
Analyst MD-software

Vejledning i *Scheduled* MRM-algoritmen



Dette dokument leveres til kunder, der har købt SCIEX-udstyr, til brug for driften af dette SCIEX-udstyr. Dette dokument er ophavsretligt beskyttet, og enhver reproduktion af dette dokument eller dele af dette dokument er strengt forbudt, medmindre SCIEX skriftligt har givet tilladelse hertil.

Software, som kan være beskrevet i dette dokument, leveres i henhold til en licensaftale. Det er ulovligt at kopiere, ændre eller distribuere softwaren på ethvert medium, medmindre det specifikt er tilladt i licensaftalen. Desuden kan licensaftalen forbyde, at softwaren demonteres, omvendt manipuleres eller dekompileres til ethvert formål. Garantier er som anført i aftalen.

I dele af dette dokument kan der være henvisninger til andre producenter og/eller deres produkter, som kan indeholde dele, hvis navne er registreret som varemærker og/eller fungerer som varemærker tilhørende deres respektive ejere. Enhver sådan brug har kun til formål at betegne disse producenters produkter som leveret af SCIEX til indbygning i dets udstyr og indebærer ikke nogen ret og/eller licens til at bruge eller tillade andre at bruge sådanne producenters og/eller deres produktnavne som varemærker.

SCIEX' garantier er begrænset til de udtrykkelige garantier, der gives på tidspunktet for salg eller licens af dets produkter, og er SCIEX' eneste og eksklusive erklæringer, garantier og forpligtelser. SCIEX giver ingen andre garantier af nogen art, hverken udtrykkelige eller stiltiende, herunder uden begrænsning garantier for salgbarhed eller egnethed til et bestemt formål, uanset om de følger af en lov eller på anden måde af loven eller af en handelspraksis eller handelsbrug, som alle udtrykkeligt fraskrives, og påtager sig intet ansvar eller eventualanvar, herunder indirekte eller følgeskader, for købers brug af produktet eller for eventuelle negative omstændigheder, der måtte opstå som følge heraf.

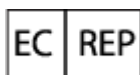
(GEN-IDV-09-10816-D)

Til *in vitro*-diagnostisk brug. Produkt(er) er ikke tilgængeligt/tilgængelige i alle lande. Kontakt din lokale salgsrepræsentant, eller se sciex.com/diagnostics for yderligere oplysninger.

Mærker og/eller registrerede varemærker, der er nævnt heri, herunder tilknyttede logoer, tilhører AB Sciex Pte. Ltd. eller deres respektive ejere i USA og/eller visse andre lande (se sciex.com/trademarks).

AB Sciex™ anvendes under licens.

© 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

IVD

CE

UK
CA

Indholdsfortegnelse

Vejledning i <i>Scheduled</i> MRM-algoritmen	4
Formål	4
Om <i>Scheduled</i> MRM-algoritmen	4
Relateret dokumentation	5
Forudsætninger	6
Oprettelse af en csv- eller txt-fil	6
Oprettelse af en <i>Scheduled</i> MRM-algoritme til dataopsamlingsmetoden	6
Oprettelse af en dataopsamlingsmetode ved hjælp af to <i>Scheduled</i> MRM- algoritmeeksperimenter	13
Generering af et ekstraheret ionkromatogram	14
Visning af MRM-overgange	16
Oprettelse af kvantificeringsmetoder	17
Gennemgang af resultattabellen	18
Om <i>Scheduled</i> MRM Pro-algoritmen	21
Effekt af <i>Scheduled</i> MRM Pro-algoritme på IDA	22
Oprettelse af en IDA-dataopsamlingsmetode for <i>Scheduled</i> MRM Pro-algoritmen	22
Visning af parametre for <i>Scheduled</i> MRM Pro-algoritmen i File Info	23
Oprettelse af en dataopsamlingsmetode for <i>Scheduled</i> MRM Basic- eller Pro- algoritmen med planlagt ionisering	24
 Kontakt os	 26
Kundeuddannelse	26
Online-læringscenter	26
SCIEX	26
Cybersikkerhed	26
Dokumentation	26

Vejledning i *Scheduled* MRM-algoritmen

Formål

Brugere vil lære at:

- Oprette en metode til at overvåge *Scheduled* MRM-algoritmeovergange.
- Få vist *Scheduled* MRM-algoritmeovergange i et ekstraheret ionkromatogram.
- Analysere de kvantitative data ved at oprette en kvantificeringsmetode og gennemgå resultattabellen.
- Oprette en *Scheduled* MRM Pro-algoritmedataopsamlingsmetode.
- Oprette en IDA *Scheduled* MRM Pro-algoritmedataopsamlingsmetode.

Om *Scheduled* MRM-algoritmen

Scheduled MRM-algoritmen hjælper ved dataopsamling af hundredvis af forbindelser på baggrund af en liste af MRM-overgange (Multiple Reaction Monitoring), retentionstider og forbindelses-id'er, som leveres, når dataopsamlingsmetoden oprettes. *Scheduled* MRM-algoritmens funktion reducerer behovet for eksperimenter med flere perioder. Den kan også bruges som undersøgelsesscanning i en IDA-metode (Information Dependent Acquisition).

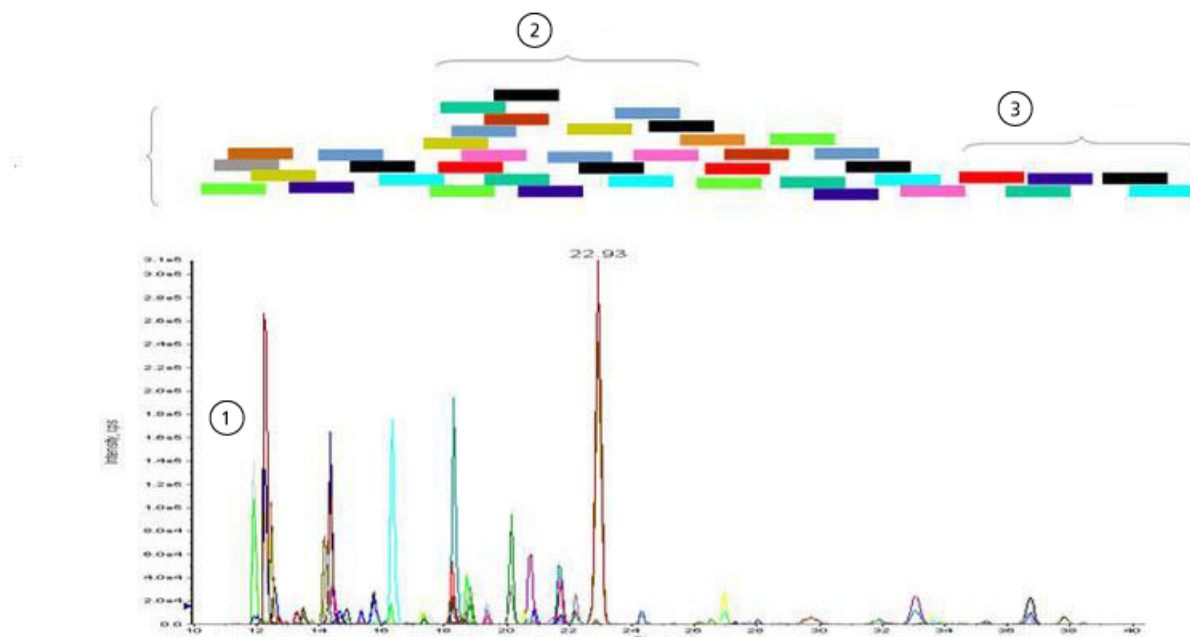
Algoritmen maksimerer punkter på tværs af den kromatografiske top for at give bedre topdetektion og forbedret reproducerbarhed. Med denne funktion kan brugeren også få vist datafiler med mange MRM-overgange ved at vise kolonnerne for forbindelses-id, kvalitetsindeks for analytintegration og kvalitetsindeks for IS-integration (intern standard) i resultattabellen. For SCIEX 3200MD-systemer understøttes maksimalt 1000 overgange af *Scheduled* MRM-algoritmen. For SCIEX 4500MD- og Citrine-systemer understøttes maksimalt 4000 overgange af *Scheduled* MRM-algoritmen.

Bemærk: Kolonnen **Analyte Integration Quality Index** og kolonnen **IS Integration Quality Index** er også tilgængelige for MRM-data i resultattabellen.

Følgende figur viser et eksempel på en LC-kørsel med *Scheduled* MRM-algoritmen. Antallet af MRM-overgange, der overvåges samtidigt, varierer under LC-analysen, men forbliver konstant mellem injektionerne.

Figur 1: Typisk eksempel på en LC-kørsel med *Scheduled* MRM-algoritmen

Scheduled MRM Algorithm



Element	Beskrivelse
1	Overvågede MRM-overgange.
2	Et højt antal overvågede MRM-overgange.
3	Et lavt antal overvågede MRM-overgange.

For at behandle et stort antal overgange med *Scheduled* MRM-algoritmen skal du bruge MultiQuant MD-softwaren til databehandling. Kontakt en SCIEX-salgsrepræsentant for at få flere oplysninger.

Relateret dokumentation

- *Systembrugervejledning* til massespektrometeret
- *Avanceret brugervejledning*
- *Brugervejledning for scripts* (for at få flere oplysninger om scriptet Create Quan Methods From Text Files og scriptet Create Text File from Quan Method)
- *Vejledning i informationsafhængig dataopsamling* (for at få flere oplysninger om oprettelse af metoder ved hjælp af IDA)
- *Analyst hjælp*

Forudsætninger

Forudsætninger

Brugerne skal kunne:

- Oprette en dataopsamlingsmetode
- Sende en batch
- Oprette en kvantificeringsmetode og oprette og gennemgå en resultattabel.

Følgende perifere enheder skal være inkluderet i hardwareprofilen:

- LC-pumpe
- Autosampler

Oprettelse af en csv- eller txt-fil

Eventuelt kan overgangsuplysninger for en *Scheduled* MRM-metode oprettes og gemmes i en csv- eller txt-fil og kan importeres i masseområdestabellen til en *Scheduled* MRM-algoritmemetode. Brug følgende kriterier til at oprette csv- eller txt-filen:

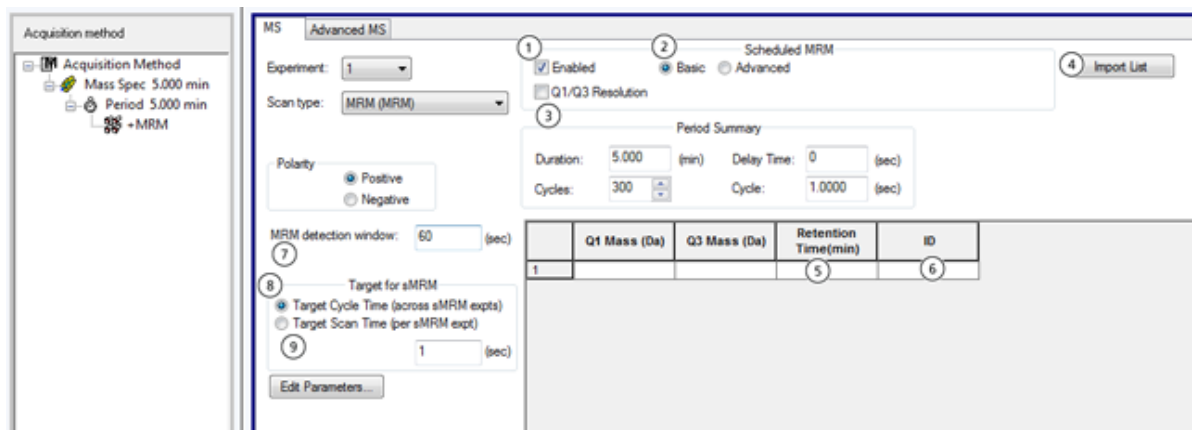
- Filen må ikke indeholde titler på overskrifter, kolonner eller rækker.
- Rækkefølgen og antallet af kolonner i filen skal svare til rækkefølgen og antallet af kolonner i masseområdestabellen.
- Ved MRM- og *Scheduled* MRM-algoritmemetoder må der ikke være tomme celler. Ved *Scheduled* MRM Pro-algoritmemetoder kan **Window**- og **Threshold**-kolonner efterlades tomme for at give mulighed for at bruge standardværdier. Kolonnen **Group** kan også efterlades tom.

Sørg for, at filen gemmes med filtypenavnet .csv eller .txt.

Oprettelse af en *Scheduled* MRM-algoritme til dataopsamlingsmetoden

Bemærk: Til SCIEX 4500MD- og Citrine-systemer kan maksimalt erhverves 1250 ikke-planlagte MRM-overgange og 4000 MRM-overgange med den *Scheduled* MRM-algoritme. Til SCIEX 3200MD-systemerne kan der maksimalt registreres 300 ikke-planlagte MRM-overgange og 1000 MRM-overgange med *Scheduled* MRM-algoritmen.

1. Dobbeltklik på **Build Acquisition Method** på navigationslinjen under **Acquire**, og vælg derefter ikonet **Mass Spec** i ruden Acquisition method.
2. Sørg for, at den valgte **Scan Type** er **MRM**, og markér derefter afkrydsningsfeltet **Enabled** i gruppen **Scheduled MRM**. Hvis du vil oprette en metode til SCIEX- 4500MD- og Citrine-systemer, henvises til funktionerne i figuren: [Figur 2](#). Hvis du vil oprette en metode i SCIEX 3200MD-systemer, henvises til funktionerne i figuren: [Figur 3](#).

Figur 2: *Scheduled MRM*-algoritme til systemerne SCIEX 4500MD og Citrine


Element	Beskrivelse
1	Afkrydsningsfeltet Enabled i gruppen Scheduled MRM : Markér for at aktivere de grundlæggende og avancerede <i>Scheduled MRM</i> -algoritmefunktioner.
2	Indstillingen Basic : Markér for at aktivere <i>Scheduled MRM</i> -algoritmefunktionen. Basic er den forudindstillede indstilling.
3	Afkrydsningsfeltet Q1/Q3 Resolution : Markér for at anvende forskellige Q1- og Q3-opløsningsindstillinger på hver overgang. Når denne indstilling er valgt, føjes kolonnen Q1 Resolution og kolonnen Q3 Resolution til tabellen over masseområder.
4	Import List -knap: Klik for at importere MRM-overgange, tid, ID og forbindelsesafhængige parametre fra en txt- eller csv-fil.
5	Retention Time (min) -kolonne: Indtast den forventede retentionstid i minutter for den tilsvarende MRM-overgang. Denne kolonne viser opholdstiden i msek. for MRM-metoder.
6	ID -kolonne: (Valgfrit) Indtast et forbindelses-id for den pågældende overgang.
7	Feltet MRM detection window (sec) : Indtast den tid til detektion, der omgiver retentionstiden for hver overgang.

Element	Beskrivelse
8	Indstillingen Target Cycle Time (across sMRM experiments) : Vælg for at angive og bruge målcyklostiden for alle <i>Scheduled</i> MRM-algoritmeeksperimenter i hele perioden eller metoden. Hvis indstillingen vælges eller slettes i et <i>Scheduled</i> MRM-algoritmeeksperiment, anvendes den samme indstilling automatisk i det andet <i>Scheduled</i> MRM-algoritmeeksperiment, hvis der er to <i>Scheduled</i> MRM-algoritmeeksperimenter i metoden. Højest to <i>Scheduled</i> MRM-algoritmeeksperimenter er tilladt i en periode eller metode. Målcyklostiden kan justeres, så en bestemt cyklostid kan målrettes i alle cyklusser for at få mere jævnt fordelte datapunkter på tværs af en top uanset polaritetsskift mellem de overensstemmende overgange inden for en cyklus. Target Cycle Time er den forudindstillede indstilling.
9	Feltet Target Scan Time (per sMRM experiment) (sec) : Vælg for at angive den måltid, der skal bruges til eksperimentet i hver cyklus. Softwaren vil holde den samlede scanningstid for dette forsøg tæt på måltiden i hver cyklus, medmindre den minimale eller maksimale opholdstid anvendes på nogle af de samtidige overgange. Målscanningstiden kan justeres, så der kan målrettes et bestemt antal punkter på tværs af LC-toppene.

Figur 3: *Scheduled* MRM-algoritme til SCIEX 3200MD-systemerne

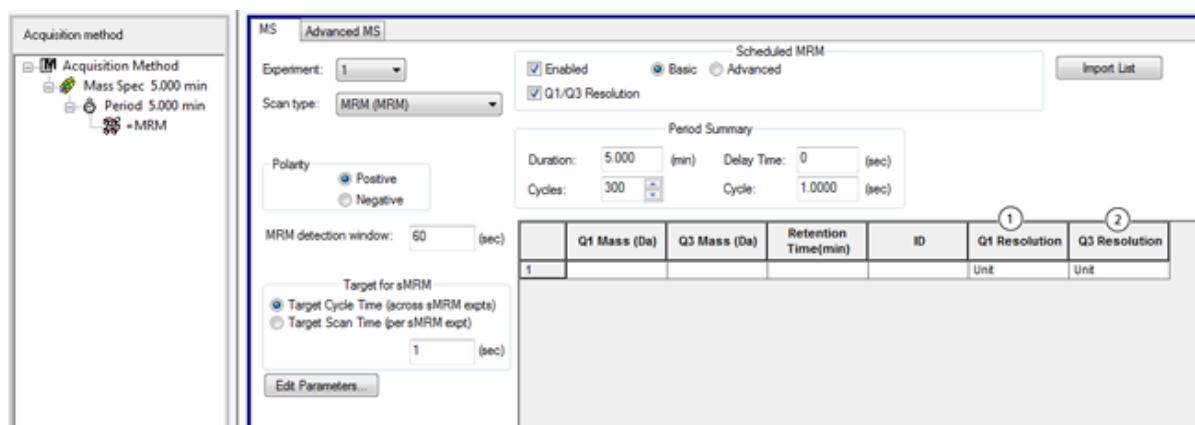
Element	Beskrivelse
1	Afkrydsningsfeltet Enabled i gruppen Scheduled MRM : Markér for at aktivere funktionen <i>Scheduled</i> MRM-algoritme.

Element	Beskrivelse
2	Afkrydsningsfeltet Q1/Q3 Resolution : Markér for at anvende forskellige Q1- og Q3-opløsningsindstillinger på hver overgang. Når denne indstilling er valgt, føjes kolonnen Q1 Resolution og kolonnen Q3 Resolution til tabellen over masseområder.
3	Import List -knap: Klik for at importere MRM-overgange, tid, ID og forbindelsesafhængige parametre fra en txt- eller csv-fil.
4	Retention Time (min) -kolonne: Indtast den forventede retentionstid i minutter for den tilsvarende MRM-overgang. Denne kolonne viser opholdstiden i msek. for MRM-metoder.
5	ID -kolonne: (Valgfrit) Indtast et forbindelses-id for den pågældende overgang.
6	Feltet MRM detection window (sec) : Indtast den tid til detektion, der omgiver retentionstiden for hver overgang.
7	Indstillingen Target Cycle Time (across sMRM experiments) : Vælg for at angive og bruge målcyklustiden for alle <i>Scheduled</i> MRM-algoritmeeksperimenter i hele perioden eller metoden. Hvis indstillingen vælges eller slettes i et <i>Scheduled</i> MRM-algoritmeeksperiment, anvendes den samme indstilling automatisk i det andet <i>Scheduled</i> MRM-algoritmeeksperiment, hvis der er to <i>Scheduled</i> MRM-algoritmeeksperimenter i metoden. Højst to <i>Scheduled</i> MRM-algoritmeeksperimenter er tilladt i en periode eller metode. Målcyklustiden kan justeres, så en bestemt cyklustid kan målrettes i alle cyklusser for at få mere jævnt fordelte datapunkter på tværs af en top uanset polaritetsskift mellem de overensstemmende overgange inden for en cyklus. Target Cycle Time er den forudindstillede indstilling.
8	Feltet Target Scan Time (per sMRM experiment) (sec) : Vælg for at angive den måltid, der skal bruges til eksperimentet i hver cyklus. Softwaren vil holde den samlede scanningstid for dette forsøg tæt på måltiden i hver cyklus, medmindre den minimale eller maksimale opholdstid anvendes på nogle af de samtidige overgange. Målscanningstiden kan justeres, så der kan målrettes et bestemt antal punkter på tværs af LC-toppene.

- Hvis du vil bruge forskellige indstillinger for Q1- og Q3-opløsning for hver overgang, skal du klikke på **Q1/Q3 Resolution** i gruppen *Scheduled* MRM.

Der føjes to kolonner til tabellen over masseområder: Q1-opløsning og Q3-opløsning.

Figur 4: Q1/Q3-opløsningsmulighed valgt for systemerne SCIEX 4500MD og Citrine



Element	Beskrivelse
1	Q1 Resolution -kolonne: Den tilstand, hvor Q1-scanningen adskiller tæt adskilte komponenter. Dette er den første kvadrupels opløsningsevne. Valgmulighederne omfatter Høj, Enhed, Lav eller Åben.
2	Q3 Resolution -kolonne: Den tilstand, hvor Q3-scanningen adskiller tæt adskilte komponenter. Dette er den tredje kvadrupels opløsningsevne. Valgmulighederne er Høj, Enhed, Lav eller Åben.

Indstillingen **Resolution Q1** og **Resolution Q3** på fanen Advanced MS er ikke tilgængelige.

Hvis afkrydsningsfeltet **Q1/Q3 Resolution** er markeret i Tune Method Editor, er indstillingerne **Q1 Resolution** og **Q3 Resolution** på fanen Resolution ikke tilgængelige.

- Udfyld masseområdestabellen for hver MRM-overgang af interesse ved hjælp af en af følgende metoder:

- Indtast MRM-overgange manuelt: Indtast Q1-masse, Q3-masse, retentionstid og forbindelses-id for hver overgang af interesse. Vælg værdier i kolonnerne **Q3 Resolution** og **Q1 Resolution** for hver overgang. Højreklik for at tilføje forbindelsesafhængige parametre efter behov. Der kan højst føjes fire sammensætningsafhængige parametre til masseområdestabellen.
- Import af MRM-overgange: Klik på **Import List**, og vælg enten en fil af typen kommasepareret værdi (.csv) eller tabulatorsepareret værdi (.txt), som indeholder MRM-overgangsoplysningerne, i dialogboksen Open. Når du har valgt filen, skal du klikke på **Open**. Filens indhold vises i masseområdestabellen. Der findes flere oplysninger om oprettelse af filer i afsnittet: [Oprettelse af en csv- eller txt-fil](#).
- Kopiering og indsættelse af MRM-overgange: Vælg de celler, der indeholder de ønskede oplysninger fra en .csv- eller .txt-fil, og tryk derefter på **Ctrl+C**. Når du indsætter linjer med oplysninger, skal du markere den første **Q1 Mass (Da)**-celle i masseområdestabellen og derefter trykke på **Ctrl+V**.

Bemærk: Før du importerer eller kopierer og indsætter, skal du sørge for, at datakolonnerne i .csv- eller .txt-filen matcher dem i masseområdestabellen i softwaren. Antallet af kolonner og kolonnerækkefølge i kildefilen og måltabellen skal være det samme. Tilføj, fjern eller omorganisér kolonnerne i kildefilen efter behov. Hvis du vil føje en kolonne til masseområdestabellen, skal du højreklikke i masseområdestabellen og derefter vælge en forbindelsesafhængig parameter. For sammensætningsafhængige parametre skal værdierne ligge inden for de tilladte områder for den valgte polaritet.

5. I feltet **MRM detection window (sec)** skal du indtaste det tidsrum til detektion, som omfatter retentionstiden for hver overgang. Dette vindue skal afspejle den forventede bredde af den kromatografiske top og variabiliteten i analyttens kromatografiske retentionstid, så hele MRM-toppen altid er i vinduet.

Brug LC-kromatografien som vejledning til at vælge de bedste parametre for *Scheduled* MRM-algoritme. Bestem bredden af en typisk top ved grunddelen, og find derefter de anbefalede indstillinger i følgende tabel. Sørg for at overveje stabiliteten af retentionstiden, når du definerer MRM-detektionsperioden.

Tabel 1: Anbefalede indstillinger for *Scheduled* MRM-algoritmeparametre

Topbredde ved base	MRM-detektionsvindue	Målscanningstid eller målcyklostid
30 sekunder	90 sekunder	2 sekunder
15 sekunder	60 sekunder	1 sekund
10 sekunder	30 sekunder	0,5 sekunder

Antallet af analytter pr. cyklus, der overvåges, justeres i forhold til retentionstidsvinduet for analytterne for *Scheduled* MRM-algoritmen. Dvaletiden, der bruges til hver analyt og dens signal-til-støj-forhold kan maksimeres ved at bruge et mindre, men rimeligt, retentionstidsvindue, der gør det muligt at registrere toppen af interesse. En værdi på 60 sekunder er et godt udgangspunkt. Denne værdi er tilstrækkelig til kromatografi, der giver en topbredde på 15 sekunder og et potentiel retentionstidsskift på 20 sekunder både til venstre og til højre for toppen.

Hvis den forventede retentionstid f.eks. er 4,5 minutter, indstiller indtastningen af 60 sekunder et detektionsvindue fra 4 minutter til 5 minutter.

Bemærk: Hvis **Retention Time** er indstillet til 0, vil softwaren overvåge overgangen i hele proceduretiden.

6. Gør en af følgende efter behov:
 - Hvis det er nødvendigt, skal du lade indstillingen **Target Cycle Time (across sMRM expts)** være valgt og derefter indtaste en målcyklostid i sekunder, som vist i følgende figur. Hvis indstillingen **Target Cycle Time** er valgt, forsøger softwaren at anvende den samme cyklostid på hver cyklus. Den faktiske cyklostid, der anvendes for hver cyklus, varierer dog primært afhængigt af summen af opholdstiderne for alle overgangene i cyklussen.

Softwaren bruger målcyklustiden, polaritetsskifttider, hvis der er nogen, og alle pausetider til at beregne opholdstiden for hver overgang i en cyklus. Den tildelte opholdstid for en overgang afhænger af den beregnede opholdstid for hver cyklus i detektionsvinduet, om den beregnede opholdstid er mindre end den minimale opholdstid eller større end den maksimale opholdstid for nogle cyklusser, og hvor meget den overlapper med hver af de andre overgange i detektionsvinduet. Hvis den beregnede opholdstid er mindre end den minimale opholdstid på grund af høj samtidighed eller større end den maksimale opholdstid på grund af lav overensstemmelse, anvendes den minimale opholdstid eller den maksimale opholdstid for den pågældende overgang i den pågældende cyklus til det næste trin i beregningen. Gennemsnittet af opholdstiden for alle cyklusser for denne overgang er den endelige opholdstid, der er tildelt for denne overgang.

Figur 5: Målcyklustid (på tværs af sMRM-ekspts)

MS Advanced MS

Experiment: 1

Scan type: MRM (MRM)

Polarity: ☒ Positive ☐ Negative

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

Import List

Period Summary

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

Cycles: 300 Cycle: 1.0000 (sec)

☐ Scheduled Ionization

Start Time: 0 (min) Stop Time: 0 (min)

	Q1 Mass (Da)	Q3 Mass (Da)	Retention Time (min)	ID	Q1 Resolution	Q3 Resolution
1					Unit	Unit

- Klik om nødvendigt på **Target Scan Time (per sMRM expt)**, og indtast derefter den tilsigtede varighed af eksperimentet for hver cyklus i sekunder, som vist i følgende figur. Denne parameter er med til at definere antallet af punkter på tværs af den kromatografiske top.

Figur 6: Målscanningstid (pr. sMRM-eksper)

MS Advanced MS

Experiment: 1

Scan type: MRM (MRM)

Polarity: ☒ Positive ☐ Negative

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

Import List

Period Summary

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

Cycles: 300 Cycle: 1.0000 (sec)

Scheduled Ionization

Start Time Stop Time

0 (min) 0 (min)

	Q1 Mass (Da)	Q3 Mass (Da)	Retention Time (min)	ID	Q1 Resolution	Q3 Resolution
1					Unit	Unit

Brug bredden af de kromatografiske toppe som en vejledning til at hjælpe med at indstille denne værdi. En værdi på 1 sekund er et godt udgangspunkt for kromatografi, der giver en topbredde på 15 sekunder. I dette tilfælde vil en målscanningstid på 1 sekund generere ca. 15 datapunkter over en 15 sekunders topværdi, når der ikke anvendes nogen minimums- eller maksimumstid på nogen af de samtidige overgange inden for dette detektionsvindue.

- Angiv de krævede værdier i de resterende felter af dataopsamlingsmetoden.
- Gem dataopsamlingsmetoden i det projekt, hvorfra dataopsamlingen skal køres.

Bemærk: *Scheduled* MRM-algoritme-felterne er også tilgængelige i Tune Method Editor.

Oprettelse af en dataopsamlingsmetode ved hjælp af to *Scheduled* MRM-algoritmeeksperimenter

Brug denne procedure til at oprette en metode, der understøtter polaritetsskift.

- Opret en *Scheduled* MRM-algoritme til dataopsamlingsmetoden ved hjælp af trinnene i afsnittet: [Oprettelse af en *Scheduled* MRM-algoritme til dataopsamlingsmetoden](#).
- I ruden Acquisition method skal du højreklikke på **Period** og derefter klikke på **Add experiment**.
Der oprettes et andet MRM-scanningeksperiment.
- På fanen MS skal du vælge én af følgende muligheder på grundlag af det massespektrometer, der anvendes:
 - På systemerne SCIEX 4500MD og Citrine-systemerne skal du markere afkrydsningsfeltet **Enabled** i gruppen **Scheduled MRM**. Hvis du vil oprette en almindelig *Scheduled* MRM-algoritme til dataopsamlingsmetode, skal du sørge for, at indstillingen **Basic** er valgt i gruppen **Scheduled MRM**. Hvis du vil oprette metoden,

skal du se funktionerne i figuren: [Figur 2](#). Hvis du vil oprette en *Scheduled* MRM Pro-algoritmemetode, skal du sørge for, at indstillingen **Advanced** er valgt. Se afsnittet , hvis du vil oprette denne metode.

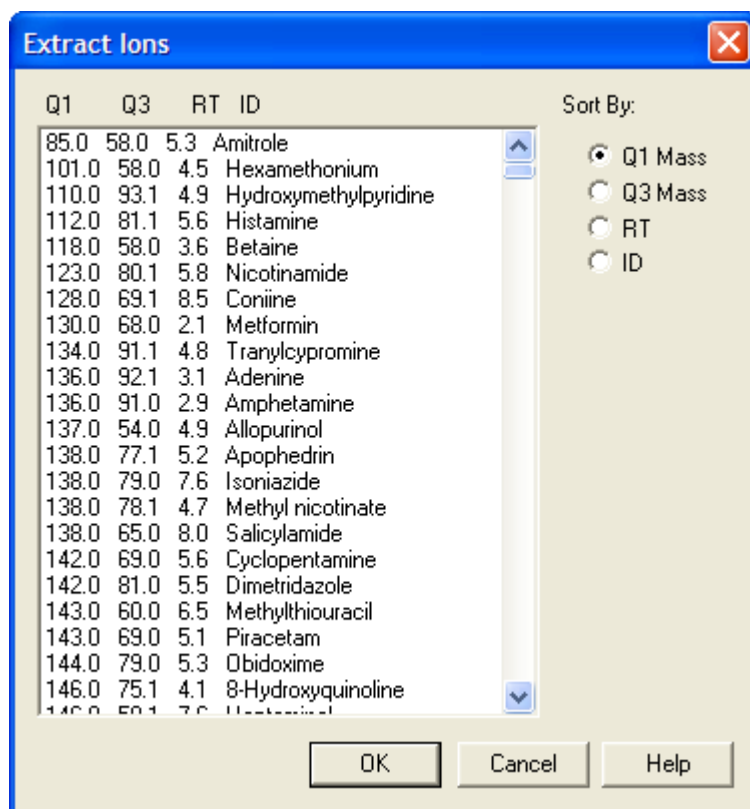
- For SCIEX 3200MD-systemerne skal du markere afkrydsningsfeltet **Enabled** i gruppen **Scheduled MRM**. Hvis du vil oprette metoden, skal du se funktionerne i figuren: [Figur 3](#).
4. Gennemfør dataopsamlingsmetoden, som beskrevet i afsnittet: [Oprettelse af en Scheduled MRM-algoritme til dataopsamlingsmetoden](#).
 5. Gem dataopsamlingsmetoden i det projekt, hvorfra dataopsamlingen skal køres.

Bemærk: På systemerne SCIEX 3200MD og SCIEX 4500MD vil standardbundfældningstiden blive anvendt, når der er et polaritetsskift i den pågældende cyklus. På Citrine-serien af instrumenter vil brugerkonfigureret bundfældningstid blive anvendt, når der er en polaritetskontakt i den pågældende cyklus.

Generering af et ekstraheret ionkromatogram

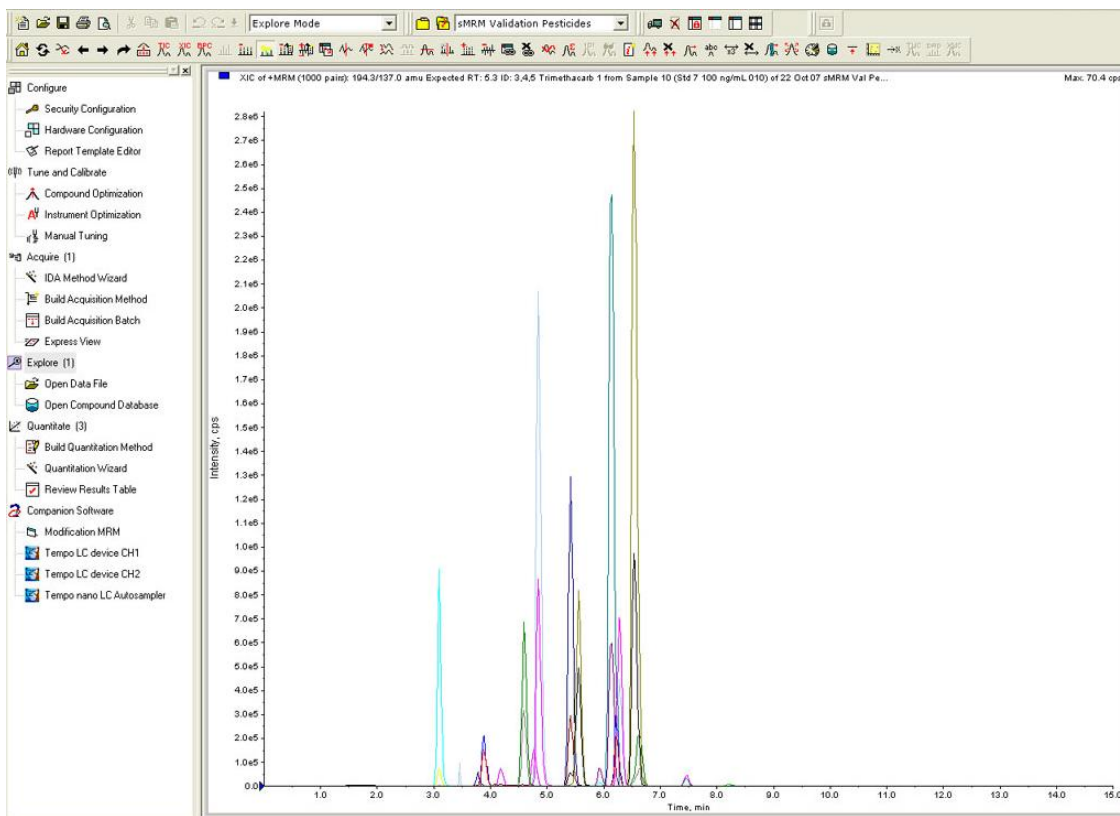
Bemærk: Hvis der åbnes en *Scheduled* MRM-algoritme wiff-fil, der indeholder mere end 2500 overgange, vises der et TIC i stedet for et XIC.

1. Dobbeltklik på **Open Data File** på navigationslinjen under **Explore**, og vælg derefter datafilen og prøven, når der er genereret *Scheduled* MRM-algoritmedata ved hjælp af den dataopsamlingsmetode, der blev oprettet i den foregående procedure. MRM- og *Scheduled* MRM-algoritmedata er forudindstillet til at blive vist som en overlejret XIC.
2. Klik på **Explore > Extract Ions > Use Dialog**. Dialogboksen Extract Ions åbnes og viser hver MRM-overgang i den valgte datafil sammen med den tilsvarende forventede retentionstid og forbindelses-id'et, hvis det er indtastet.

Figur 7: Dialogboksen Extract Ions


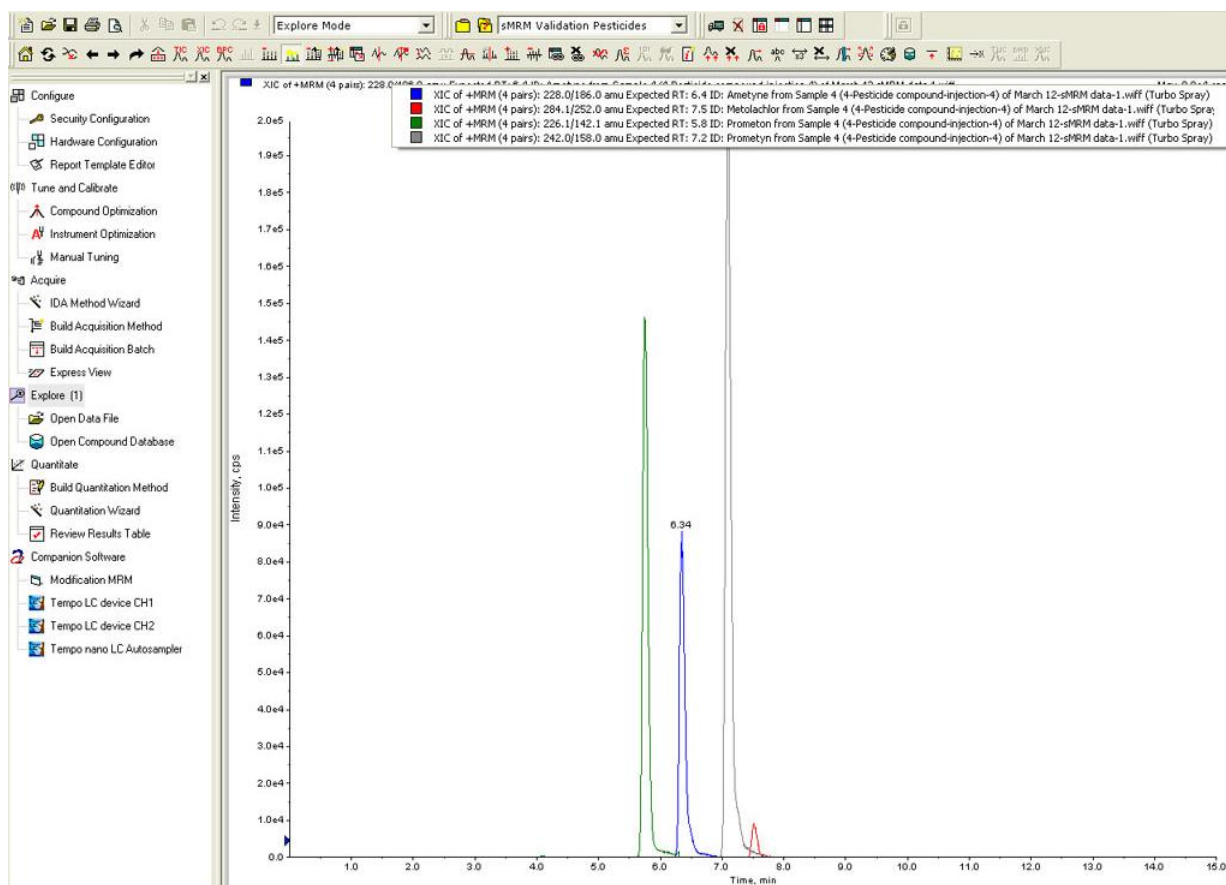
3. Vælg at sortere listen efter Q1 Mass, Q3 Mass, RT (retentionstid) eller compound ID.
4. Vælg én eller flere overgange.
5. Klik på **OK**.
XIC vises under kromatogrammet, og forbindelses-id'et for den første valgte overgang vises i titlen.

Figur 8: Eksempel på en overlejret XIC, der åbnes, når flere ioner ekstraheres



Visning af MRM-overgange

1. Generér et XIC.
2. Højreklik på XIC-titlen for at få vist de MRM-overgange, der er aktive i området. Vælg den relevante MRM-overgang for at få vist en etiket med retentionstiden i kromatogrammet.

Figur 9: Aktive MRM-overgange


3. Træk markøren langs X-aksen for at zoome ind på et bestemt tidsområde. XIC skaleres til den højeste top i de viste data.
4. Højreklik på XIC-titlen igen for at få vist de MRM-overgange, som er aktive i det specifikke tidsområde. Alle overgange over tærsklen og i det zoomede område vises. Titlen reduceres til antallet af overgange i det zoomede afsnit.

Oprettelse af kvantificeringsmetoder

Bemærk: I Analyst MD-softwaren skal Build Quantitation Method bruges til at oprette en kvantificeringsmetode for en datafil, der indeholder mere end 94 overgange. I Quantitation Wizard kan kun oprettes kvantificeringsmetoder til datafiler med 94 overgange eller mindre.

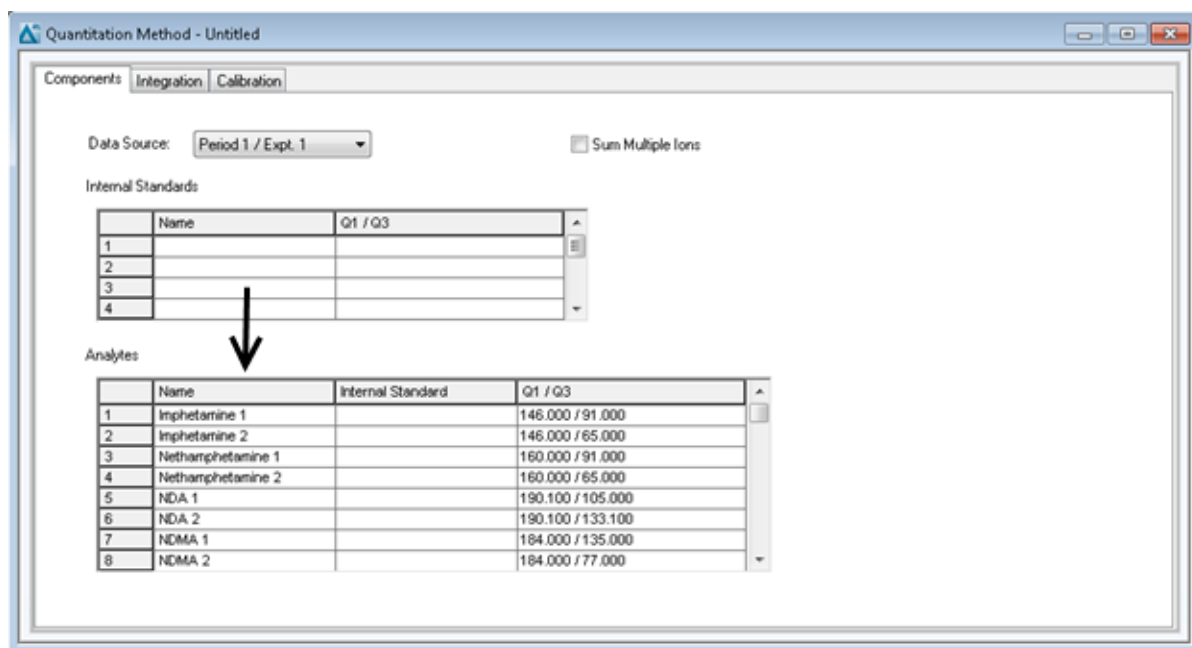
Inden du begynder, skal du sikre dig, at den anbefalede IntelliQuan-MQ III-algoritme anvendes. Der findes flere oplysninger om valg af algoritmer i dokumentet: *Hjælp*.

1. Dobbeltklik på **Build Quantitation Method** under **Quantitate** på linjen **Navigation**.

Bemærk: Kvantificeringsguiden kan bruges til at oprette en kvantificeringsmetode til analyse af data, der indeholder færre end 94 overgange.

2. Vælg den datafil og prøve, som netop blev opsamlet, og klik derefter på **OK**. Der vises en **Name**-kolonne i tabellen Analytes. Da overgangene blev valgt under dataopsamlingen, udfyldes denne kolonne med forbindelses-id'et fra dataopsamlingsmetoden.

Figur 10: Kvantificeringsmetode: Fanen Components



Bemærk: Hvis metoden omfatter flere eksperimenter, skal du gennemgå hvert eksperiment ved at vælge det på listen **Data Source** for at tillade, at analytterne i eksperimentet kan anvendes i kvantificeringsmetoden. Hvis der er mange analytter, kan det tage noget tid, før listen **Data Source** er fyldt op.

3. Angiv de påkrævede værdier i de resterende felter i kvantificeringsmetoden, og gem derefter kvantificeringsmetoden.
4. Brug kvantificeringsguiden til at oprette resultattabellen. Sørg for at vælge den kvantiseringsmetode, der lige blev oprettet.

Tip! Hvis datafilen indeholder et stort antal MRM-overgange, skal du bruge scriptet Create Quan Methods From Text Files og scriptet Create Text File from Quan Method til at oprette eller ændre en kvantificeringsmetode. Der findes flere oplysninger i dokumentet: *Brugervejledning til scripts*.

Gennemgang af resultattabellen

1. For at få vist resultater for en specifik overgang skal du højreklikke på Results Table, vælge **Analyte** og derefter vælge overgangen på listen med forbindelses-id'er.

Figur 11: Resultattabel: Valg af analyt

Formula:						
	Sample Name	Sample ID	S	Analyte Peak Name (counts)	Analyte Peak Height (cps)	Conc
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			

- Højreklik i Results Table, og klik derefter på **Table Settings > Edit** for at åbne dialogboksen Table Settings.
- Dobbeltklik på **Columns**, og vælg derefter **Analyte** på listen.
- Vælg afkrydsningsfeltet **Shown** ud for **Analyte Peak Name**.
- Klik på **OK**, og klik derefter på **Done**.
Kolonnen **Analyte Peak Name** føjes til Results Table, og forbindelses-id'et for hver overgang vises i denne kolonne.

Figur 12: Resultattabel: Kolonne med navne på analyttoppe

	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

- Højreklik i Results Table, og klik derefter på **Table Settings > Edit** for at få vist kolonnerne **Analyte Integration Quality** og **IS Integration Quality** i tabellen.
- Dobbeltklik på **Columns**, og vælg derefter **Analyte** på listen.
- Vælg afkrydsningsfeltet **Shown** ud for **Analyte Integration Quality**, og klik derefter på **OK**.
- Vælg **Internal Standard** på listen.
- Vælg afkrydsningsfeltet **Shown** ud for **IS Integration Quality**.
- Klik på **OK**, og klik derefter på **Done**.

De to kolonner føjes til Results Table. Integrationskvaliteten angiver, hvor godt toppen er integreret. Værdier tættere på 1 angiver godt integrerede toppe. Mindre værdier kan betyde, at toppen ikke er godt integreret, at der er en stor baggrund, eller at der kan være en anden top i området.

Disse kolonner letter topgennemgangen, idet brugeren lettere kan se toppene med lave indekxværdier for analytternes **Integration Quality** ved manuel gennemgang. Derudover kan brugere anmode om dataene for indekxværdier for analytternes **Integration Quality**, som er mindre end en værdi, der betragtes som acceptabel, for at få vist og manuelt gennemgå et undersæt af dataene.

Figur 13: Kolonner i resultattabel

	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	1.00	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	Beskrivelse
1	Kolonne med indeks for analytternes integrationskvalitet
2	Kolonne med indeks for IS-integrationskvalitet

Om *Scheduled* MRM Pro-algoritmen

Funktionen *Scheduled* MRM Pro-algoritmen er understøttet på SCIEX 4500MD- og Citrine-systemerne.

Scheduled MRM Pro-algoritmen tilføjer avanceret funktionalitet til *Scheduled* MRM-algoritmen. Den forbedrer holdbarheden af retentionstid i eksperimenter ved at tillade angivelse af dataopsamlingsvinduer for hver overgang i dataopsamlingsmetoden. Brugere kan justere individuelle vinduer for forbindelser, der har brede LC-toppe eller stor variation i deres retentionstider.

Deruover har *Scheduled* MRM Pro-algoritmen følgende funktionalitet:

- *Scheduled* MRM Pro-algoritmen understøtter også automatisk vinduesudvidelse under dataopsamling. Brugere har mulighed for at slå Dynamic Window Extension (DWE) til eller fra. Brugere kan også angive en anden udløsningstærskel og DWE-tærskel for hver enkelt overgang. En lav udløsningstærskel og en høj DWE-tærskel vil f.eks. have en større sandsynlighed for at udløse en sekundær overgang, men undgå unødvendig dynamisk udvidelse af vinduet. Når DWE er aktiveret, vil *Scheduled* MRM Pro-algoritmen automatisk udvide detektionsvinduet, indtil intensiteten falder til under tærsklen, hvis en forbindelse har skiftet til en senere retentionstid, og intensiteten ikke er faldet til under udvidelsestærsklen, når retentionstiden er gået. Overgangen overvåges i anden halvdel af det metodeangivne detektionsvindue. Detektionsvinduet har op til den dobbelte varighed af det angivne dataopsamlingsvindue efter udvidelsen. Denne funktion gør det muligt at bruge mindre vinduer, men sørger samtidigt for, at hver top registreres i sin helhed. Den øger også metodens robusthed til de fleste skift i retentionstid.

- Brugeren kan mærke flere overgange for en analyt som enten primær eller sekundær. Primære overgange overvåges i hele dataopsamlingsvinduet, mens sekundære overgange kun overvåges, når de tilknyttede primære overgange når deres udløsningstærskler. Dette minimerer cyklustiden ved at reducere antallet af overvågede MRM-overgange. Dataopsamlingstiden er fokuseret på indsamling af data for de analytter, der er til stede i en prøve, og ikke for analytter, der ikke er til stede i prøven.
- Algoritmen understøtter også brugen af opholdsvægt. Opholdsvægt gør det muligt at udtrykke den nødvendige opholdstid relativt. Meget hyppige forbindelser kan tildeles en lav opholdsvægt, mens mindre hyppige forbindelser kan tildeles en høj opholdsvægt. Under kørslen tildeles den tilgængelige opholdstid på grundlag af denne vægt.
- Algoritmen understøtter Dynamic Background Subtraction (DBS) til udløsning af sekundære overgange. Indstillingen DBS er kun tilgængelig for ikke-IDA-metoder og eksperimenter, som benytter *Scheduled* MRM-algoritmen. For disse metoder eller eksperimenter anvendes den på de primære overgange til udløsning af sekundære overgange i det pågældende eksperiment, når DBS er aktiveret.

For IDA-metoder, som benytter *Scheduled* MRM-algoritmen til undersøgelsesscanninger, anvendes den på de primære overgange for at udlåse både sekundære overgange og afhængige scanninger, hvis DBS er aktiveret i IDA-kriterierne.

Når både DWE og DBS er aktiveret for *Scheduled* MRM-algoritmeeksperimentet, afhænger DWE-udløsningen af ikke-behandlede data uden DBS i de primære overgange.

Når DBS er aktiveret for et eksperiment, som benytter *Scheduled* MRM-algoritmen, vil de sekundære overgange – når de er udløst – fortsætte med at indhente, indtil deres primære overgange stopper med at indhente.

Effekt af *Scheduled* MRM Pro-algoritme på IDA

Hvis der udføres en informationsafhængig dataopsamling (IDA)-undersøgelsesscanning ved hjælp af *Scheduled* MRM Pro-algoritmen, udløses der en afhængig scanning i IDA-metoden kun, når intensiteterne af alle MRM-overgange i en gruppe ligger over deres udløsningstærskelværdier. Dette forbedrer cyklustiden ved at eliminere falske udløser af afhængige scanninger.

Oprettelse af en IDA-dataopsamlingsmetode for *Scheduled* MRM Pro-algoritmen

1. Opret en *Scheduled* MRM Pro-algoritme ved hjælp af proceduren i afsnittet: .
2. Hvis det er nødvendigt at tilføje et eksperiment af ER-scanningstypen, skal du gøre det, før du tilføjer IDA-kriterierne.
3. Højreklik på ikonet **Period**, og klik derefter på **Add IDA Criteria Level**.
4. Angiv parametrene for IDA-kriterier. Se dokumentet: *Vejledning i oplysningsafhængig dataopsamling*.
5. Højreklik på ikonet **Period**, og klik derefter på **Add experiment**.

6. Vælg en afhængig scanningstype på fanen MS på listen **Scan type**. I dette eksempel skal du vælge **Product Ion (MS2)** eller **Enhanced Product Ion (EPI)**.

Bemærk: **Product Of** skal være 30 Da for alle afhængige scanningstyper.

7. Kopiér eller tilføj om nødvendigt flere afhængige eksperimenter.
Det afhænger af IDA-kriterierne, fra X til Y mest intense ioner.
8. Angiv eksperimentparametrene.
9. Gem dataopsamlingsmetoden i projektet fra det punkt, hvor dataopsamlingen skal køres.

Bemærk: Under dataopsamling med en IDA *Scheduled* MRM Pro-algoritmemetode anvendes udløsningstærsklen for hver MRM-overgang i metoden til at udløse afhængige scanninger i stedet for IDA-tærsklen.


Bemærk: Optimering af en *Scheduled* MRM-algoritmemetode for tildelingen af opholdstid, samtidighed og forventet cyklustid kræver, at du installerer og bruger sMRM Calculator-scriptet. Se følgende dokument for at få flere oplysninger: *Brugervejledning til scripts*.

Visning af parametre for *Scheduled* MRM Pro-algoritmen i File Info

Når dataopsamlingen for en prøve er fuldført, viser filoplysningerne for datafilen, der er indsamlet med *Scheduled* MRM Pro-algoritmemetoden, alle brugerdefinerede parametre for hver overgang. Disse parametre omfatter følgende:

- **MRM** (planlagt eller ej)
- **Q1**
- **Q3**
- **Retention Time**
- **ID**
- **Group**
- **MRM Window (sec)**
- **Primary/Secondary**
- **Trigger Threshold**
- **Extension Threshold** (hvis afkrydsningsfeltet **Dynamic Window Extension** var markeret)
- **Dwell Weight**
- **Q1 Resolution**
- **Q3 Resolution** (hvis afkrydsningsfeltet **Q1/Q3 Resolution** var markeret)

Parametrene **Dynamic Background Subtraction**, **Dynamic Window Extension**, **Dwell Time**, **Target Scan Time** eller **Target Cycle Time** vises også.

1. Dobbeltklik på **Open Data File** under **Explore** på linjen **Navigation**. Dialogboksen Select Sample åbnes.
2. Vælg wiff-filen i ruden Data Files.
3. Vælg prøven i ruden Samples.
4. Klik på **OK**.
Dataene, som er hentet fra prøven, åbnes.
5. Klik på **Show File Info**  på værktøjslinjen for at få vist filoplysningerne. Ruden File Information åbnes under grafen.
6. Udvid den ønskede periode i venstre rude af ruden File Information.
7. Klik på linket for det ønskede periodeeksperiment.
Værdierne for *Scheduled* MRM Pro-algoritmeparametrene for hver overgang registreres under det valgte Period Experiment-afsnit i højre rude.

Figur 14: *Scheduled* MRM Pro-algoritmeparametre i File Info

File Info		Period 1:	
File Info		Scans in Period: 120	
Log Info		Min. Dwell Time: 3 ms	
Acquisition Info		Max. Dwell Time: 250 ms	
Quant. Info		Relative Start Time: 0.00 msec	
Period 1 Experiment 1:		Experiments in Period: 1	
Parameter Table		Use target Cycle Time: No	
Resolution tables		Target Cycle Time: N/A	
Calibration tables			
Instrument Parameters			
Keyword Text			
		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)
		609.200	195.000
		Time (min)	sMRM Dwell (msec)
		1.00	250.000
		Param	Start
		Stop	ID
		Window (sec)	Dwell Weight
		0.5	1.0
		Primary / Secondary	Group
		1	A
		Trigger Threshold	Q1 Resolution
		1	High
		Extension Threshold	Q3 Resolution
		10000000	Unit

Oprettelse af en dataopsamlingsmetode for *Scheduled* MRM Basic- eller Pro-algoritmen med planlagt ionisering

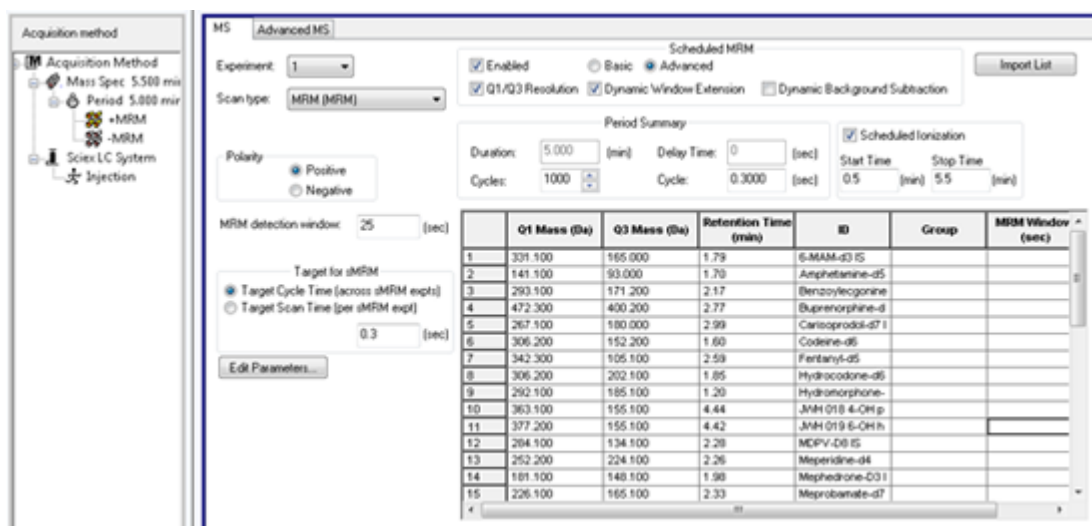
1. Oprettelse af en dataopsamlingsmetode for *Scheduled* MRM Basic- eller Pro-algoritmen.
2. Vælg et af eksperimenterne i metoden, og markér derefter afkrydsningsfeltet **Scheduled Ionization**.
3. Indtast passende **Start Time** og **Stop Time** i gruppen **Scheduled Ionization**. Sørg for, at toppene af interesse elueres mellem **Start Time** og **Stop Time**. Hvis **Dynamic Window Extension** også vælges, skal du sørge for, at **Stop Time** ligger efter den

seneste retentionstid i massetabellen plus halvanden af detektionsvinduet for denne overgang. Sørg også for, at dataopsamlingsmetoden **Synchronization Mode** og LC-metoden er angivet som de samme, når **Scheduled Ionization** ikke anvendes.

Bemærk: **Scheduled Ionization** er kun tilgængelig i dataopsamlingsmetoder med en enkelt periode.

I følgende figur ses, at **LC Synchronization Mode** anvendes, og at LC-metoden er 7 minutter lang. Alle relevante toppe elueres efter 0,5 minutter og inden 5,0 minutter. Da det sidste eluerede topindsamlingsvindue kan udvides med et fuldt detektionsvindue, bruges der 5,5 minutter til **Stop Time**. Når **Scheduled Ionization** anvendes, anvendes der en **IonSpray**-spænding på 0 før **Start Time** og efter **Stop Time**. **IonSpray**-spændingen, der angives i MS-metoden, anvendes kun mellem **Start Time** og **Stop Time**. Funktionen **Scheduled Ionization** kan reducere risikoen for instrumentkontaminering og dermed reducere massespektrometerets nedetid. Se følgende dokument for at få flere oplysninger om **Scheduled Ionization**: *Avanceret brugervejledning*.

Figur 15: *Scheduled* MRM Pro-algoritme med planlagt ionisering



- Gem dataopsamlingsmetoden.

Kontakt os

Kundeuddannelse

- I Nordamerika: NA.CustomerTraining@sciex.com
- I Europa: Europe.CustomerTraining@sciex.com
- Uden for EU og Nordamerika kan du besøge sciex.com/education for at få kontaktoplysninger.

Online-læringscenter

- [SCIEX Now Learning Hub](#)

SCIEX

SCIEX og dets repræsentanter har et personale af fuldt uddannede service- og tekniske specialister, der er placeret over hele verden. De kan besvare spørgsmål om systemet eller eventuelle tekniske problemer, der måtte opstå. Besøg SCIEX hjemmeside på sciex.com eller kontakt os på en af følgende måder for at få yderligere oplysninger:

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

Cybersikkerhed

Besøg [SCIEXsciex.com/productsecurity](http://sciex.com/productsecurity)-produkter.

Dokumentation

Denne version af dokumentet overgår alle tidligere versioner af dette dokument.

Hvis du vil se dette dokument elektronisk, er Adobe Acrobat Reader påkrævet. Gå til <https://get.adobe.com/reader> for at downloade den seneste version.

Se udgivelsesbemærkninger eller software installationsvejledning, der følger med softwaren, for at finde software produktdokumentation.

For at finde hardwareproduktdokumentation henvises der til *kundereference*-DVD'en, der følger med systemet eller komponenten.

Bemærk: Kontakt sciex.com/contact-us for at anmode om en gratis, trykt version af dette dokument.
