ein Beispiel für einen *Scheduled* MRM Algorithmus LC-Lauf. Die Zahl der gleichzeitig überwachten MRM-Übergänge variiert während der LC-Analyse, bleibt aber zwischen den Injektionen konstant.

Abbildung 1: Typisches Beispiel für einen *Scheduled* MRM Algorithmus LC-Lauf

Scheduled MRM Algorithm



Element	Beschreibung
1	Überwachte MRM-Übergänge.
2	Hohe Anzahl von überwachten MRM-Übergängen.
3	Niedrige Anzahl von überwachten MRM-Übergängen.

Um eine große Anzahl von Übergängen mit dem *Scheduled* MRM Algorithmus zu verarbeiten, verwenden Sie die MultiQuant MD Software für die Datenverarbeitung. Weitere Informationen erhalten Sie von Ihrem SCIEX Vertriebspartner.

Zugehörige Dokumente

- *Systemhandbuch* für das Massenspektrometer
- *Handbuch für fortgeschrittene Benutzer*
- *Skripthandbuch* (für weitere Informationen über das „Create Quan Methods From Text Files“-Skript und das „Create Text File from Quan Method“-Skript)
- *Handbuch über informationsabhängige Erfassungen* (für weitere Informationen zum Erstellen von Methoden mit IDA)
- *Analyst Hilfe*

Voraussetzungen

Voraussetzungen

Benutzer sollten in der Lage sein:

- eine Akquisitionsmethode zu erstellen
- eine Batch zu übertragen
- eine Quantifizierungsmethode zu erstellen und eine Ergebnistabelle zu erstellen und anzuzeigen

Die folgenden Peripheriegeräte müssen im Hardware-Profil enthalten sein:

- LC-Pumpe
- Autosampler (Probengeber)

Erstellen einer csv- oder txt-Datei

Optional können Übergangsinformationen für eine *Scheduled* MRM Methode erstellt, in einer csv- oder txt-Datei gespeichert und in die Massenbereichstabelle einer *Scheduled* MRM Algorithmus-Methode importiert werden. Verwenden Sie die folgenden Kriterien, um die csv- oder txt-Datei zu erstellen:

- Die Datei darf keine Kopfzeile oder Spalten- oder Zeilenüberschrift enthalten.
- Die Reihenfolge und Anzahl der Spalten in der Datei muss der Reihenfolge und Anzahl der Spalten in der Massenbereichstabelle entsprechen.
- Bei MRM und *Scheduled* MRM Algorithmus-Methoden dürfen keine leeren Zellen enthalten sein. Bei *Scheduled* MRM Pro Algorithmus-Methoden können die Spalten **Window** und **Threshold** frei gelassen werden, damit Standardwerte verwendet werden können. Die Spalte **Group** kann ebenfalls leer bleiben.

Stellen Sie sicher, dass die Datei mit der Erweiterung .csv oder .txt gespeichert wurde.

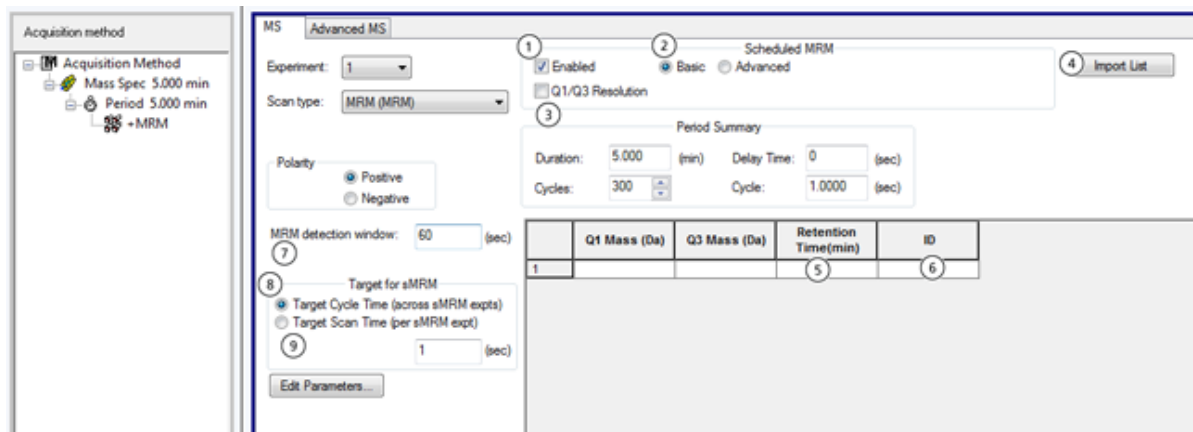
Erstellen einer *Scheduled* MRM Algorithmus-Erfassungsmethode

Hinweis: Bei SCIEX 4500MD- und Citrine-Systemen können maximal 1.250 ungeplante MRM-Übergänge und 4.000 MRM-Übergänge mit dem *Scheduled* MRM-Algorithmus erfasst werden. Bei den SCIEX 3200MD-Systemen können maximal 300 ungeplante MRM-Übergänge und 1.000 MRM-Übergänge mit dem *Scheduled* MRM-Algorithmus erfasst werden.

1. Doppelklicken Sie in der Navigationsleiste unter **Acquire** auf **Build Acquisition Method** und wählen Sie dann im Teilfenster „Acquisition Method“ das Symbol **Mass Spec**.
2. Stellen Sie sicher, dass der ausgewählte **Scan Type MRM** ist und aktivieren Sie das Kontrollkästchen **Enabled** in der Gruppe **Scheduled MRM**. Zum Erstellen einer

Methode für die SCIEX 4500MD- und Citrine-Systeme siehe die Funktionen in der Abbildung: [Abbildung 2](#). Zum Erstellen einer Methode für die SCIEX 3200MD-Systeme siehe die Funktionen in der Abbildung: [Abbildung 3](#).

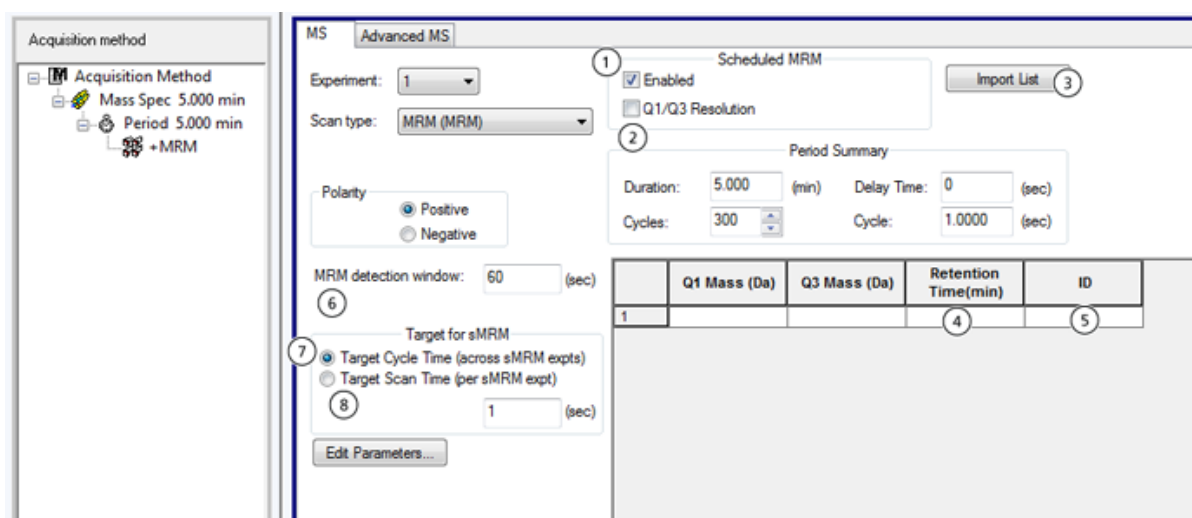
Abbildung 2: Scheduled MRM Algorithmus Software-Funktionen der SCIEX 4500MD- und Citrine-Systeme



Element	Beschreibung
1	Kontrollkästchen Enabled in der Gruppe Scheduled MRM : Markieren Sie dieses, um die grundlegenden und erweiterten <i>Scheduled MRM</i> -Algorithmus-Funktionen zu aktivieren.
2	Option Basic : Wählen Sie diese Option, um die <i>Scheduled MRM</i> -Algorithmus-Funktion zu aktivieren. „Basic“ ist der voreingestellte Wert.
3	Kontrollkästchen Q1/Q3 Resolution : Markieren Sie dieses, um verschiedene Q1- und Q3-Auflösungseinstellungen auf jeden Übergang anzuwenden. Nach Auswahl dieser Option werden die Spalten Q1 Resolution und Q3 Resolution in der Massenbereichstabelle hinzugefügt.
4	Schaltfläche Import List : Klicken Sie diese an, um MRM-Übergänge, Zeit, ID und verbindungsabhängige Parameter aus einer txt-Datei oder csv-Datei zu importieren.
5	Spalte Retention Time (min) : Geben Sie für den entsprechenden MRM-Übergang die erwartete Retentionszeit in Minuten ein. Diese Spalte zeigt die Verweilzeit (Dwell Time) in Millisekunden für MRM-Methoden.
6	Spalte ID : (Optional) Geben Sie eine Verbindungs-ID für den relevanten Übergang ein.
7	Feld MRM detection window (sec) : Geben Sie die Zeitdauer für die Erfassung um die Retentionszeit für jeden Übergang ein.

Element	Beschreibung
8	Option Target Cycle Time (across sMRM experiments) : Wählen Sie diese Option, um die Zielzykluszeit für alle <i>Scheduled</i> MRM-Algorithmus-Experimente für den gesamten Zeitraum oder die gesamte Methode festzulegen und zu verwenden. Durch das Aktivieren oder Deaktivieren des Kontrollkästchens in einem <i>Scheduled</i> MRM-Algorithmus-Experiment wird die Auswahl automatisch auf das andere <i>Scheduled</i> MRM-Algorithmus-Experimente angewandt, sofern zwei <i>Scheduled</i> MRM-Algorithmus-Experimente in der Methode enthalten sind. Es dürfen maximal zwei <i>Scheduled</i> MRM-Algorithmus-Experimente pro Zeitraum oder Methode enthalten sein. Die Zielzykluszeit kann so angepasst werden, dass eine bestimmte Zykluszeit während aller Zyklen ungeachtet des Polaritätswechsels zwischen den gleichzeitigen Übergängen angezielt werden kann. Dadurch können gleichmäßigere Datenpunkte im gesamten Peak erreicht werden. Target Cycle Time ist die Voreinstellung.
9	Feld Target Scan Time (per sMRM experiment) (sec) : Wählen Sie diese Option, um den Zielzeitwert festzulegen, der pro Zyklus für das Experiment verwendet werden soll. Die Software hält die gesamte Scan-Dauer für dieses Experiment nahe an der Zielzeit in jedem Zyklus, es sei denn, die minimale Stehzeit oder die maximale Stehzeit wird auf einige der gleichzeitigen Übergänge angewendet. Die Target Scan Time (Ziel-Scan-Dauer) ist einstellbar, damit auf eine bestimmte Anzahl von Punkten für LC-Peaks abgezielt werden kann.

Abbildung 3: Scheduled MRM Algorithmus Software-Funktionen für die SCIEX 3200MD-Systeme



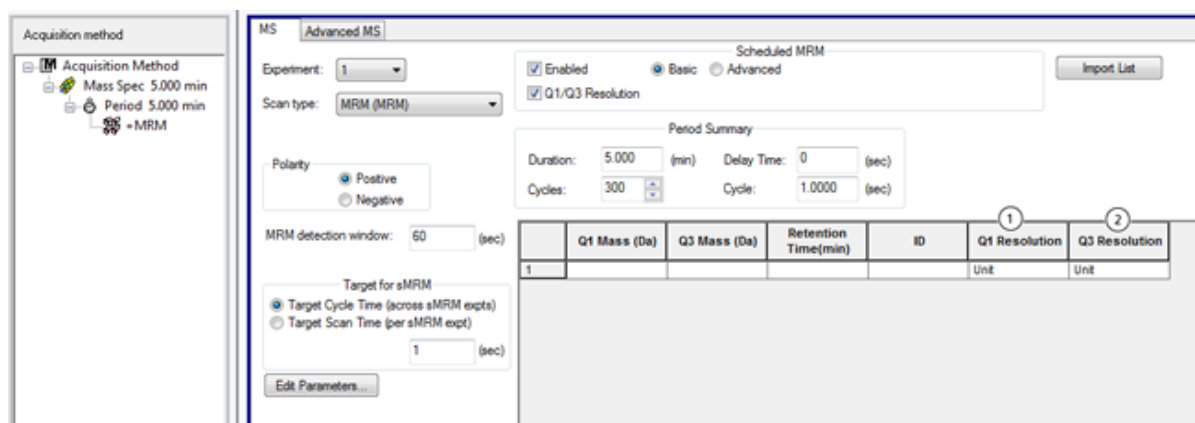
Element	Beschreibung
1	Kontrollkästchen Enabled in der Gruppe Scheduled MRM : Markieren Sie dieses, um die <i>Scheduled MRM</i> -Algorithmus-Funktion zu aktivieren.
2	Kontrollkästchen Q1/Q3 Resolution : Markieren Sie dieses, um verschiedene Q1- und Q3-Auflösungseinstellungen auf jeden Übergang anzuwenden. Nach Auswahl dieser Option werden die Spalten Q1 Resolution und Q3 Resolution in der Massenbereichstabelle hinzugefügt.
3	Schaltfläche Import List : Klicken Sie diese an, um MRM-Übergänge, Zeit, ID und verbindungsabhängige Parameter aus einer txt-Datei oder csv-Datei zu importieren.
4	Spalte Retention Time (min) : Geben Sie für den entsprechenden MRM-Übergang die erwartete Retentionszeit in Minuten ein. Diese Spalte zeigt die Verweilzeit (Dwell Time) in Millisekunden für MRM-Methoden.
5	Spalte ID : (Optional) Geben Sie eine Verbindungs-ID für den relevanten Übergang ein.
6	Feld MRM detection window (sec) : Geben Sie die Zeitdauer für die Erfassung um die Retentionszeit für jeden Übergang ein.
7	Option Target Cycle Time (across sMRM experiments) : Wählen Sie diese Option, um die Zielzykluszeit für alle <i>Scheduled MRM</i> -Algorithmus-Experimente für den gesamten Zeitraum oder die gesamte Methode festzulegen und zu verwenden. Durch das Aktivieren oder Deaktivieren des Kontrollkästchens in einem <i>Scheduled MRM</i> -Algorithmus-Experiment wird die Auswahl automatisch auf das andere <i>Scheduled MRM</i> -Algorithmus-Experimente angewandt, sofern zwei <i>Scheduled MRM</i> -Algorithmus-Experimente in der Methode enthalten sind. Es dürfen maximal zwei <i>Scheduled MRM</i> -Algorithmus-Experimente pro Zeitraum oder Methode enthalten sein. Die Zielzykluszeit kann so angepasst werden, dass eine bestimmte Zykluszeit während aller Zyklen ungeachtet des Polaritätswechsels zwischen den gleichzeitigen Übergängen angezielt werden kann. Dadurch können gleichmäßigere Datenpunkte im gesamten Peak erreicht werden. Target Cycle Time ist die Voreinstellung.

Element	Beschreibung
8	Feld Target Scan Time (per sMRM experiment) (sec) : Wählen Sie diese Option, um den Zielzeitwert festzulegen, der pro Zyklus für das Experiment verwendet werden soll. Die Software hält die gesamte Scan-Dauer für dieses Experiment nahe an der Zielzeit in jedem Zyklus, es sei denn, die minimale Stehzeit oder die maximale Stehzeit wird auf einige der gleichzeitigen Übergänge angewendet. Die Target Scan Time (Ziel-Scan-Dauer) ist einstellbar, damit auf eine bestimmte Anzahl von Punkten für LC-Peaks abgezielt werden kann.

3. Um unterschiedliche Einstellungen für die Q1 und Q3-Auflösung zu verwenden, klicken Sie für jeden Übergang auf **Q1/Q3 Resolution** in der Gruppe „Scheduled MRM“.

Zwei neue Spalten werden zur Massenbereichstabelle hinzugefügt: „Q1 Resolution“ und „Q3 Resolution“.

Abbildung 4: Ausgewählte Option „Q1/Q3 Resolution“ für die SCIEX 4500MD- und Citrine-Systeme



Element	Beschreibung
1	Spalte Q1 Resolution : Der Modus, in welchem der Q1-Scan nahe nebeneinanderliegende Komponenten trennt. Dies ist das Auflösungsvermögen des ersten Quadrupols. Die Optionen sind „High“, „Unit“, „Low“ oder „Open“.
2	Spalte Q3 Resolution : Der Modus, in welchem der Q3-Scan nahe nebeneinanderliegende Komponenten trennt. Dies ist das Auflösungsvermögen des dritten Quadrupols. Die Optionen sind „High“, „Unit“, „Low“ oder „Open“.

Die Optionen **Resolution Q1** und **Resolution Q3** in der Registerkarte Advanced MS sind nicht verfügbar.

Wenn das Kontrollkästchen **Q1/Q3 Resolution** im Tune Method Editor ausgewählt ist, sind die Optionen **Q1 Resolution** und **Q3 Resolution** auf der Registerkarte „Resolution“ nicht verfügbar.

4. Füllen Sie die Massenbereichstabelle für jeden relevanten MRM-Übergang mit einer der folgenden Methoden aus:
 - Manuelle Eingabe von MRM-Übergängen: Geben Sie die Q1 Masse, Q3 Masse, Retentionszeit und die Verbindungs-ID für jeden relevanten Übergang ein. Wählen Sie für jeden Übergang Werte in den Spalten **Q1 Resolution** und **Q3 Resolution** aus. Klicken Sie mit der rechten Maustaste, um gegebenenfalls substanzspezifische Parameter hinzuzufügen. Maximal können in einer Massenbereichstabelle vier substanzspezifische Parameter hinzugefügt werden.
 - Importieren von MRM-Übergängen: Klicken Sie auf **Import List** und wählen Sie dann im Dialogfeld „Open“ eine Datei mit durch Komma getrennten Werten (csv) oder eine Datei mit tabulatorgetrennten Werten (txt), in der die Informationen zu den MRM-Übergängen enthalten sind. Klicken Sie nach Auswahl der Datei auf **Open**. Der Inhalt der Datei wird in der Massenbereichstabelle dargestellt. Weitere Informationen über das Erstellen von Audit-Trails finden Sie im Abschnitt: [Erstellen einer csv- oder txt-Datei](#).
 - Kopieren und Einfügen von MRM-Übergängen: Wählen Sie die Zellen mit den benötigten Informationen aus einer csv- oder txt-Datei und drücken Sie **Ctrl+C**. Beim Einfügen von Zeilen mit Informationen, wählen Sie die erste **Q1 Mass (Da)**-Zelle in der Massenbereichstabelle und drücken Sie anschließend **Ctrl+V**.

Hinweis: Vor dem Importieren oder Kopieren und Einfügen stellen Sie sicher, dass die Datenspalten in der csv- oder txt-Datei den Datenspalten in der Massenbereichstabelle der Software entsprechen. Die Anzahl der Spalten und Spaltenanordnung muss in der Quell- und Zieltabelle identisch sein. Gegebenenfalls fügen Sie Spalten hinzu, entfernen diese oder verändern deren Reihenfolge in der Quelldatei. Zum Hinzufügen einer neuen Spalte in der Massenbereichstabelle klicken Sie mit der rechten Maustaste in die Massenbereichstabelle und wählen dann einen verbindungsabhängigen Parameter. Bei verbindungsabhängigen Parametern müssen die Werte innerhalb der zulässigen Bereiche der ausgewählten Polarität liegen.

5. Geben Sie im Feld **MRM detection window (sec)** die Zeitdauer für die Erfassung im Zusammenhang mit der Retentionszeit für jeden Übergang ein. Dieses Fenster sollte die erwartete Breite des chromatographischen Peaks und die Variabilität in der chromatographischen Retentionszeit des Analyten reflektieren, wodurch der gesamte MRM-Peak immer im Fenster liegen sollte.

Verwenden Sie Ihre LC-Chromatographie als Richtwert für die Auswahl der besten *Scheduled* MRM Algorithmus-Parameter. Bestimmen Sie die Breite für einen typischen Peak an der Basis und beziehen Sie sich dann auf die folgende Tabelle für empfohlene Einstellungen. Achten Sie darauf, die Stabilität der Retentionszeit in der Definition des MRM-Erkennungsfensters zu berücksichtigen.

Tabelle 1: Empfohlene Einstellungen für *Scheduled MRM* Algorithmus-Parameter

Peakbreite an der Basis	MRM-Erkennungsfenster	Target Scan Time oder Target Cycle Time
30 Sekunden	90 Sekunden	2 Sekunden
15 Sekunden	60 Sekunden	1 Sekunde
10 Sekunden	30 Sekunden	0,5 Sekunden

Für den *Scheduled MRM* Algorithmus wird die Anzahl der pro Zeiteinheit überwachten Analyten auf Grundlage des Retentionszeitfensters der Analyten eingestellt. Um die verwendete Verweilzeit für jeden Analyten und sein Signal-zu-Rausch-Verhältnis zu maximieren, empfehlen wir, dass Sie ein kleineres aber angemessenes Retentionszeitfenster verwenden, damit der Peak von Interesse erfasst werden kann. Ein Wert von 60 Sekunden ist ein guter Ausgangspunkt. Dieser Wert ist für eine Chromatographie ausreichend, die eine Peakbreite von 15 Sekunden und eine potentielle Retentionszeit-Verschiebung von 20 Sekunden nach links und rechts des Peaks ergibt.

Beträgt Ihre voraussichtliche Retentionszeit zum Beispiel 4,5 Minuten und Sie geben 60 Sekunden ein, wird ein Erkennungsfenster von 4 bis 5 Minuten festgelegt.

Hinweis: Wird die **Retention Time** auf 0 gesetzt, überwacht die Software diesen Übergang während der gesamten Laufzeit.

6. Führen Sie nach Bedarf einen der folgenden Schritte aus:

- Lassen Sie die Option **Target Cycle Time (across sMRM expts)** ggf. ausgewählt und geben Sie dann eine Ziel-Zyklus-Dauer (in Sekunden) entsprechend der folgenden Abbildung ein. Wenn die Option **Target Cycle Time** ausgewählt ist, dann versucht die Software, dieselbe Zykluszeit auf jeden Zyklus anzuwenden. Die für den jeweiligen Zyklus verwendete tatsächliche Zykluszeit variiert jedoch hauptsächlich abhängig von der Summe der Verweilzeiten aller Übergänge im Zyklus.

Die Software verwendet die Ziel-Zyklus-Dauer, die Polaritätswechselzeiten, falls vorhanden, und alle Pausierungszeiten zum Berechnen der Verweilzeit für jeden Übergang innerhalb eines Zyklus. Die vorgesehene Verweilzeit für einen Übergang hängt von der berechneten Verweilzeit für den jeweiligen Zyklus im Erkennungsfenster ab, davon, ob die berechnete Verweilzeit kleiner ist als die minimale Verweilzeit oder größer als die maximale Verweilzeit für einige Zyklen, und davon, inwieweit sie sich mit jedem der Übergänge im Erkennungsfenster überschneidet. Wenn die berechnete Verweilzeit aufgrund einer hohen Nebenläufigkeit kleiner ist als die minimale Verweilzeit, oder größer als die maximale Verweilzeit aufgrund einer niedrigen Nebenläufigkeit, dann werden die minimale Verweilzeit oder die maximale Verweilzeit für den Übergang in diesem Zyklus für den nächsten Schritt der Berechnung verwendet. Der Durchschnitt der Verweilzeiten aller Zyklen für diesen Übergang ist die endgültige Verweilzeit, die für diesen Übergang vorgesehen ist.

Abbildung 5: Target Cycle Time (across sMRM expts)

The screenshot shows the 'MS Advanced MS' window. The 'Experiment' is set to '1' and 'Scan type' is 'MRM (MRM)'. Under 'Scheduled MRM', 'Enabled' and 'Q1/Q3 Resolution' are checked. The 'Period Summary' shows 'Duration: 5.000 (min)', 'Cycles: 300', 'Delay Time: 0 (sec)', and 'Cycle: 1.0000 (sec)'. The 'Polarity' is set to 'Positive'. The 'MRM detection window' is '60 (sec)'. In the 'Target for sMRM' section, 'Target Cycle Time (across sMRM expts)' is selected, and the value '1 (sec)' is entered in the adjacent field. A table at the bottom shows columns for 'Q1 Mass (Da)', 'Q3 Mass (Da)', 'Retention Time (min)', 'ID', 'Q1 Resolution', and 'Q3 Resolution'.

- Klicken Sie bei Bedarf auf **Target Scan Time (per sMRM expt)** und geben Sie anschließend die Zielzeitlänge (in Sekunden) für das Experiment für jeden Zyklus entsprechend der folgenden Abbildung ein. Dieser Parameter ermöglicht, die Anzahl der Punkte über dem chromatographischen Peak zu definieren.

Abbildung 6: Target Scan Time (per sMRM expt)

This screenshot is identical to the previous one, but in the 'Target for sMRM' section, 'Target Scan Time (per sMRM expt)' is selected instead of 'Target Cycle Time (across sMRM expts)'. The value '1 (sec)' remains in the input field.

Verwenden Sie die Breiten der chromatographischen Peaks als Richtwert für diesen Wert. Ein Wert von 1 Sekunde ist ein guter Ausgangspunkt für eine Chromatographie, die eine Peakbreite von 15 Sekunden ergibt. In diesem Fall erzeugt eine Ziel-Scan-Dauer von 1 Sekunde ungefähr 15 Datenpunkte für einen 15-Sekunden-Peak, wenn keine Mindest- oder Höchst-Verweilzeit auf einen der gleichzeitigen Übergänge innerhalb des Erkennungsfensters angewandt wird.

- Wählen Sie in den übrigen Feldern die gewünschten Werte für die Erfassungsmethode.
- Speichern Sie die Erfassungsmethode in dem Projekt, aus dem die Erfassung durchgeführt wird.

Hinweis: Die *Scheduled* MRM Algorithmus-Felder stehen auf im Tune Method Editor zur Verfügung.

Erstellen einer Erfassungsmethode mit zwei *Scheduled* MRM Algorithmus-Experimenten

Verwenden Sie dieses Verfahren, um eine Methode zu erstellen, die die Polarisationsumschaltung unterstützt.

1. Erstellen Sie eine *Scheduled* MRM Algorithmus-Erfassungsmethode anhand der Schritte im Abschnitt: [Erstellen einer *Scheduled* MRM Algorithmus-Erfassungsmethode](#).
2. Klicken Sie im Teilfenster „Acquisition method“ mit der rechten Maustaste auf **Period** und anschließend auf **Add experiment**.
Es wird ein zweites MRM-Scanexperiment erstellt.
3. Wählen Sie in der MS-Registerkarte eine der folgenden Optionen basierend auf dem verwendeten Massenspektrometer aus:
 - Bei den SCIEX 4500MD- und Citrine-Systemen aktivieren Sie das Kontrollkästchen **Enabled** in der Gruppe **Scheduled MRM**. Um eine reguläre *Scheduled* MRM Algorithmus-Erfassungsmethode zu erstellen, muss die Option **Basic** in der Gruppe **Scheduled MRM** ausgewählt sein. Zum Erstellen einer Methode siehe die Funktionen in der Abbildung: [Abbildung 2](#). Um eine *Scheduled* MRM Pro Algorithmus-Methode zu erstellen, muss die Option **Advanced** ausgewählt sein. Zum Erstellen dieser Methode siehe Abschnitt: [Erstellen einer Erfassungsmethode für einen *Scheduled* MRM Pro Algorithmus](#).
 - Für die SCIEX 3200MD-Systeme aktivieren Sie das Kontrollkästchen **Enabled** in der Gruppe **Scheduled MRM**. Zum Erstellen einer Methode siehe die Funktionen in der Abbildung: [Abbildung 3](#).
4. Schließen Sie die Erfassungsmethode ab entsprechend der Beschreibung im Abschnitt: [Erstellen einer *Scheduled* MRM Algorithmus-Erfassungsmethode](#).
5. Speichern Sie die Erfassungsmethode in dem Projekt, aus dem die Erfassung durchgeführt wird.

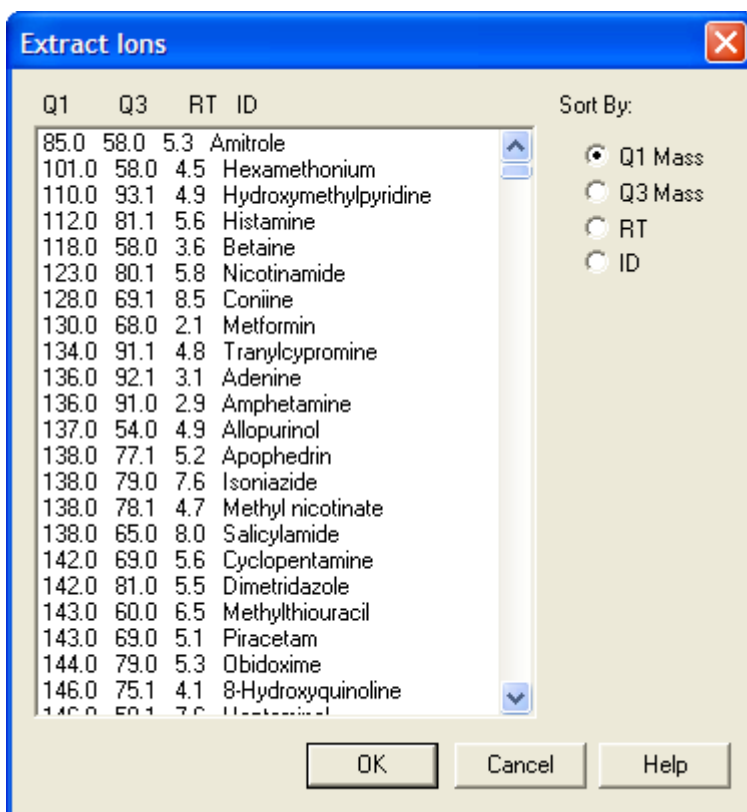
Hinweis: Bei den SCIEX 3200MD- und SCIEX 4500MD-Systemen wird die Standard-Einschwingzeit angewendet, wenn in diesem Zyklus ein Polaritätswechsel stattfindet. Bei der Citrine-Instrumentenreihe wird die vom Benutzer konfigurierte Einschwingzeit angewendet, wenn in diesem Zyklus ein Polaritätswechsel stattfindet.

Generieren Sie ein Extracted Ion Chromatogram (Extrahiertes Ionenchromatogramm)

Hinweis: Wenn eine *Scheduled MRM* Algorithmus-wiff-Datei, die mehr als 2500 Übergänge enthält, geöffnet wird, wird ein TIC anstelle eines XIC angezeigt.

1. Nachdem Sie *Scheduled MRM* MRM-Algorithmus-Daten mit der Erfassungsmethode erzeugt haben, die Sie mit der vorherigen Prozedur erstellt haben, doppelklicken Sie auf der Navigationsleiste unter **Explore** auf **Open Data File** und wählen dann die Datei und Probe aus.
MRM und *Scheduled MRM*-Algorithmus-Daten sind so voreingestellt, dass sie als überlagerte XIC angezeigt werden.
2. Klicken Sie auf **Explore > Extract Ions > Use Dialog**.
Das Dialogfeld „Extract Ions“ wird geöffnet und zeigt jeden MRM-Übergang in der ausgewählten Datei und, falls eingegeben, zusammen mit der entsprechenden erwarteten Retentionszeit und Verbindungs-ID.

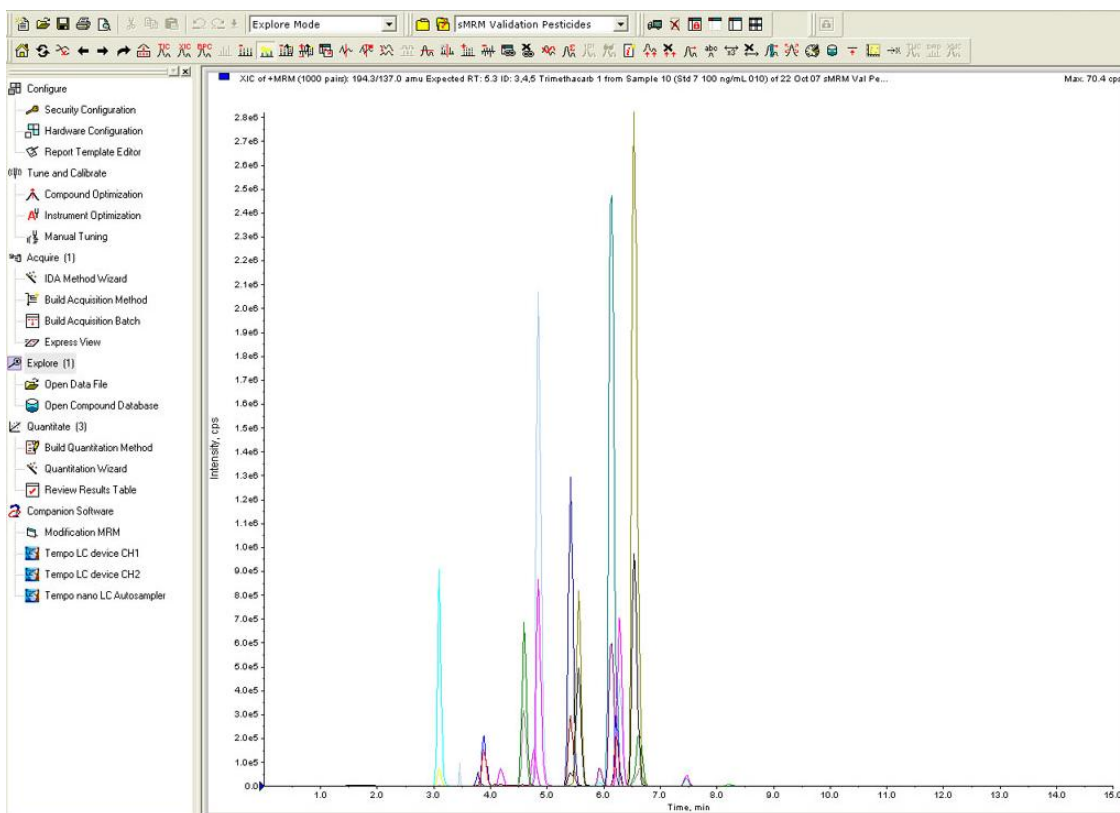
Abbildung 7: Dialogfeld „Extract Ions“



3. Lassen Sie die Liste nach Q1 Masse, Q3 Masse, RT (Retentionszeit) oder Verbindungs-ID sortieren.

4. Wählen Sie einen oder mehrere Übergänge aus.
5. Klicken Sie auf **OK**.
Das XIC wird unterhalb des Chromatogramms und die Verbindungs-ID des ersten ausgewählten Übergangs wird in der Überschrift angezeigt.

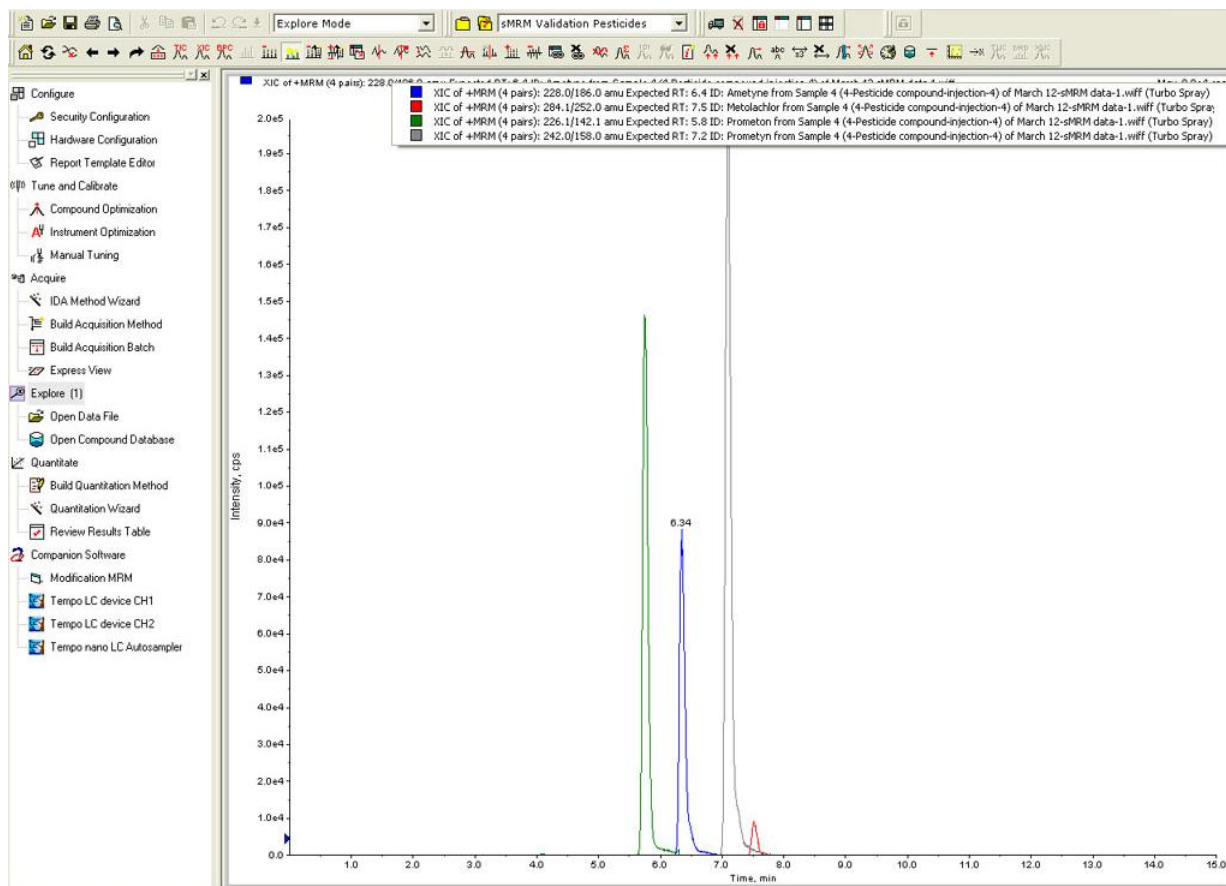
Abbildung 8: Beispiel eines überlagerten XIC, das angezeigt wird, wenn mehrere Ionen extrahiert werden



Anzeigen von MRM-Übergängen

1. Generieren Sie ein XIC.
2. Klicken Sie mit der rechten Maustaste auf die XIC-Überschrift, um die MRM-Übergänge anzuzeigen, die in der Region aktiv sind. Wählen Sie den relevanten MRM-Übergang, wodurch ein Label für die Retentionszeit im Chromatogramm angezeigt wird.

Abbildung 9: Aktive MRM-Übergänge



3. Ziehen Sie den Mauszeiger entlang der X-Achse, um einen bestimmten Zeitbereich zu vergrößern.
Das XIC wird auf den höchsten Datenpeak der angezeigten Daten skaliert.
4. Klicken Sie erneut mit der rechten Maustaste auf die XIC-Überschrift, um die MRM-Übergänge anzuzeigen, die in einem bestimmten Zeitbereich aktiv sind.
Alle Übergänge über dem Schwellenwert und innerhalb des vergrößerten Bereiches werden angezeigt. Die Überschrift wird auf die Anzahl der Übergänge im vergrößerten Bereich reduziert.

Quantifizierungsmethoden erstellen

Hinweis: In der Analyst MD Software muss „Build Quantitation Method“ verwendet werden, um eine Quantifizierungsmethode für eine Datendatei mit mehr als 94 Übergängen zu erstellen. Der „Quantitation Wizard“ kann nur Quantifizierungsmethoden für Datendateien mit höchstens 94 Übergängen erstellen.

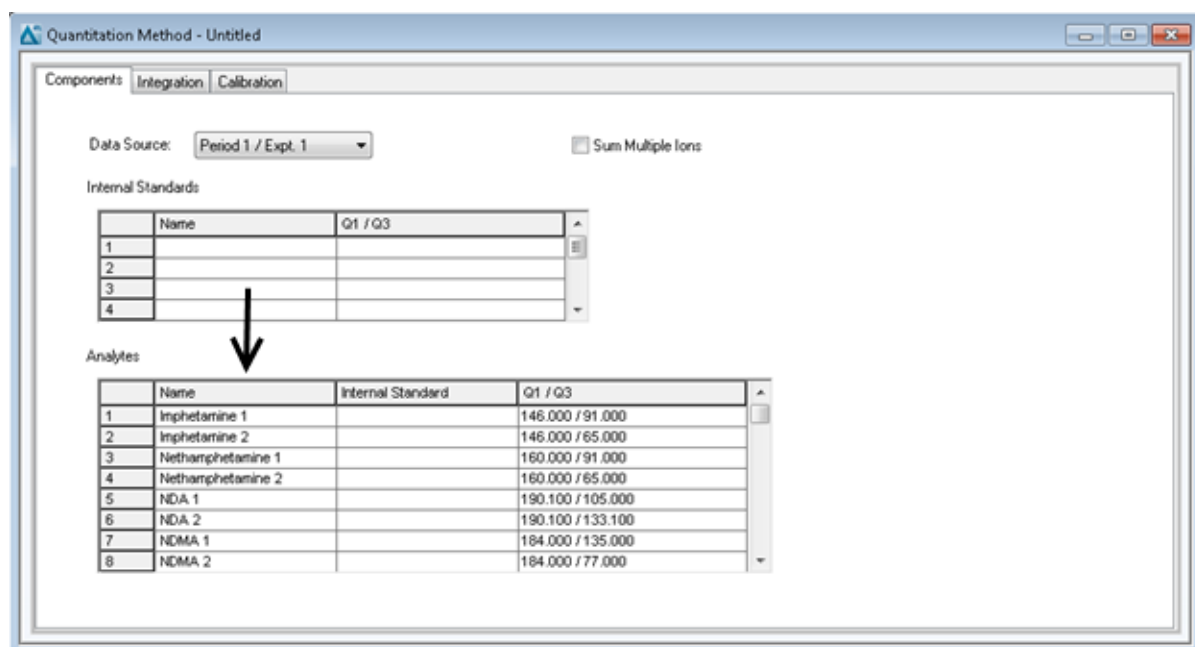
Stellen Sie zunächst sicher, dass der empfohlene IntelliQuan-MQ III-Algorithmus verwendet wird. Für weitere Informationen über die Auswahl von Algorithmen siehe Das Dokument: *Hilfe*.

1. Doppelklicken Sie in der **Navigation**-Leiste unter **Quantitate** auf **Build Quantitation Method**.

Hinweis: Der „Quantitation Wizard“ kann zur Erstellung einer Quantifizierungsmethode verwendet werden, um Daten zu analysieren, die weniger als 94 Übergänge enthalten.

2. Wählen Sie die Datendatei und die eben erfasste Probe aus und klicken dann auf **OK**. Eine Spalte **Name** wird in der Tabelle „Analytes“ angezeigt. Da die Übergänge bei der Erfassung ausgewählt wurden, wird diese Spalte mit der Verbindungs-ID aus der Erfassungsmethode befüllt.

Abbildung 10: Quantifizierungsmethode: Registerkarte „Components“



Hinweis: Wenn Sie mehrere Versuche durchführen, müssen Sie jeden Versuch durch Auswahl aus der Liste **Data Source** anzeigen lassen, damit die Analyten im Versuch in der Quantifizierungsmethode verwendet werden können. Bei vielen Analyten kann es einige Zeit dauern, bis die Liste **Data Source** befüllt ist.

3. Legen Sie die gewünschten Werte in den übrigen Feldern der Quantifizierungsmethode fest und speichern sie dann.
4. Verwenden Sie den Quantitation Wizard, um eine Ergebnistabelle zu erstellen. Stellen Sie sicher, dass Sie die eben erstellte Quantifizierungsmethode ausgewählt haben.

Tipp! Wenn Sie eine große Anzahl von MRM-Übergängen in der Datei haben, verwenden Sie das „Create Quan Methods From Text Files“-Skript und das „Create Text File from Quan Method“-Skript, um eine Quantifizierungsmethode zu erstellen oder anzupassen. Weitere Informationen finden Sie im Dokument: *Skripthandbuch*.

Überprüfen Sie die „Results Table“

- Um die Ergebnisse für einen bestimmten Übergang anzuzeigen, klicken Sie mit der rechten Maustaste in die „Results Table“, wählen Sie **Analyte** und dann den Übergang aus der Liste der Verbindungs-IDs aus.

Abbildung 11: „Results Table“: Analyten-Auswahl

	Sample Name	Sample ID	
1	SYS suit001		
2	SYS suit001		
3	SYS suit001		
4	SYS suit001		
5	SYS suit001		
6	SYS suit001		
7	SYS suit001		
8	SYS suit001		
9	SYS suit001		
10	SYS suit001		
11	SYS suit001		
12	SYS suit001		
13	SYS suit001		
14	SYS suit001		
15	SYS suit001		Un
16	SYS suit001		Un
17	SYS suit001		Un
18	SYS suit001		Un
19	SYS suit001		Un
20	SYS suit001		Un
21	SYS suit001		Un
22	SYS suit001		Un
23	SYS suit001		Un
24	SYS suit001		Un

- Klicken Sie mit der rechten Maustaste in die „Results Table“ und dann auf **Table Settings > Edit**, um das Dialogfeld „Table Settings“ zu öffnen.
- Doppelklicken Sie auf **Columns** und wählen dann **Analyte** aus der Liste.
- Aktivieren Sie neben **Analyte Peak Name** das Kontrollkästchen **Shown**.
- Klicken Sie auf **OK** und dann auf **Done**.
Die Spalte **Analyte Peak Name** wird zur „Results Table“ hinzugefügt und die Verbindungs-ID eines jeden Überganges wird in dieser Spalte angezeigt.

Abbildung 12: „Results Table“: Spalte „Analyte Peak Name“

	Sample Name	Sample Type	File Name	Analyte Peak Name
1	SYS suit001	Unknown	Triple Quad\23 Aug	3,4-Methylenedioxyamphetamine
2	SYS suit001	Unknown	Triple Quad\23 Aug	3,4-Methylenedioxyethylamphetamine
3	SYS suit001	Unknown	Triple Quad\23 Aug	3,4-Methylenedioxymethamphetamine
4	SYS suit001	Unknown	Triple Quad\23 Aug	6-O-Monoacetylmorphine
5	SYS suit001	Unknown	Triple Quad\23 Aug	7-Aminoclonazepam
6	SYS suit001	Unknown	Triple Quad\23 Aug	7-Aminoflunitrazepam
7	SYS suit001	Unknown	Triple Quad\23 Aug	9-Hydroxynisiperidone
8	SYS suit001	Unknown	Triple Quad\23 Aug	Aceclidine
9	SYS suit001	Unknown	Triple Quad\23 Aug	Aceprometazine
10	SYS suit001	Unknown	Triple Quad\23 Aug	Aciclovir
11	SYS suit001	Unknown	Triple Quad\23 Aug	Ajmaline
12	SYS suit001	Unknown	Triple Quad\23 Aug	alpha-Hydroxyalprazolam
13	SYS suit001	Unknown	Triple Quad\23 Aug	alpha-Hydroxytriazolam
14	SYS suit001	Unknown	Triple Quad\23 Aug	Alprazolam
15	SYS suit001	Unknown	Triple Quad\23 Aug	Alprenolol
16	SYS suit001	Unknown	Triple Quad\23 Aug	Amantadine
17	SYS suit001	Unknown	Triple Quad\23 Aug	Amiloride

- Klicken Sie mit der rechten Maustaste in die „Results Table“ und dann auf **Table Settings > Edit**, um die Spalten **Analyte Integration Quality** und **IS Integration Quality** in der Tabelle anzuzeigen.
- Doppelklicken Sie auf **Columns** und wählen dann **Analyte** aus der Liste.
- Neben **Analyte Integration Quality** aktivieren Sie das Kontrollkästchen **Shown** und klicken dann auf **OK**.
- Wählen Sie **Internal Standard** in der Liste aus.
- Aktivieren Sie neben **IS Integration Quality** das Kontrollkästchen **Shown**.
- Klicken Sie auf **OK** und dann auf **Done**.

Die beiden Spalten werden zur „Results Table“ hinzugefügt. Die Integrationsqualität zeigt an, wie gut der Peak integriert wurde. Werte näher an 1 weisen auf einen gut integrierten Peak hin. Kleinere Werte zeigen an, dass der Peak nicht gut integrierte, dass es einen großen Hintergrund gibt oder dass es einen anderen Peak in diesem Bereich geben könnte.

Diese Spalten erleichtern die Bewertung eines Peaks, weil Benutzer die Peaks mit niedrigen **Analyt-Integration Quality**-Indexwerten für eine manuelle Überprüfung leicht sehen können. Darüber hinaus kann der Benutzer diese Daten nach **Analyt-Integration Quality**-Indexwerten durchsuchen, die unter dem als akzeptabel geltenden Wert liegen, um diese anzuzeigen und dann manuell eine Teilmenge der Daten zu überprüfen.

Abbildung 13: Spalten der „Results Table“

	Sample Name	Record Modified	Calculated Concentration (ng/mL)	Accuracy (%)	Analyte Integration Quality	IS Integration Quality	Time
1	STD 1	<input type="checkbox"/>	3.22	161.	1.00 1	1.00 2	0.000000
2	STD 1	<input type="checkbox"/>	3.29	165.	0.874	1.00	N/A
3	STD 1	<input type="checkbox"/>	2.74	137.	1.00	1.00	N/A
4	STD 1	<input type="checkbox"/>	3.20	160.	1.00	1.00	0.000000
5	STD 1	<input type="checkbox"/>	2.86	143.	0.731	1.00	N/A
6	STD 1	<input type="checkbox"/>	2.54	127.	1.00	1.00	N/A
7	STD 2	<input type="checkbox"/>	4.92	123.	1.00	1.00	0.000000
8	STD 2	<input type="checkbox"/>	4.79	120.	0.852	1.00	N/A
9	STD 2	<input type="checkbox"/>	4.37	109.	1.00	1.00	N/A
10	STD 2	<input type="checkbox"/>	4.24	106.	1.00	1.00	0.000000
11	STD 2	<input type="checkbox"/>	4.50	112.	0.942	1.00	N/A
12	STD 2	<input type="checkbox"/>	4.50	9	1.00	1.00	N/A

Element	Beschreibung
1	Spalte „Analyte Integration Quality Index“
2	Spalte „IS Integration Quality Index“

Über den *Scheduled* MRM Pro-Algorithmus

Die *Scheduled* MRM Pro Algorithmus-Funktion wird bei den Systemen der Serie SCIEX 4500MD und Citrine unterstützt.

Der *Scheduled* MRM Pro Algorithmus erweitert die Funktionalität des *Scheduled* MRM-Algorithmus. Er verbessert die Stabilität der Retentionszeit bei Experimenten, da er es ermöglicht, ein Erfassungsfenster für jeden Übergang in der Erfassungsmethode festzulegen. Es lassen sich individuelle Fenster für Verbindungen mit breiten LC-Peaks oder großen Schwankungen in ihren Retentionszeiten anpassen.

Zusätzlich umfasst der *Scheduled* MRM Pro Algorithmus folgende Funktionen:

- Der *Scheduled* MRM Pro Algorithmus unterstützt ebenfalls die automatische Erweiterung des Fensters während der Erfassung. Benutzer können „Dynamic Window Extension (DWE)“ ein- oder ausschalten. Benutzer können außerdem unterschiedliche Trigger-Schwellenwerte und DWE-Schwellenwerte für jeden einzelnen Übergang einstellen. Beispielsweise lösen ein niedriger Trigger-Schwellenwert und ein hoher DWE-Schwellenwert eher einen sekundären Übergang aus, unnötige dynamische Fenstererweiterungen werden jedoch vermieden. Wenn DWE aktiviert ist und wenn eine Verbindung sich zu einer späteren Retentionszeit verlagert hat und die Intensität nicht unter den Erweiterungsschwellenwert nach der Retentionszeit gefallen ist, erweitert der *Scheduled* MRM Pro Algorithmus automatisch das Erkennungsfenster, bis die Intensität unter den Schwellenwert fällt. Der Übergang wird für eine weitere Hälfte des durch die Methode festgelegten Erkennungsfensters überwacht. Das Erkennungsfenster nach der Erweiterung ist bis zu zweimal so groß wie die Dauer des festgelegten Erfassungsfensters. Dadurch wird die Verwendung kleinerer Fenster möglich, dennoch ist

sichergestellt, dass jeder Peak in seiner Gesamtheit erfasst wird. Dies verbessert zudem die Stabilität der Methode im Hinblick auf die meisten Verschiebungen der Retentionszeit.

- Es können Mehrfach-Übergänge für einen Analyten als entweder primär oder sekundär benannt werden. Primäre Übergänge werden während des gesamten Erfassungsfensters überwacht, während sekundäre Übergänge erst überwacht werden, nachdem die zugehörigen primären Übergänge ihren Schwellenwert erreicht haben. Dies reduziert die Zykluszeit, indem die Anzahl von überwachten MRM-Übergängen verringert wird. Die Erfassungszeit wird hauptsächlich dazu genutzt, Daten für die in einer Probe vorhandenen Analyten zu sammeln und nicht für solche Analyten, die nicht in der Probe vorhanden sind.
- Der Algorithmus unterstützt außerdem die Verwendung der Verweilgewichtung. Durch Verweilgewichtung kann die erforderliche Verweilzeit als relativer Wert ausgedrückt werden. In hoher Zahl vorkommenden Verbindungen kann eine niedrigere Verweilgewichtung zugewiesen werden, während weniger zahlreichen Verbindungen eine hohe Verweilgewichtung zugewiesen werden kann. Während des Durchlaufs wird die verfügbare Verweilzeit entsprechend dieser Gewichtung zugewiesen.
- Der Algorithmus unterstützt die Dynamic Background Subtraction (DBS, dynamische Hintergrundsubtraktion) zum Auslösen sekundärer Übergänge. Die Option für die DBS ist nur bei nicht-IDA-Methoden und -Experimenten verfügbar, die den *Scheduled MRM*-Algorithmus verwenden. Wenn bei diesen Methoden oder Experimenten DBS aktiviert ist, erfolgt eine Anwendung auf die primären Übergänge, um die sekundären Übergänge in diesem Experiment zu auszulösen.

Bei IDA-Methoden, die den *Scheduled MRM* Algorithmus für Vorläuferscans verwenden, erfolgt bei aktivierter DBS in den IDA-Kriterien die Anwendung auf die primären Übergänge, um sowohl sekundäre Übergänge als auch abhängige Scans auszulösen.

Wenn sowohl DWE als auch DBS für das *Scheduled MRM* Algorithmus-Experiment aktiviert sind, ist die DWE-Auslösung von den nicht-verarbeiteten Daten ohne DBS der primären Übergänge abhängig.

Wenn die DBS für ein Experiment aktiviert ist, das den *Scheduled MRM*-Algorithmus verwendet, dann setzen die sekundären Übergänge, wenn sie einmal ausgelöst wurden, die Erfassung solange fort, bis ihre primären Übergänge die Erfassung beenden.

Erstellen einer Erfassungsmethode für einen *Scheduled MRM Pro* Algorithmus

Die *Scheduled MRM Pro* Algorithmus-Funktion wird nur bei den Systemen der Serie SCIEX 4500MD und Citrine unterstützt.

Mithilfe dieser Methode können Sie eine *Scheduled MRM Pro* Algorithmus-Methode im Fenster „Method Editor“ erstellen. Diese Methodenart kann auch im Fenster „Manual Tune“ erstellt werden.

1. Aktivieren Sie ein Hardwareprofil für das unterstützte Massenspektrometer. Wählen Sie für Citrine Systeme ggf. einen unterschiedlichen Massenmodus im Hardwareprofil aus und aktivieren Sie dann das Hardwareprofil.

Scheduled MRM Algorithmus-Tutorial

- Öffnen Sie eine vorhandene *Scheduled MRM* Algorithmus-Erfassungsmethode oder erstellen Sie eine anhand des Verfahrens im Abschnitt: [Erstellen einer Scheduled MRM Algorithmus-Erfassungsmethode](#).
- Wählen Sie die Option **Advanced** im Abschnitt **Scheduled MRM** auf der Registerkarte „MS“ im Acquisition Method Editor aus. Dadurch wird die Funktion *Scheduled MRM Pro* Algorithmus aktiviert.

Fünf neue Spalten und zwei Kontrollkästchen werden in die Massenbereichstabelle eingefügt. **Dynamic Window Extension** und **Dynamic Background Subtraction** werden im Abschnitt **Scheduled MRM** angezeigt.

Abbildung 14: *Scheduled MRM Pro* Algorithmus-Parameter

	Q1 Mass (Da)	Q3 Mass (Da)	Retention Time (min)	ID	Group	MRM Window (sec)	Primary / Secondary	Trigger Threshold	Dwell Weight
1					1	2	3	4	5

Element	Beschreibung
1	Group column: Mithilfe dieser Spalte können Sie die Übergänge einer Verbindung zu einer Gruppe zusammenfassen. Weisen Sie allen Übergängen, die Teil derselben Gruppe sind, denselben Namen zu.
2	Feld MRM Window (sec) : Geben Sie die Länge der um die Retentionszeit zentrierten Zeit an, in der der Übergang überwacht wird. Die Werte für die Übergänge in diesem Feld überschreiben den Wert im Standardfenster der Methode im Feld MRM detection window . Die Spalte MRM Window ist vergleichbar mit dem Feld „MRM detection window“, aber der eingegebene Wert gilt nur für diesen speziellen Übergang. Wenn das Feld leer gelassen wird, wird der Wert aus dem Feld MRM detection window übernommen.

Element	Beschreibung
3	<p>Primary/Secondary: Mithilfe dieser Spalte können Sie festlegen, ob ein Übergang primär oder sekundär ist. Primäre Übergänge werden während des gesamten Erfassungsfensters überwacht. Sekundäre Übergänge werden so lange innerhalb des Erfassungsfensters überwacht, wie alle primären Übergänge über ihren individuellen Schwellenwerten liegen.</p> <p>Weisen Sie die Zahl 1 den primären Übergängen und die Zahl 2 den sekundären Übergängen innerhalb einer Gruppe zu. In einer Gruppe kann es mehrere primäre und sekundäre Übergänge geben.</p>
4	<p>Trigger Threshold: Geben Sie die Intensität ein, die sekundäre Übergänge auslöst. In IDA-Methoden wird Trigger Threshold auch verwendet, um abhängige Scans auszulösen.</p> <p>Dieser Wert kann größer oder gleich Null sein.</p>

Element	Beschreibung
5	<p>Dwell Weight: Mithilfe dieser Spalte können Sie festlegen, ob ein bestimmter Übergang eine längere Scan-Dauer (Verweilzeit) als andere Übergänge haben soll. Der Standardwert ist 1.</p> <p>Durch „Dwell Weight“ kann die erforderliche Verweildauer als relativer Wert ausgedrückt werden. In hoher Zahl vorkommenden Verbindungen kann eine niedrigere Verweilgewichtung (<1) zugewiesen werden, während weniger zahlreichen Verbindungen eine hohe Verweilgewichtung (>1) zugewiesen werden kann. Der Wertebereich für „Dwell Weight“ liegt bei 0,1 bis 10. Während des Durchlaufs wird die verfügbare Verweilzeit entsprechend dieser Gewichtung zugewiesen.</p> <hr/> <p>Hinweis: Die gesamte Verweilgewichtung entspricht der Summe der Verweilgewichtungen von allen primären Übergängen und der halben Summe der Verweilgewichtungen von allen sekundären Übergängen in diesem Zyklus. Die Zuordnung der Verweilzeit verwendet jedoch immer noch ihre individuelle Verweilgewichtung geteilt durch die gesamte Verweilgewichtung. Zum Beispiel beträgt die Verweilgewichtung von primären und sekundären Übergängen für eine Methode, die nur zwei Übergänge mit der gleichen Retentionszeit enthält, 1. Die gesamte Verweilgewichtung beträgt $1 + 0,5 = 1,5$. Die Verweilzeit für beide Übergänge entspricht der gesamten Verweilzeit, die allen gleichzeitigen Übergängen multipliziert mit $1/1,5$ zugewiesen werden kann. Die gesamte Verweilzeit, die zugeordnet werden kann, entsteht nach Abzug der Pausenzeiten und Polaritätswechselzeiten, falls zutreffend, und wird anschließend um den Faktor 1,2 korrigiert. Alle leeren Einträge für die Verweilgewichtung verwenden den Standardwert 1.</p> <hr/> <p>Hinweis: Wenn sich die berechnete Verweilzeit der Zyklen für einen Übergang innerhalb des Retentionszeitfensters unterscheidet, wird die durchschnittliche Verweilzeit aller Zyklen zur Erfassung verwendet.</p>
6	<p>Dynamic Window Extension: Wählen Sie diese Option, um die dynamische Fenstererweiterung in der <i>Scheduled MRM</i> Pro-Erfassungsmethode zu aktivieren. Wenn die dynamische Fenstererweiterung (DWE) nicht verwendet wird, deaktivieren Sie das Kontrollkästchen Dynamic Window Extension. Wenn DWE ausgewählt wurde, wird eine neue Extension Threshold-Spalte in der Massenbereichstabelle hinzugefügt. Wenn DWE ausgewählt wurde und die Peakintensität eines Übergangs nach Ablauf der Retentionszeit noch immer über dem Erweiterungsschwellenwert liegt, erweitert der <i>Scheduled MRM</i> Pro-Algorithmus automatisch das Erkennungsfenster, bis die Intensität unter den Erweiterungsschwellenwert fällt und der Übergang für eine weitere Hälfte des durch die Methode festgelegten Erkennungsfensters überwacht wird. Das Erfassungsfenster nach der Erweiterung kann bis zu zweimal so groß wie die Dauer des durch die Methode festgelegten Erkennungsfensters sein.</p>

Element	Beschreibung
7	Dynamic Background Subtraction: Wählen Sie diese Option, um die dynamische Hintergrundsubtraktion in der <i>Scheduled MRM</i> Pro-Erfassungsmethode zu verwenden. In einer IDA-Methode, die durch den Scheduled MRM Pro-Algorithmus ausgelöst wird, ist das Kontrollkästchen Dynamic Background Subtraction im <i>Scheduled MRM</i> Pro-Algorithmus-Experiment nicht verfügbar, wenn dieses in den IDA-Kriterien aktiviert ist. Das Kontrollkästchen Dynamic Background Subtraction in den IDA-Kriterien, falls aktiviert, wird verwendet, um sowohl die sekundären Übergänge als auch die abhängigen Scans auszulösen.
8	Extension Threshold: Legen Sie den Schwellenwert für die dynamische Fenstererweiterung in der <i>Scheduled MRM</i> Pro Erfassungsmethode fest. Dieser Wert kann größer oder gleich Null sein. Siehe die Abbildung: Abbildung 15 .

Abbildung 15: „Dynamic Window Extension“ ausgewählt – Spalte „Extension Threshold“

MS Advanced MS

Experiment: 1

Scan type: MRM (MRM)

Polarity: Positive

MRM detection window: 60 (sec)

Target for sMRM: Target Cycle Time (across sMRM expts)

Target Scan Time (per sMRM expt): 1 (sec)

Edit Parameters...

Scheduled MRM

Enabled Basic Advanced

Q1/Q3 Resolution Dynamic Window Extension Dynamic Background Subtraction

Import List

Period Summary

Duration: 5.000 (min) Delay Time: 0 (sec)

Cycles: 300 Cycle: 1.0000 (sec)

	Q1 Mass (Da)	Q3 Mass (Da)	Retention Time(min)	ID	Group	MRM Window (sec)	Primary / Secondary	Trigger Threshold	Extension Threshold	Dwell Weight
1									8	

4. Füllen Sie die Massenbereichstabelle für jeden MRM-Übergang aus und geben Sie dabei geeignete Werte in die fünf Spalten des *Scheduled MRM* Pro Algorithmus ein. Verwenden Sie die folgenden Regeln und die Informationen in der Abbildung: [Abbildung 14](#).
 - Alle Übergänge in derselben Gruppe müssen nacheinander in der Massenbereichstabelle aufgeführt werden.
 - Alle Übergänge in derselben Gruppe müssen in der Spalte **Retention Time (min)** dieselbe Retentionszeit aufweisen.
 - Alle Übergänge in derselben Gruppe müssen in der Spalte **MRM Window (sec)** dieselbe Zeit aufweisen.
 - Alle primären Übergänge in derselben Gruppe müssen vor den sekundären Übergängen in einer Gruppe eingegeben werden. Wenn eine Gruppe nur einen Übergang hat, muss dieser Übergang der primäre Übergang sein.

5. Speichern Sie die Erfassungsmethode.
Die *Scheduled MRM Pro* Algorithmus-Erfassungsmethode darf nur eine Periode und bis zu zwei *Scheduled MRM* Algorithmus-Experimente enthalten.

Auswirkungen des *Scheduled MRM Pro* Algorithmus in IDA

Wenn ein Vorläuferscan einer informationsabhängigen Erfassung (Information Dependent Acquisition, IDA) mithilfe des *Scheduled MRM Pro* Algorithmus durchgeführt wird, dann wird der abhängige Scan in einer IDA-Methode nur dann ausgelöst, wenn die Intensitäten aller MRM-Übergänge in einer Gruppe über ihren Schwellenwerten liegen. Dies verbessert die Zykluszeit, da irrtümliche Auslösungen von abhängigen Scans verhindert werden.

Erstellen einer IDA *Scheduled MRM Pro* Algorithmus-Erfassungsmethode

1. Erstellen Sie einen *Scheduled MRM Pro* Algorithmus anhand des Verfahrens im Abschnitt: [Erstellen einer Erfassungsmethode für einen *Scheduled MRM Pro* Algorithmus](#).
2. Um eine ER-Scan-Methode hinzuzufügen (falls erforderlich), fügen Sie sie vor dem Hinzufügen der IDA-Kriterien hinzu.
3. Klicken Sie mit der rechten Maustaste auf das Symbol **Period** und anschließend auf **Add IDA Criteria Level**.
4. Geben Sie die Parameter der IDA-Kriterien ein. Siehe das Dokument: *Handbuch über informationsabhängige Erfassungen*.
5. Klicken Sie mit der rechten Maustaste auf das Symbol **Period** und anschließend auf **Add experiment**.
6. Wählen Sie auf der Registerkarte „MS“ in der Liste **Scan type** einen abhängigen Scan-Typ. Wählen Sie für dieses Beispiel **Product Ion (MS2)** oder **Enhanced Product Ion (EPI)** aus.

Hinweis: Für alle abhängigen Scan-Typen muss **Product Of** 30 Da sein.

7. Wenn erforderlich, kopieren oder fügen Sie mehr abhängige Experimente hinzu.
Dies ist abhängig von den IDA-Kriterien, von X zu Y (Ionen mit der höchsten Intensität).
8. Geben Sie die Experiment-Parameter ein.
9. Speichern Sie die Erfassungsmethode in dem Projekt, in dem die Erfassung durchgeführt wird.

Hinweis: Während der Datenerfassung mithilfe einer IDA *Scheduled MRM Pro* Algorithmus-Methode wird der Auslösungsschwellenwert für jeden MRM-Übergang in der Methode anstelle des IDA-Schwellenwerts verwendet, um abhängiger Scans auszulösen.


Hinweis: Um eine *Scheduled* MRM Algorithmus-Methode für die Zuordnung der Verweilzeit, Nebenläufigkeit und für die projizierte Zykluszeit zu optimieren, installieren und verwenden Sie das sMRM Calculator-Skript. Weitere Informationen finden Sie im Dokument: *Skripthandbuch*.

Anzeige der *Scheduled* MRM Pro Algorithmus-Parameter in den Dateinformationen

Nachdem die Erfassung einer Probe abgeschlossen ist, zeigen die Dateinformationen für die mit der *Scheduled* MRM Pro Algorithmus-Methode erfasste Datendatei alle benutzerdefinierten Parameter für jeden Übergang an. Diese Parameter umfassen Folgendes:

- **MRM** (geplant oder nicht geplant)
- **Q1**
- **Q3**
- **Retention Time**
- **ID**
- **Group**
- **MRM Window (sec)**
- **Primary/Secondary**
- **Trigger Threshold**
- **Extension Threshold** (wenn das Kontrollkästchen **Dynamic Window Extension** ausgewählt war)
- **Dwell Weight**
- **Q1 Resolution**
- **Q3 Resolution** (wenn das Kontrollkästchen **Q1/Q3 Resolution** ausgewählt war)

Die Parameter **Dynamic Background Subtraction**, **Dynamic Window Extension**, **Dwell Time**, **Target Scan Time** oder **Target Cycle Time** werden ebenfalls angezeigt.

1. Doppelklicken Sie in der **Navigation**-Leiste unter **Explore** auf **Open Data File**.
Das Dialogfeld „Select Sample“ wird geöffnet.
2. Wählen Sie im Teilfenster „Data Files“ die wiff-Datei aus.
3. Wählen Sie die Probe im Teilfenster „Samples“ aus.
4. Klicken Sie auf **OK**.
Die aus der Probe erfassten Daten werden angezeigt.
5. Um Dateinformationen anzuzeigen, klicken Sie auf **Show File Info**  in der Symbolleiste.
Das Teilfenster „File Information“ wird unter der Grafik geöffnet.

6. Klicken Sie auf den gewünschten Zeitabschnitt im linken Bereich des Teilfensters „File Information“.
7. Klicken Sie auf den gewünschten Link für „Period/Experiment“.
Die Werte der *Scheduled* MRM Pro Algorithmus-Parameter für jeden Übergang werden im ausgewählten Abschnitt „Period Experiment“ im rechten Teilfenster aufgezeichnet.

Abbildung 16: *Scheduled* MRM Pro Algorithmus-Parameter in der Dateiinformation

The screenshot shows the 'File Information' window with the 'Period' tab selected. The 'Period 1' section lists general parameters, and the 'Period 1 Experiment 1' section lists detailed MRM parameters.

Period 1:	
Scans in Period:	120
Min. Dwell Time:	3 ms
Max. Dwell Time:	250 ms
Relative Start Time:	0.00 msec
Experiments in Period:	1
Use target Cycle Time:	No
Target Cycle Time:	N/A

Period 1 Experiment 1:	
Scan Type:	MRM (MRM)
Scheduled MRM:	Yes
Polarity:	Positive
Scan Mode:	N/A
Ion Source:	Turbo Spray
Dynamic Window Extension:	Yes
Dynamic Background Subtraction:	Yes
sMRM Q1/Q3 Resolution:	Yes
MRM detection window:	60 sec
Target Scan Time:	1.0000 sec
Resolution Q1:	N/A
Resolution Q3:	N/A
Intensity Thres.:	0.00 cps
Settling Time:	0.0000 msec
MR Pause:	5.0070 msec
MCA:	No
Step Size:	0.00 Da

Q1 Mass (Da)	Q3 Mass (Da)	Time (min)	sMRM Dwell (msec)	Param	Start	Stop	ID
609.200	195.000	1.00	250.000				

Window (sec)	Primary / Secondary	Trigger Threshold	Extension Threshold	Dwell Weight	Group	Q1 Resolution	Q3 Resolution
0.5	1	1	10000000	1.0	A	High	Unit

Erstellen einer *Scheduled* MRM Basic oder Pro Algorithmus-Erfassungsmethode mit *Scheduled* Ionization

1. Erstellen Sie eine *Scheduled* MRM Basic oder Pro Algorithmus-Erfassungsmethode.
2. Wählen Sie eines der Experimente in der Methode und aktivieren Sie dann das Kontrollkästchen **Scheduled Ionization**.
3. Geben Sie in der Gruppe **Scheduled Ionization** die entsprechende **Start Time** und **Stop Time** ein. Stellen Sie sicher, dass die relevanten Peaks zwischen der **Start Time** und der **Stop Time** eluieren. Wenn **Dynamic Window Extension** ebenfalls ausgewählt ist, dann stellen Sie sicher, dass die **Stop Time** nach der letzten Retentionszeit in der Massentabelle liegt, plus dem 1,5-fachen des Erkennungsfensters für diesen Übergang. Stellen Sie außerdem sicher, dass die Erfassungsmethode **Synchronization Mode** und die LC-Methode so eingestellt sind, wie wenn **Scheduled Ionization** nicht verwendet wird.

Hinweis: **Scheduled Ionization** ist nur für Erfassungsmethoden für einen Zeitraum verfügbar.

Die folgende Abbildung zeigt, dass der **LC Synchronization Mode** verwendet wird und die LC-Methode 7 Minuten lang ist. Alle relevanten Peaks eluieren nach 0,5 Minuten und unter 5,0 Minuten. Da das Erfassungsfenster des letzten eluierten Peaks möglicherweise um ein vollständiges Erkennungsfenster erweitert wird, wird für die

Stop Time 5,5 Minuten verwendet. Wenn **Scheduled Ionization** verwendet wird, dann wird eine **IonSpray**-Spannung von 0 vor der **Start Time** und nach der **Stop Time** angewendet. Die in der MS-Methode festgelegte **IonSpray**-Spannung wird nur zwischen der **Start Time** und der **Stop Time** angewendet. Die Funktion **Scheduled Ionization** kann das Risiko einer Verunreinigung des Geräts verringern und somit die Ausfallzeiten des Massenspektrometers reduzieren. Für weitere Informationen über die **Scheduled Ionization** siehe das Dokument: *Handbuch für fortgeschrittene Benutzer*.

Abbildung 17: Scheduled MRM Pro Algorithmus mit Scheduled Ionization

	Q1 Mass (Da)	Q3 Mass (Da)	Retention Time (min)	ID	Group	MRM Window (sec)
1	301.100	165.000	1.79	6-MAM-d3 IS		
2	141.100	93.000	1.70	Amphetamine-d5		
3	293.100	171.200	2.17	Benzoylcegonine		
4	472.300	400.200	2.77	Buprenorphine-d		
5	267.100	180.000	2.99	Carisoprodol-d7 I		
6	306.200	152.200	1.60	Codeine-d6		
7	342.300	105.100	2.59	Fentanyl-d5		
8	306.200	202.100	1.65	Hydrocodone-d6		
9	292.100	185.100	1.20	Hydroxycodone		
10	363.100	155.100	4.44	JMH Q18 4-OH p		
11	377.200	155.100	4.42	JMH Q19 6-OH h		
12	284.100	134.100	2.28	MDPV-d8 IS		
13	252.200	224.100	3.26	Meprobamate-d4		
14	161.100	148.100	1.98	Mephedrone-D3 I		
15	226.100	165.100	2.33	Mephedrone-d7		

- Speichern Sie die Erfassungsmethode.

Kontaktangaben

Kundenschulung

- In Nordamerika: NA.CustomerTraining@sciex.com
- In Europa: Europe.CustomerTraining@sciex.com
- Die Kontaktinformationen für Länder außerhalb der EU und Nordamerikas finden Sie unter sciex.com/education.

Online-Lernzentrum

- [SCIEX Now Learning Hub](#)

SCIEX Support

SCIEX und seine Vertretungen beschäftigen weltweit einen Stab an ausgebildeten Servicekräften und technischen Spezialisten. Der Support kann Fragen zum System oder anderen auftretenden, technischen Problemen beantworten. Weitere Informationen finden Sie auf der SCIEX-Website unter sciex.com, oder kontaktieren Sie uns unter:

- sciex.com/contact-us
- sciex.com/request-support

Cybersicherheit

Die aktuellsten Hinweise zur Cybersicherheit von SCIEX-Produkten finden Sie unter sciex.com/productsecurity.

Dokumentation

Diese Version des Dokuments ersetzt alle vorherigen Versionen.

Für die Anzeige des Dokuments wird der Adobe Acrobat Reader benötigt. Um sich die neueste Version herunterzuladen, besuchen Sie <https://get.adobe.com/reader>.

Softwareprodukt dokumentationen entnehmen Sie den Versionshinweisen oder dem mit der Software mitgelieferten Software-Installationshandbuch.

Informationen zur Hardware-Produkt dokumentation finden Sie auf der mit dem System oder der Komponente gelieferten *Customer Reference*-DVD.

Hinweis: Wenn Sie eine kostenlose gedruckte Ausgabe dieses Dokuments wünschen, wenden Sie sich bitte an sciex.com/contact-us.
