

---

# Software Molecule Profiler

Guida per l'utente del software



---

Questo documento viene fornito ai clienti che hanno acquistato apparecchiature SCIEX come guida all'utilizzo e al funzionamento delle stesse. Questo documento è protetto da copyright e qualsiasi riproduzione, parziale o totale, dei suoi contenuti è severamente vietata, a meno che SCIEX non abbia autorizzato per iscritto diversamente.

Il software menzionato in questo documento viene fornito con un contratto di licenza. La copia, le modifiche e la distribuzione del software con qualsiasi mezzo sono vietate dalla legge, salvo diversa indicazione contenuta nel contratto di licenza. Inoltre, il contratto di licenza può vietare che il software venga disassemblato, sottoposto a reverse engineering o decompilato per qualsiasi scopo. Le garanzie sono indicate in questo documento.

Alcune parti di questo documento possono far riferimento a produttori terzi e/o a loro prodotti, che possono contenere parti i cui nomi siano registrati come marchi e/o utilizzati come marchi dei rispettivi proprietari. Tali riferimenti mirano unicamente a designare i prodotti di terzi forniti da SCIEX e incorporati nelle sue apparecchiature e non implicano alcun diritto e/o licenza circa l'utilizzo o il permesso concesso a terzi di utilizzare i nomi di tali produttori e/o dei loro prodotti come marchi.

Le garanzie di SCIEX sono limitate alle garanzie esplicite fornite al momento della vendita o della licenza dei propri prodotti e costituiscono le uniche ed esclusive dichiarazioni, garanzie e obbligazioni di SCIEX. SCIEX non rilascia altre garanzie di nessun tipo, né espresse né implicite, comprese, a titolo di esempio, garanzie di commerciabilità o di idoneità per un particolare scopo, derivanti da leggi o altri atti normativi o dovute a pratiche e usi commerciali, tutte espressamente escluse, né si assume alcuna responsabilità o passività potenziale, compresi danni indiretti o conseguenti, per qualsiasi utilizzo da parte dell'acquirente o per eventuali circostanze avverse conseguenti.

Solo per scopi di ricerca. Non usare in procedure diagnostiche.

I marchi e/o i marchi registrati menzionati nel presente documento, inclusi i loghi associati, sono di proprietà di AB Sciex Pte. Ltd., o dei rispettivi proprietari, negli Stati Uniti e/o in altri Paesi (vedere: [sciex.com/trademarks](http://sciex.com/trademarks)).

AB Sciex™ è utilizzato su licenza.

© 2021 DH Tech. Dev. Pte. Ltd.



AB Sciex Pte. Ltd.

B1k33, #04-06 Marsiling Industrial Estate Road 3

Woodlands Central Industrial Estate, Singapore 739256

# Sommario

---

<b>Capitolo 1: Per iniziare</b> .....	<b>7</b>
Come vengono trovate le molecole potenziali e i loro derivati .....	8
Apertura dell'area di lavoro Molecole Profiler .....	8
Finestra di Molecole Profiler .....	9
Creazione di cartelle .....	12
<b>Capitolo 2: Custom Elements</b> .....	<b>13</b>
Aminoacidi personalizzati .....	13
Creazione di un aminoacido personalizzato .....	13
Modifica di un aminoacido personalizzato .....	14
Eliminazione di un aminoacido personalizzato .....	15
Modificazioni degli aminoacidi personalizzate .....	15
Creazione di una modificazione di aminoacido personalizzata .....	15
Modifica di una modificazione di aminoacido personalizzata .....	16
Eliminazione di una modificazione di aminoacido personalizzata .....	17
Creazione di residui oligonucleotidici o gruppi terminali personalizzati .....	17
Creazione di un residuo oligonucleotidico o di un gruppo terminale .....	19
Modifica di un residuo oligonucleotidico o di un gruppo terminale .....	20
Eliminazione di un residuo oligonucleotidico o di un gruppo terminale .....	20
Importazione di residui oligonucleotidici e di gruppi terminali personalizzati .....	20
Esportazione di residui oligonucleotidici e di gruppi terminali personalizzati .....	21
<b>Capitolo 3: Libreria composti</b> .....	<b>22</b>
Come vengono utilizzate strutture e sequenze .....	22
Aggiunta di una struttura .....	22
Aggiunta di una sequenza peptidica .....	23
Convenzioni di denominazione delle sequenze peptidiche .....	24
Aggiunta di una sequenza di oligonucleotidi .....	25
Convenzioni di denominazione delle sequenze oligonucleotidiche .....	26
Aggiunta di uno spettro MS/MS di riferimento da un file wiff .....	27
Aggiunta di uno spettro MS/MS di riferimento da un file txt .....	30
Aggiunta di informazioni alla libreria composti da una Results Table .....	30
<b>Capitolo 4: Set di biotrasformazioni</b> .....	<b>32</b>
Informazioni sulle biotrasformazioni .....	32
Creazione di un set di biotrasformazioni .....	32
Modifica di un set di biotrasformazioni .....	33
Eliminazione di un set di biotrasformazioni .....	34
<b>Capitolo 5: Creazione di metodi di elaborazione</b> .....	<b>35</b>

## Sommario

---

Parametri di elaborazione .....	35
Selezione del tipo di metodo .....	36
Selezione dei valori dei parametri .....	36
Selezione di un composto da una libreria .....	36
Informazioni sulle strategie di ricerca picchi .....	37
Parametri di elaborazione generici .....	41
Parametri di elaborazione specifici del composto .....	52
Modifica dell'arricchimento isotopico per le formule di peptidi e oligonucleotidi .....	57
<b>Capitolo 6: Ricerca di molecole potenziali .....</b>	<b>58</b>
Informazioni sull'area di lavoro Batch .....	58
Specifiche delle opzioni del lotto .....	60
Opzioni di elaborazione del lotto .....	61
Creazione di un lotto .....	62
Copiare e incollare una riga del lotto .....	63
Cancellazione di una riga del lotto .....	63
Apertura di un lotto .....	64
Importazione di un lotto .....	64
Salvataggio di un lotto .....	66
Invio di un lotto .....	66
<b>Capitolo 7: Visualizzazione dei risultati .....</b>	<b>68</b>
Informazioni sull'area di lavoro Results .....	68
Visualizzazione del solo spettro filtrato .....	74
Informazioni sui filtri dei risultati .....	75
Modifica dei risultati .....	77
Eliminazione di righe .....	77
Modifica del nome e della formula di un metabolita potenziale .....	77
Raggruppamento per picchi .....	78
Assegnazione di ID picco .....	79
Spettri MS/MS .....	79
<b>Capitolo 8: Caratterizzazione dei dati MS/MS .....</b>	<b>83</b>
Informazioni sulla vista Interpretation .....	83
Vista Small Molecule Interpretation .....	83
Vista Peptides Interpretation .....	86
Vista Oligonucleotides Interpretation .....	89
Vista ADC Interpretation .....	91
Interpretazione manuale .....	93
Flusso di lavoro delle molecole piccole .....	94
Flussi di lavoro dei peptidi .....	106
Flussi di lavoro degli oligonucleotidi .....	111
Flusso di lavoro degli ADC .....	116
Interpretazione automatica .....	126
Flusso di lavoro delle molecole piccole .....	126
Flussi di lavoro dei peptidi .....	126

---

<b>Capitolo 9: Correlazione dei risultati</b> .....	<b>129</b>
Preparazione della correlazione .....	129
Personalizzazione della correlazione .....	130
Miglioramento dell'allineamento dei picchi .....	130
Definizione dell'unione dei picchi .....	130
Informazioni sull'area di lavoro Correlation .....	131
Modifica del nome di un metabolita correlato .....	133
Confronto dei metaboliti correlati .....	133
Informazioni sui filtri di correlazione .....	134
<b>Capitolo 10: Report</b> .....	<b>135</b>
Creazione di un report nell'area di lavoro Results .....	136
Creazione di un report nell'area di lavoro Correlation .....	137
Copiare e incollare un grafico .....	138
Copiare e incollare la tabella Potential Metabolites .....	138
<b>Capitolo 11: Integrazione analogica</b> .....	<b>139</b>
Integrazione manuale dei dati analogici .....	139
Visualizzazione dei controlli .....	141
Esecuzione di una sottrazione della linea di base .....	141
Modifica dell'offset del tempo di ritenzione .....	141
Impostazione delle opzioni di integrazione analogica .....	141
Aggiornamento della tabella .....	142
Aggiornamento dei risultati e chiusura .....	143
<b>Capitolo 12: Risoluzione dei problemi</b> .....	<b>144</b>
Impossibile aprire un file della struttura .....	144
Modifica delle autorizzazioni utente .....	144
Nessun metabolita potenziale trovato .....	144
Troppi metaboliti potenziali trovati .....	145
Tempi di elaborazione prolungati .....	145
Visualizzazione della cartella ProgramData .....	145
Limitazioni e problemi noti .....	146
<b>Appendice A: Esempio di oligonucleotide personalizzato</b> .....	<b>147</b>
Creazione di altra terminazione .....	147
Creazione di residui interni come altri residui .....	149
Scrittura di una sequenza personalizzata .....	150
<b>Appendice B: Glossario</b> .....	<b>151</b>
Come vengono denominati i metaboliti dal software .....	151
IDA .....	151
ID picco .....	151
fattore di risposta relativo .....	151
spettro di riferimento .....	151

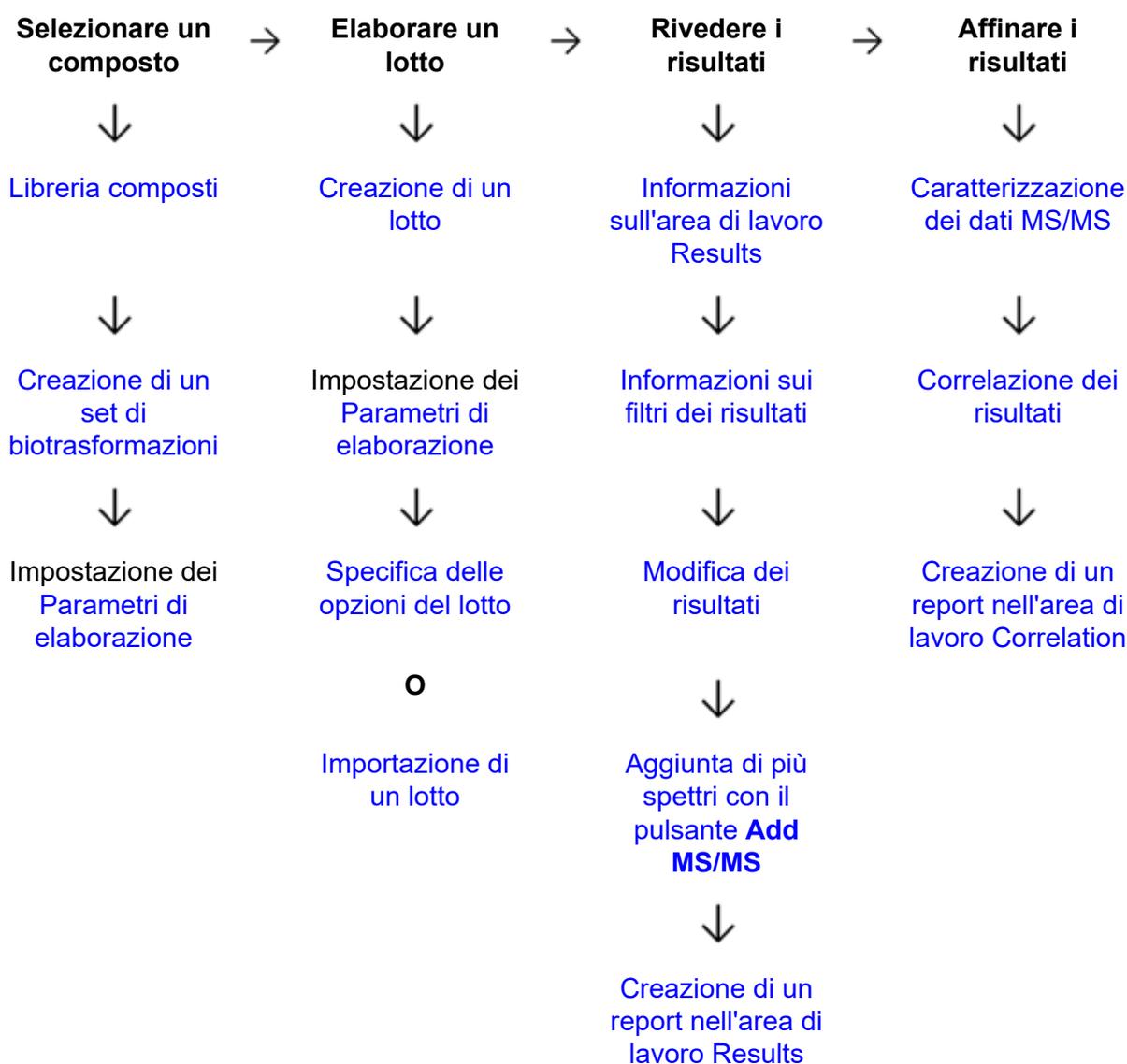
## Sommario

---

<b>Contatti</b> .....	<b>152</b>
Formazione dei clienti .....	152
Centro di istruzione online .....	152
Assistenza SCIEX .....	152
Sicurezza informatica .....	152
Documentazione .....	152

Utilizzare il software Molecule Profiler per cercare molecole e derivati e creare report su di essi, includendo impurità e metaboliti potenziali, nei dati acquisiti utilizzando il software Analyst TF e SCIEX OS.

Il software Molecule Profiler supporta l'identificazione di molecole piccole, peptidi, farmaci anticorpo-coniugati e oligonucleotidi inferiori a 10 kDa.



## Come vengono trovate le molecole potenziali e i loro derivati

Il software dispone una serie di strategie di ricerca picchi, o algoritmi, che utilizza per trovare le molecole potenziali in un campione di interesse. Fare riferimento alla sezione: [Informazioni sulle strategie di ricerca picchi](#).

Se un picco trovato è una molecola prevista, il software assegna un nome specifico derivato dal precursore o da una combinazione di una o più trasformazioni. In base al flusso di lavoro, le trasformazioni possono includere un set di biotrasformazioni selezionato, metaboliti di scissione potenziali o scissioni idrolitiche potenziali, oppure frammenti di sequenze potenziali da un anticorpo.

Per l'analisi dei dati di molecole piccole, le trasformazioni includono un set di biotrasformazioni selezionato e metaboliti di scissione potenziali.

Per l'analisi dei dati di peptidi, le trasformazioni includono un set selezionato di biotrasformazioni e scissioni idrolitiche potenziali.

Per l'analisi dei dati di farmaci anticorpo-coniugati (ADC), le trasformazioni includono un set di biotrasformazioni selezionato, metaboliti di scissione potenziali e frammenti di sequenze potenziali da una proteina anticorpo digerita.

Per l'analisi degli oligonucleotidi, le trasformazioni includono una selezione di set di biotrasformazioni adatti sia per metaboliti che per impurità, nonché metaboliti di scissione potenziali e sequenze n-1 interne ed n+1 terminali.

Se viene utilizzata la strategia di ricerca picchi generica e il picco è una molecola imprevista, viene assegnato un nome generico Loss of o Gain of e l'addotto protonato alla carica dello ione molecolare.

Se con il campione sono selezionati file di controllo, il software esegue un confronto tra il campione e i dati di controllo. Se con il campione sono anche selezionati file analogici, il software esegue un confronto tra i dati MS e i dati analogici.

Gli utenti possono modificare i parametri che controllano ogni algoritmo. Fare riferimento alla sezione: [Selezione dei valori dei parametri](#).

## Apertura dell'area di lavoro Molecole Profiler

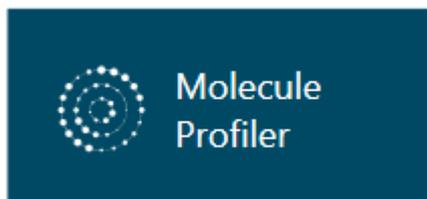
È necessario che sia installato il software SCIEX OS versione 2.1.5 o successiva e che sia attivata una licenza valida per il software Molecole Profiler.

1. Selezionare il software dal menu Start: **Start > SCIEX OS > SCIEX OS**.

Se il software è configurato per la modalità Integrated Mode, viene visualizzata la pagina Home.

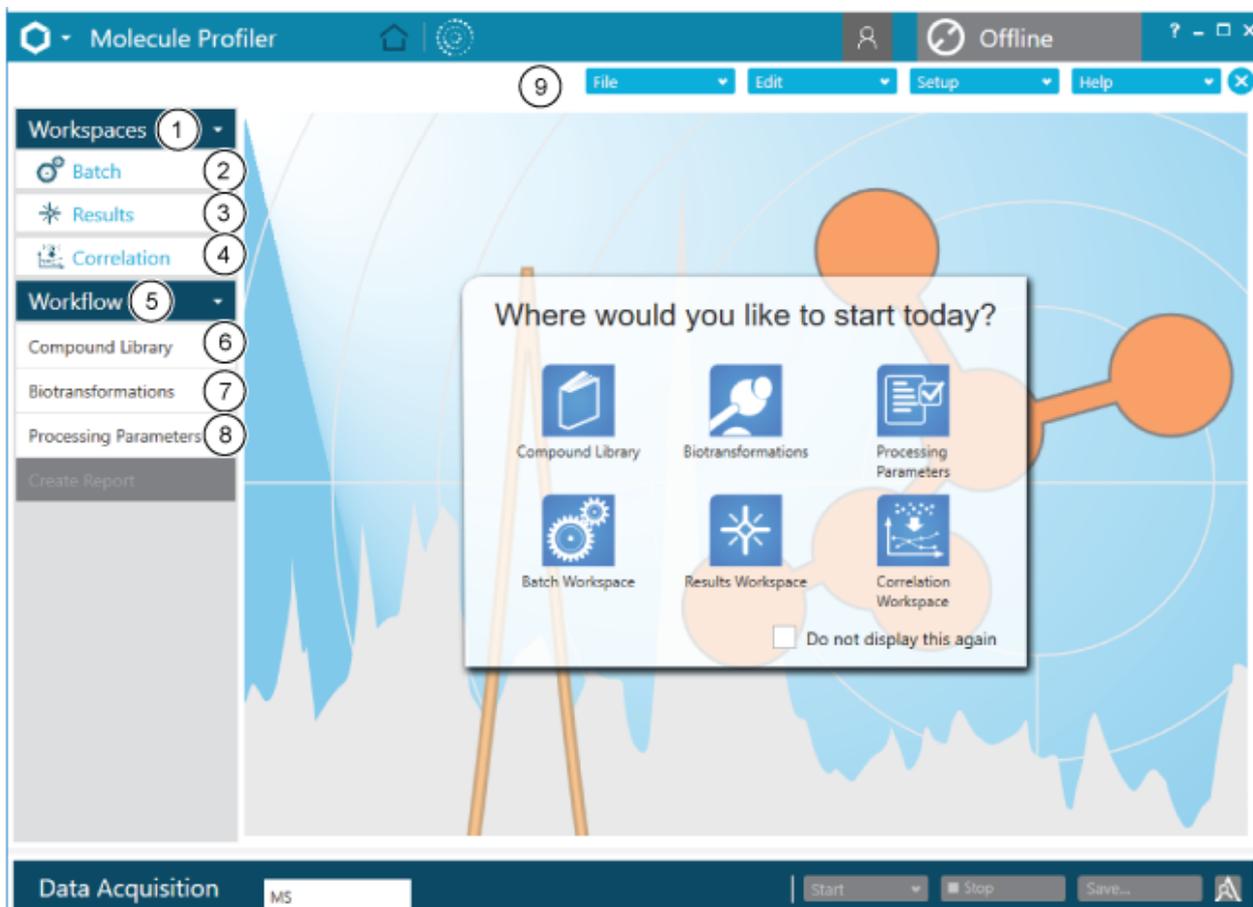
Se il software è configurato per la modalità Mixed Mode, viene visualizzata la pagina Logon. Continuare con i passaggi seguenti.

2. Se viene aperta la finestra di dialogo Logon, inserire il nome utente e la password di un utente autorizzato a utilizzare il software, quindi fare clic su **OK**.  
Si apre la pagina Home.
3. Fare clic sul riquadro Molecole Profiler.

**Figura 1-1: Riquadro Molecole Profiler**

Viene visualizzata l'area di lavoro Molecular Profiler.

## Finestra di Molecole Profiler

**Figura 1-2: Finestra di Molecole Profiler**

## Per iniziare

Elemento	Descrizione
1	Elenco delle aree di lavoro
2	Area di lavoro Batch. Utilizzare questa area di lavoro per cercare i metaboliti potenziali. Fare riferimento alla sezione: <a href="#">Informazioni sull'area di lavoro Batch</a> .
3	Area di lavoro Results. Utilizzare questa area di lavoro per visualizzare i metaboliti potenziali dopo l'elaborazione. Fare riferimento alla sezione: <a href="#">Informazioni sull'area di lavoro Results</a> .
4	Area di lavoro Correlation. Utilizzare quest'area di lavoro per confrontare i metaboliti trovati in file Results diversi. Fare riferimento alla sezione: <a href="#">Informazioni sull'area di lavoro Correlation</a> .
5	Elenco dei flussi di lavoro
6	Libreria composti. Creare e gestire una libreria dei composti. Fare riferimento alla sezione: <a href="#">Libreria composti</a> .
7	Biotrasformazioni. Creare e gestire elenchi delle trasformazioni comuni. Fare riferimento alla sezione: <a href="#">Set di biotrasformazioni</a> .
8	Parametri di elaborazione. Creare e gestire metodi di elaborazione che possono essere utilizzati nell'area di lavoro Batch. Fare riferimento alla sezione: <a href="#">Creazione di metodi di elaborazione</a> .
9	Barra dei menu. Fare riferimento alla tabella: <a href="#">Tabella 1-1</a> .

**Tabella 1-1: Comandi dei menu**

Elemento	Descrizione
<b>Menu File</b>	
<b>New</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>• <b>Batch</b>: crea un nuovo lotto. Fare riferimento alla sezione: <a href="#">Creazione di un lotto</a>.</li><li>• <b>Correlation</b>: crea una nuova correlazione. Fare riferimento alla sezione: <a href="#">Preparazione della correlazione</a>.</li></ul>
<b>Open</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>• <b>Batch</b>: apre un lotto</li><li>• <b>Correlation</b>: apre un file di correlazione.</li><li>• <b>Results</b>: apre un file dei risultati.</li></ul>
<b>Save Batch</b>	Salva il lotto nell'area di lavoro Batch.
<b>Save Batch As</b>	Salva il lotto nell'area di lavoro Batch con un nome diverso.
<b>Create Report</b>	Crea un report. Fare riferimento alla sezione: <a href="#">Report</a> .
<b>Recent reports</b>	Apre un report recente.
<b>Menu Edit</b>	

Tabella 1-1: Comandi dei menu (continua)

Elemento	Descrizione
<b>Edit Name</b>	Modifica il nome e la formula di un composto.
<b>Copy Selected Table</b>	Copia la tabella selezionata.
<b>Copy Selected Graph</b>	Copia il grafico selezionato.
<b>Copy Batch Row</b>	Copia la riga del lotto selezionata.
<b>Paste Batch Row</b>	Incolla la riga del lotto copiata nella posizione selezionata.
<b>Clear Batch Row</b>	Elimina il contenuto della riga del lotto selezionata.
<b>Delete Selected Row</b>	Elimina la riga selezionata dalla tabella Results. Il software ricalcola i risultati.
<b>Undo Delete</b>	Ripristina l'ultima riga eliminata. Il software ricalcola i risultati.
<b>Hide Unchecked Rows</b>	Nasconde le righe non selezionate.
<b>Show Hidden Rows</b>	Mostra le righe non selezionate.
<b>Custom Elements</b>	Apri la finestra di dialogo Custom Elements. Utilizzare questa finestra di dialogo per definire gli aminoacidi e i residui oligonucleotidici. Fare riferimento alla sezione: <a href="#">Custom Elements</a> .
<b>Menu Setup</b>	
<b>Compound Library</b>	Apri la libreria composti. Fare riferimento alla sezione: <a href="#">Libreria composti</a> .
<b>Biotrasformazioni</b>	Apri l'elenco dei set di biotrasformazioni. Fare riferimento alla sezione: <a href="#">Set di biotrasformazioni</a> .
<b>Processing Parameters</b>	Apri la finestra dei metodi di elaborazione. Fare riferimento alla sezione: <a href="#">Creazione di metodi di elaborazione</a> .
<b>Filters</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Results</b>: impostare i filtri per l'area di lavoro Results. Fare riferimento alla sezione: <a href="#">Informazioni sui filtri dei risultati</a>.</li> <li>• <b>Correlation</b>: impostare i filtri per l'area di lavoro Correlation. Fare riferimento alla sezione: <a href="#">Informazioni sui filtri di correlazione</a>.</li> <li>• <b>Interpretation</b>: impostare i filtri per l'area di lavoro Interpretation.</li> </ul>

Tabella 1-1: Comandi dei menu (continua)

Elemento	Descrizione
Create New Folder	Crea una cartella. Fare riferimento alla sezione: <a href="#">Creazione di cartelle</a> .

## Creazione di cartelle

Nelle cartelle vengono archiviati i file richiesti dal software per trovare molecole potenziali nel campione di interesse, nonché i file Results.

È anche possibile creare cartelle personalizzate per organizzare i risultati.

1. Fare clic su **Setup > Create New Folder**.  
Viene visualizzata la finestra di dialogo Create New Folder.
2. In **Name** immettere un nome per la cartella.  
Il campo **Location** mostra la posizione installata della directory Data (C:\ProgramData\SCIEX\Molecule Profiler\Data). Tutte le cartelle create vengono archiviate in questa directory.
3. Fare clic su **OK**.  
Quando si crea una cartella, vengono automaticamente create due sottocartelle: `Processing Parameters` e `Results`.

La finestra di dialogo Custom Elements contiene le seguenti schede:

- La scheda AA List contiene informazioni per un elenco di aminoacidi standard. Queste informazioni non possono essere modificate o eliminate. Gli utenti possono aggiungere aminoacidi a questo elenco e quindi modificare o eliminare gli elementi aggiunti, in base alle necessità. Gli aminoacidi vengono aggiunti automaticamente al fondo dell'elenco. Tuttavia, l'elenco può essere ordinando facendo clic su qualsiasi delle intestazioni di colonna.
- La scheda AA Modifications contiene le informazioni sullo spostamento di massa per le varie modificazioni che possono essere applicate ai gruppi terminali di peptidi e gruppi laterali di residui aminoacidici. Queste informazioni non possono essere modificate o eliminate. Gli utenti possono aggiungere modificazioni degli aminoacidi a questo elenco e quindi modificare o eliminare gli elementi aggiunti, in base alle necessità. Le modifiche degli aminoacidi vengono aggiunte automaticamente al fondo dell'elenco. Tuttavia, l'elenco può essere ordinando facendo clic su qualsiasi delle intestazioni di colonna.
- La scheda Oligo List contiene i residui oligonucleotidici e i gruppi terminali predefiniti. Queste informazioni non possono essere modificate o eliminate. Gli utenti possono aggiungere nuovi residui oligonucleotidici e gruppi terminali a questo elenco e quindi modificare o eliminare gli elementi aggiunti, in base alle necessità. I residui vengono aggiunti automaticamente al fondo dell'elenco. Tuttavia, l'elenco può essere ordinando facendo clic su qualsiasi delle intestazioni di colonna.

## Aminoacidi personalizzati

### Creazione di un aminoacido personalizzato

1. Fare clic su **Edit > Custom Elements**.  
Viene visualizzata la finestra di dialogo Custom Elements.
2. Assicurarsi che sia selezionata la scheda AA List.
3. Fare clic su **New**.  
Viene visualizzata la finestra di dialogo New Custom Amino Acid Residue.
4. Compilare i campi descritti nella tabella seguente, quindi fare clic su **OK**.

**Tabella 2-1: Campi della finestra di dialogo New Custom Amino Acid Residue**

Campo	Descrizione	Valore accettabile
<b>Name</b>	Nome dell'aminoacido	Alfanumerico
<b>Symbol</b>	Simbolo dell'aminoacido	<ul style="list-style-type: none"><li>• Alfanumerico</li><li>• La prima lettera deve essere maiuscola</li></ul>

**Tabella 2-1: Campi della finestra di dialogo New Custom Amino Acid Residue (continua)**

Campo	Descrizione	Valore accettabile
<b>Residue Formula</b>	Formula dell'aminoacido	Formula empirica che utilizza elementi periodici. È anche possibile utilizzare un isotopo arricchito come parte della formula. Ad esempio, <sup>13</sup> C, dove <sup>13</sup> C indica l'isotopo carbonio-13

L'aminoacido personalizzato viene aggiunto al fondo della tabella degli aminoacidi e mostra nome, simbolo e massa.

## Modifica di un aminoacido personalizzato

1. Fare clic su **Edit > Custom Elements**.  
Viene visualizzata la finestra di dialogo Custom Elements.
2. Assicurarsi che sia selezionata la scheda AA List.
3. Selezionare l'aminoacido da modificare.

---

**Nota:** solo gli aminoacidi personalizzati aggiunti dall'utente possono essere modificati. Gli aminoacidi distribuiti con il software non possono essere modificati.

---

4. Fare clic su **Edit**.  
Viene visualizzata la finestra di dialogo Edit Custom Amino Acid Residue.
5. Modificare i campi riportati nella tabella seguente.

**Tabella 2-2: Campi della finestra di dialogo Edit Custom Amino Acid Residue**

Campo	Descrizione	Valore accettabile
<b>Name</b>	Nome dell'aminoacido	Alfanumerico
<b>Symbol</b>	Simbolo dell'aminoacido	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Alfanumerico</li> <li>• La prima lettera deve essere maiuscola</li> </ul>
<b>Residue Formula</b>	Formula dell'aminoacido	Formula empirica che utilizza elementi periodici

6. Fare clic su **OK**.  
Il nome, il simbolo e la massa dell'aminoacido personalizzato selezionato vengono aggiornati, se applicabile, nella tabella degli aminoacidi.

## Eliminazione di un aminoacido personalizzato

**Nota:** l'eliminazione di un aminoacido personalizzato utilizzato in un metodo di elaborazione può causare un comportamento imprevisto.

1. Fare clic su **Edit > Custom Elements**.  
Viene visualizzata la finestra di dialogo Custom Elements.
2. Assicurarsi che sia selezionata la scheda AA List.
3. Selezionare l'aminoacido da eliminare.

**Nota:** solo gli aminoacidi personalizzati aggiunti dall'utente possono essere eliminati. Gli aminoacidi distribuiti con il software non possono essere eliminati.

4. Fare clic su **Delete**.  
L'aminoacido personalizzato viene rimosso dalla tabella degli aminoacidi.

## Modificazioni degli aminoacidi personalizzate

### Creazione di una modificazione di aminoacido personalizzata

**Nota:** le modificazioni degli aminoacidi personalizzate possono essere applicate solo agli aminoacidi standard.

1. Fare clic su **Edit > Custom Elements**.  
Viene visualizzata la finestra di dialogo Custom Elements.
2. Assicurarsi che sia selezionata la scheda AA Modifications .
3. Fare clic su **New**.  
Viene visualizzata la finestra di dialogo New Custom Modification.
4. Compilare i campi descritti nella tabella seguente, quindi fare clic su **OK**.

**Tabella 2-3: Campi della finestra di dialogo New Custom Modification**

Campo	Descrizione	Valore accettabile
<b>Name</b>	Nome del residuo	Alfanumerico
<b>Symbol</b>	Simbolo del residuo	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Deve iniziare con _</li> <li>• Alfanumerico</li> <li>• La prima lettera deve essere maiuscola</li> </ul>
<b>Formula Gain</b>	Formula guadagnata dal residuo	Formula empirica che utilizza elementi periodici
<b>Formula Lost</b>	Formula persa dal residuo	Formula empirica che utilizza elementi periodici

**Tabella 2-3: Campi della finestra di dialogo New Custom Modification (continua)**

Campo	Descrizione	Valore accettabile
<b>Mod Type</b>	Posizione della modificazione	Amino Acid, N-Terminus, C-Terminus, Protein N-Terminus e Protein C-Terminus
<b>Applies to AA</b>	Nome dell'aminoacido correlato	Rappresentazione in una sola lettera dell'aminoacido standard a cui verrà applicata la modificazione personalizzata, ad esempio P per prolina. Lasciare questo campo vuoto per applicare la modificazione personalizzata a tutti gli aminoacidi standard.

L'aminoacido personalizzato viene aggiunto al fondo della tabella delle modificazioni degli aminoacidi e mostra il simbolo, lo spostamento di massa e il nome.

## Modifica di una modificazione di aminoacido personalizzata

1. Fare clic su **Edit > Custom Elements**.  
Viene visualizzata la finestra di dialogo Custom Elements.
2. Assicurarsi che sia selezionata la scheda AA Modifications .
3. Selezionare la modificazione da modificare.

---

**Nota:** solo le modificazioni personalizzate aggiunte dall'utente possono essere modificate. Le modificazioni distribuite con il software non possono essere modificate.

---

4. Fare clic su **Edit**.  
Viene visualizzata la finestra di dialogo Edit Custom Modification.
5. Modificare i campi appropriati riportati nella tabella seguente.

**Tabella 2-4: Campi della finestra di dialogo Edit Custom Modification**

Campo	Descrizione	Valore accettabile
<b>Name</b>	Nome del residuo	Alfanumerico
<b>Symbol</b>	Simbolo del residuo	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Deve iniziare con _</li> <li>• Alfanumerico</li> <li>• La prima lettera deve essere maiuscola</li> </ul>
<b>Formula Gain</b>	Formula guadagnata dal residuo	Formula empirica che utilizza elementi periodici

Tabella 2-4: Campi della finestra di dialogo Edit Custom Modification (continua)

Campo	Descrizione	Valore accettabile
<b>Formula Lost</b>	Formula persa dal residuo	Formula empirica che utilizza elementi periodici
<b>Mod Type</b>	Posizione della modificazione	Amino Acid, N-Terminus, C-Terminus, Protein N-Terminus e Protein C-Terminus
<b>Applies to AA</b>	Nome dell'aminoacido correlato	Rappresentazione in una sola lettera dell'aminoacido standard a cui verrà applicata la modificazione personalizzata, ad esempio P per prolina. Lasciare questo campo vuoto per applicare la modificazione personalizzata a tutti gli aminoacidi standard.

6. Fare clic su **OK**.  
Il nome, il simbolo e la massa della modificazione personalizzata selezionata vengono aggiornati, se applicabile, nella tabella delle modificazioni.

## Eliminazione di una modificazione di aminoacido personalizzata

**Nota:** l'eliminazione di una modificazione di aminoacido personalizzata utilizzata in un metodo di elaborazione può causare un comportamento imprevisto.

1. Fare clic su **Edit > Custom Elements**.  
Viene visualizzata la finestra di dialogo Custom Elements.
2. Assicurarsi che sia selezionata la scheda AA Modifications .
3. Selezionare la modificazione da eliminare.

**Nota:** solo le modificazioni personalizzate aggiunte dall'utente possono essere eliminate. Le modificazioni distribuite con il software non possono essere eliminate.

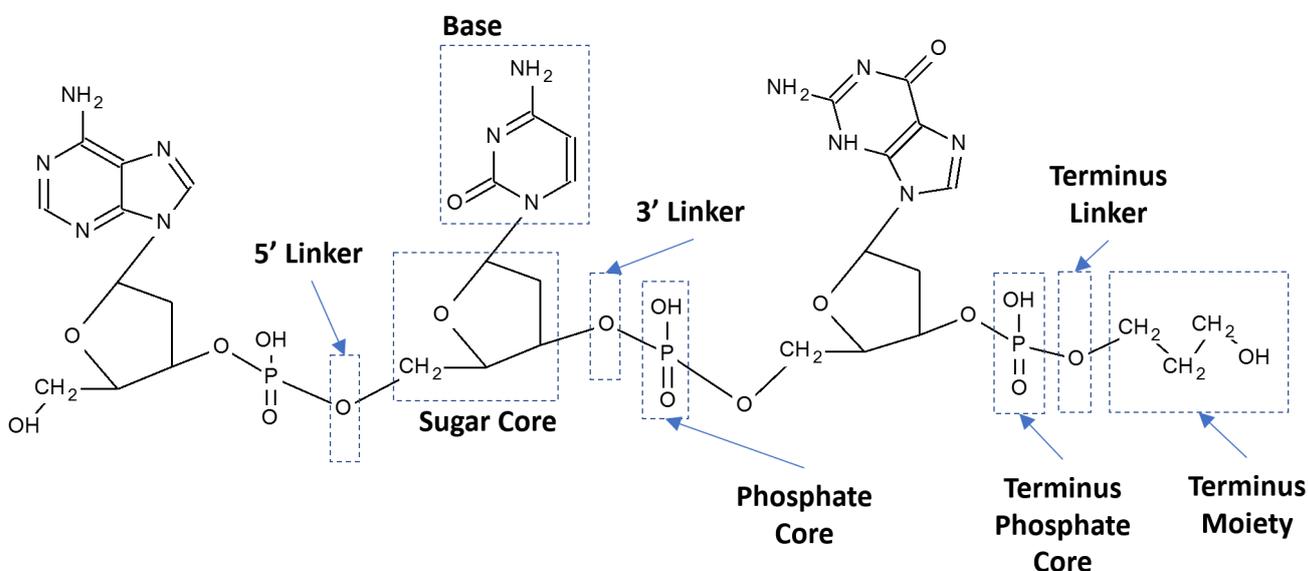
4. Fare clic su **Delete**.  
La modificazione personalizzata viene rimossa dalla tabella delle modifiche.

## Creazione di residui oligonucleotidici o gruppi terminali personalizzati

Utilizzare elementi personalizzati per creare sequenze contenenti gruppi funzionali che possono essere aggiunti alla struttura del core di un oligonucleotide. Queste modificazioni possono essere immesse in una sequenza e quindi cercate e identificate dal software Molecule Profiler.

Un oligonucleotide può spezzarsi in diverse sottostrutture.

**Figura 2-1: Sottostrutture dell'oligonucleotide**



Gli utenti possono modificare le sottostrutture del core di un oligonucleotide o definire un nuovo core, una nuova terminazione e un nuovo backbone fosfato. Quando si crea una sequenza modificata personalizzata, utilizzare la seguente struttura generale:

5'-(Terminus Moiety)-(Terminus Linker)-(Terminus Phosphate Core)-(Residue Type)<sub>1</sub>-...-(Residue Type)<sub>n</sub>-(Terminus Phosphate Core)-(Terminus Linker)-(Terminus Moiety)-3'

Nella finestra di dialogo New Oligo Residue or Terminus il campo **Type** contiene diversi tipi predefiniti di residui o terminazioni. Questi tipi predefiniti limitano la modifica a determinate sottostrutture dell'oligonucleotide per semplificare la creazione di modificazioni specifiche del tipo stesso. Per comprendere in che modo ogni tipo si inserisce nella struttura generale sopra riportata, fare riferimento alla tabella seguente.

**Tabella 2-5: Tipi**

Tipo	Categoria	Sottostruttura modificabile
DNA	Residue Type	Base
DNA*	Residue Type	Base
RNA	Residue Type	Base
RNA*	Residue Type	Base
2'-O-Methyl RNA	Residue Type	Base
2'-O-Methyl RNA*	Residue Type	Base
Locked (LNA)	Residue Type	Base
Locked (LNA)*	Residue Type	Base

Tabella 2-5: Tipi (continua)

Tipo	Categoria	Sottostruttura modificabile
Other Residue	Residue Type	Base 5' Linker Sugar Core 3' Linker Phosphate Core
Phospho Terminus*	Terminus Moiety	Terminus Moiety
Phospho Terminus	Terminus Moiety	Terminus Moiety
Other Terminus	Terminus Moiety Terminus Linker Terminus Phosphate Core	Terminus Moiety Terminus Linker Phosphate Core

\* Phosphorothioated backbone

Il tipo più flessibile per l'aggiunta e la modifica di formule chimiche è "Other Residue". Può essere modificato per consentire più sottostrutture personalizzate diverse e consentire all'utente di definire oligonucleotidi altamente personalizzati. Analogamente il tipo Other Terminus consente all'utente di definire elementi personalizzati 5' o 3'-terminale, linker e core.

Per un esempio, fare riferimento alla sezione: [Esempio di oligonucleotide personalizzato](#).

## Creazione di un residuo oligonucleotidico o di un gruppo terminale

**Suggerimento!** Per creare un residuo oligonucleotidico o un gruppo terminale copiandone uno esistente, selezionare l'elemento esistente nella scheda Oligo List, quindi fare clic su **New From**.

1. Fare clic su **Edit > Custom Elements**.  
Viene visualizzata la finestra di dialogo Custom Elements.
2. Assicurarsi che sia selezionata la scheda Oligo List.  
L'elenco contiene tutti i residui oligonucleotidici e i gruppi terminali predefiniti.
3. Fare clic su **New**.  
Viene visualizzata la finestra di dialogo New Oligo Residue or Terminus.
4. Completare i campi nella finestra di dialogo . Per esempi, fare riferimento alla sezione: [Esempio di oligonucleotide personalizzato](#).

5. Fare clic su **OK**.  
Il residuo o il gruppo terminale personalizzato viene aggiunto al fondo della tabella.

## Modifica di un residuo oligonucleotidico o di un gruppo terminale

1. Fare clic su **Edit > Custom Elements**.  
Viene visualizzata la finestra di dialogo Custom Elements.
2. Assicurarsi che sia selezionata la scheda Oligo List.
3. Selezionare il residuo o il gruppo terminale da modificare.

---

**Nota:** solo i residui e i gruppi terminali personalizzati aggiunti dall'utente possono essere modificati. I residui e i gruppi terminali distribuiti con il software non possono essere modificati.

---

4. Fare clic su **Edit**.  
Viene visualizzata la finestra di dialogo Edit Custom Amino Acid Residue.
5. Modificare le proprietà del residuo o del gruppo terminale.
6. Fare clic su **OK**.

## Eliminazione di un residuo oligonucleotidico o di un gruppo terminale

---

**Nota:** l'eliminazione di un residuo oligonucleotidico o di un gruppo terminale utilizzato in un metodo di elaborazione può causare un comportamento imprevisto.

---

1. Fare clic su **Edit > Custom Elements**.  
Viene visualizzata la finestra di dialogo Custom Elements.
2. Assicurarsi che sia selezionata la scheda Oligo List.
3. Selezionare il residuo o il gruppo terminale da eliminare.

---

**Nota:** solo i residui e i gruppi terminali personalizzati aggiunti dall'utente possono essere eliminati. I residui e i gruppi terminali distribuiti con il software non possono essere eliminati.

---

4. Fare clic su **Delete**.  
Il residuo o il gruppo terminale personalizzato viene rimosso dalla tabella.

## Importazione di residui oligonucleotidici e di gruppi terminali personalizzati

I residui oligonucleotidici e i gruppi terminali possono essere importati da un file di testo.

1. Fare clic su **Edit > Custom Elements**.  
Viene visualizzata la finestra di dialogo Custom Elements.
2. Assicurarsi che sia selezionata la scheda Oligo List.

L'elenco contiene tutti i residui oligonucleotidici e i gruppi terminali predefiniti.

3. Fare clic su **Import**.  
Viene visualizzata la finestra di dialogo Import Text File.
4. Spostarsi sul file di testo, selezionarlo e fare clic su **Open**.

## Esportazione di residui oligonucleotidici e di gruppi terminali personalizzati

I residui oligonucleotidici e i gruppi terminali possono essere esportati in un file di testo.

1. Fare clic su **Edit > Custom Elements**.  
Viene visualizzata la finestra di dialogo Custom Elements.
2. Assicurarsi che sia selezionata la scheda Oligo List.  
L'elenco contiene tutti i residui oligonucleotidici e i gruppi terminali predefiniti.
3. Selezionare i residui oligonucleotidici e i gruppi terminali da esportare.

---

**Suggerimento!** Premere **Ctrl+A** per selezionare tutti i residui e i gruppi terminali nell'elenco.

---

4. Fare clic su **Export**.  
Viene visualizzata la finestra di dialogo Save As.
5. Digitare il nome del file di testo in cui i residui oligonucleotidici e i gruppi terminali esportati verranno salvati.

La libreria composti archivia informazioni quali formula chimica, struttura o sequenza, pattern isotopico e spettri MS/MS per i composti. Gli utenti possono anche specificare lo spettro di riferimento per ogni composto. Ogni voce nella libreria può essere usata per creare parametri di elaborazione.

Il software viene installato con una libreria composti di base ma gli utenti possono personalizzarla aggiungendo, modificando ed eliminando voci.

---

**Nota:** ogni voce richiede una formula chimica e almeno uno spettro MS/MS.

---

## Opzioni della libreria composti



## Come vengono utilizzate strutture e sequenze

Le strutture chimiche e le sequenze peptidiche e oligonucleotidiche vengono utilizzate dal software per generare valori dei parametri specifici del composto, quali metaboliti di scissione potenziali.

---

**Nota:** il software genera automaticamente una formula chimica dalla struttura o dalla sequenza.

---

Il software accetta file mol v2000 e v3000, inclusi quelli con strutture Markush o multiple.

## Aggiunta di una struttura

Utilizzare file wiff e file txt per aggiungere uno spettro di riferimento a voci singole nella libreria composti.

1. Nel pannello Workflow fare clic su **Compound Library**.  
Viene visualizzata la finestra di dialogo Compound Library.
2. Eseguire una delle seguenti operazioni:
  - Creare un nuovo composto.
    - a. Fare clic su **New**, quindi selezionare **Structure** dall'elenco di opzioni.  
Viene visualizzata la finestra di dialogo New Entry.
    - b. Immettere un nome per il composto in **Name**, quindi fare clic su **OK**.

Il software compila automaticamente il campo **Compound name** nella finestra di dialogo Compound Library con il nome fornito

- Selezionare un composto dall'elenco fornito nel campo **Compound name**.

La finestra di dialogo Compound Library viene aggiornata con le informazioni corrispondenti al composto selezionato.

3. Fare clic su **Open Structure**.  
Viene visualizzata la finestra di dialogo Open Structure File.
4. Spostarsi su un file mol valido e selezionarlo.
5. Fare clic su **Open**.

Il software compila i campi seguenti nella finestra di dialogo Compound Library:

- Structure
- Chemical formula
- Polarity
- Isotope Pattern

Per impostazione predefinita, il campo **Adduct** viene compilato con un addotto protonato a carica singola [M+H]<sup>+</sup> o [M-H]<sup>-</sup>. Il software aggiorna inoltre il campo **m/z** con le informazioni appropriate.

6. In **Polarity** selezionare la polarità per l'acquisizione.  
**Isotope Pattern** e i valori **m/z** e **Adduct** nella scheda Compound Details vengono aggiornati in base alla polarità selezionata.
7. Compilare i campi seguenti con le informazioni appropriate:
  - Compound class
  - CAS number
  - Comments (ad esempio, informazioni sulle classi di metaboliti che possono essere aggiunte al campo).
8. Aprire la scheda Experimental Data.
9. Eseguire una delle seguenti operazioni:
  - Per aggiungere uno spettro MS/MS di riferimento da un file wiff, continuare con la sezione: [Aggiunta di uno spettro MS/MS di riferimento da un file wiff](#).
  - Per aggiungere uno spettro MS/MS di riferimento da un file txt, continuare con la sezione: [Aggiunta di uno spettro MS/MS di riferimento da un file txt](#).

## Aggiunta di una sequenza peptidica

Utilizzare file wiff e file txt per aggiungere uno spettro di riferimento a voci singole nella libreria composti.

1. Nel pannello Workflow fare clic su **Compound Library**.

## Libreria composti

---

Viene visualizzata la finestra di dialogo Compound Library.

2. Fare clic su **New**, quindi selezionare **Sequence** dall'elenco di opzioni.  
Viene visualizzata la finestra di dialogo New Entry.
3. Immettere un nome per il composto in **Name**, quindi fare clic su **OK**.  
Il software compila automaticamente il campo **Compound name** nella finestra di dialogo Compound Library con il nome fornito.
4. Immettere la sequenza peptidica nel campo **Sequence**.

---

**Nota:** la sequenza può contenere elementi personalizzati. Fare riferimento alla sezione: [Custom Elements](#).

---

5. Fare clic nel campo **Chemical formula**.

Il software compila i campi seguenti nella finestra di dialogo Compound Library:

- Chemical formula
- Polarity
- Isotope Pattern

Per impostazione predefinita, il campo **Adduct** viene compilato con un addotto protonato a doppia carica  $[M+2H]^{2+}$  o  $[M-2H]^{2-}$ . Il software aggiorna inoltre il campo **m/z** con le informazioni appropriate.

6. In **Polarity** selezionare la polarità per l'acquisizione.  
**Isotope Pattern** e i valori **m/z** e **Adduct** nella scheda Compound Details vengono aggiornati in base alla polarità selezionata.
7. Fare clic sulla scheda Experimental Data.
8. Eseguire una delle seguenti operazioni:
  - Per aggiungere uno spettro MS/MS di riferimento da un file wiff, continuare con la sezione: [Aggiunta di uno spettro MS/MS di riferimento da un file wiff](#).
  - Per aggiungere uno spettro MS/MS di riferimento da un file txt, continuare con la sezione: [Aggiunta di uno spettro MS/MS di riferimento da un file txt](#).

## Convenzioni di denominazione delle sequenze peptidiche

Tabella 3-1: Sequenza peptidica

Caratteristica	Convenzione di input	Esempio
Catene multiple	/	LIGHTCHAIN / HEAVYCHAIN
Modificazione su aminoacido: gruppo laterale	[Simbolo]	M[Oxi]
Modificazione su aminoacido: C-Terminale	-[Simbolo]	Y-[Ami]

Tabella 3-1: Sequenza peptidica (continua)

Caratteristica	Convenzione di input	Esempio
Modificazione su aminoacido: N-Terminale	[Simbolo]-	[1Me]-Y
Legami	<ul style="list-style-type: none"> <li>[*#] su ogni residuo legato</li> <li>Il numero su ogni residuo legato</li> </ul>	S-S Bridge: MYC[*1]PEPC[*1]TIDE

Tabella 3-2: Legami

Tipo di legame	Convenzione	Esempio
Ponte S-S	Aggiungere [*#] a entrambi i residui nel ponte	Catena singola: MYC[*1]PEPC[*1]TIDE  Catena multipla: LIGHTC[*1]HAIN / MC[*2]HEAVYC[*1]HAINC[*2] ]AD
Ponte estere/ammide	Aggiungere '[O-1]' a uno dei residui legati	MYR[*1]PEPD[*1][O-1]TIDE
Ciclico	Aggiungere '[H]' sul C-terminale	M[*1]YCPEPCTIDE[*1]-[H]
Cicli: residuo collegato al primo o ultimo indice e i gruppi terminali non fanno parte del legame ponte	Aggiungere esplicitamente i gruppi terminali	[H]-C[*1]YCPEPCTIDC[*1]-[OH]

## Aggiunta di una sequenza di oligonucleotidi

Facoltativamente, aggiungere informazioni sul composto oligonucleotide alla libreria dei composti. I composti nella libreria hanno spettri MS/MS che verranno utilizzati durante l'elaborazione.

**Nota:** se un composto non è presente nella libreria, l'utente può aggiungerlo manualmente a un metodo di elaborazione.

Le sequenze vengono aggiunte in formato di testo. Per acquisire il set diversificato di modificazioni degli oligonucleotidi terapeutici e di elementi personalizzati, attenersi alle regole di immissione delle sequenze. Fare riferimento alla sezione: [Convenzioni di denominazione delle sequenze oligonucleotidiche](#). Per un elenco più dettagliato di modificazioni ed elementi personalizzati, fare riferimento alla sezione: [Custom Elements](#).

## Libreria composti

---

1. Nel pannello Workflow fare clic su **Compound Library**.
2. Fare clic su **New > Oligonucleotide Sequence**. Viene visualizzata la finestra di dialogo New Entry.
3. In **Name** immettere il nome della sequenza oligonucleotidica, quindi fare clic su **OK**.
4. Immettere la sequenza nella tabella **Sequence**.

---

**Nota:** la sequenza può contenere elementi personalizzati. Fare riferimento alla sezione: [Custom Elements](#).

---

5. Fare clic sul campo **Chemical formula** per aggiornare automaticamente la formula chimica.
6. (Facoltativo) Immettere informazioni nei campi della scheda Compound Details.
7. Fare clic sulla scheda Experimental Data.
8. Eseguire una delle seguenti operazioni:
  - Per aggiungere uno spettro MS/MS di riferimento da un file wiff, continuare con la sezione: [Aggiunta di uno spettro MS/MS di riferimento da un file wiff](#).
  - Per aggiungere uno spettro MS/MS di riferimento da un file txt, continuare con la sezione: [Aggiunta di uno spettro MS/MS di riferimento da un file txt](#).

## Convenzioni di denominazione delle sequenze oligonucleotidiche

Le sequenze di oligonucleotidi possono essere specificate utilizzando gli identificatori caratteristici a una sola lettera per le basi:

- Adenina (A)
- Citosina (C)
- Timina (T)
- Guanina (G)
- Uracile (U)

I tipi di oligonucleotidi quali l'acido desossiribonucleico (DNA, d) e l'acido ribonucleico (RNA, r) possono essere identificati aggiungendo all'inizio della sequenza l'identificatore a una sola lettera o, per i tipi di oligonucleotidi misti, nell'intervallo tra le basi.

Per gli oligonucleotidi che contengono nucleotidi sintetici, quali l'acido nucleico bloccato (LNA), utilizzare il simbolo completo per ciascun residuo quando si definisce la sequenza. Ad esempio IA per LNA-A o moA per 2'-Metossimetil-A.

Le modificazioni del backbone, ad esempio fosforotioato (HPSO, \*), sono aggiunte alla fine di ogni base.

Gli atomi pesanti, quali il carbonio-13 ( $^{13}\text{Cn}$ ), sono aggiunti dopo il residuo oligonucleotidico dove  $n$  denota il numero di atomi pesanti.

**Nota:** nell'esempio precedente, la notazione "/13Cn/" aggiunge atomi pesanti alla formula esistente. Non sostituisce gli atomi nella nucleobase con una marcatura pesante. Per definire una nucleobase marcata isotopicamente, è richiesta una modificazione personalizzata.

Utilizzare una barra (/) come primo carattere per identificare una modificazione personalizzata definita dall'utente. Per aggiungere modificazioni personalizzate e per esempi di casi d'uso aggiuntivi per le modificazioni e le convenzioni di denominazione associate, fare riferimento alla sezione: [Custom Elements](#).

**Tabella 3-3: Convenzioni per gli oligonucleotidi**

Caratteristica	Convenzione di input	Esempio
DNA	d	dACG T
RNA	r	rACG U
DNA ed LNA misti	d, l	dACG lT
Backbone fosforotioato	*	dA*C*G* T*
Modificazione dello zucchero 2'metossimetile (2'MOE)	mo	moAmoCmoG moT
Carbon-13	/13Cn/	dACG T/13C2/
Residuo personalizzato	//	dACG /Other Residue/

## Aggiunta di uno spettro MS/MS di riferimento da un file wiff

1. Fare clic su **Open wiff File**.  
Viene visualizzata la finestra di dialogo Select Data.
2. Andare alla posizione appropriata, selezionare un file wiff che contenga uno spettro per il composto da aggiungere e fare clic su **OK**.

**Nota:** il file wiff deve contenere il composto come ione precursore.

**Tabella 3-4: Aggiunta di uno spettro di riferimento**

Il file contiene più precursori	Il file contiene un solo precursore
<p>Se sono presenti più precursori nel file wiff selezionato, viene visualizzata la finestra di dialogo Select a Spectrum con le seguenti informazioni incluse nella tabella Precursors per ogni precursore disponibile:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• m/z</li> <li>• Time (min)</li> <li>• Quality</li> <li>• Charge</li> </ul>	<p>Se il file wiff contiene un solo precursore, la finestra MS/MS Spectrum viene aggiornata con lo spettro.</p>
<p>Selezionare la casella di controllo per applicare i filtri.</p> <p>Selezionare una o entrambe le opzioni, secondo quanto applicabile. La tabella <b>Precursors</b> viene aggiornata per mostrare solo le righe che soddisfano i criteri specificati.</p>	<p>Il software utilizza i valori <b>m/z</b> e <b>Charge</b> del precursore selezionato e l'energia di collisione dell'esperimento per creare una sola riga di informazioni nel campo <b>Spectra</b> della finestra di dialogo Compound Library. Ad esempio, nel campo viene visualizzato Prec(m/z), CE(energia di collisione dell'esperimento), Charge(carica).</p> <p>Il titolo dello spettro contiene i valori di <b>Polarity</b> e <b>Compound name</b> del gruppo Compound Information, seguiti dalle informazioni del campo <b>Spectra</b>.</p> <p><b>Spectrum Details</b> contiene tipo di strumento, tempo di ritenzione, carica ed energia di collisione corrispondenti allo spettro MS/MS selezionato. Queste informazioni sono di sola lettura.</p>
<p>Selezionare una riga nella tabella Precursors.</p> <p>La finestra MS/MS Spectrum viene aggiornata con lo spettro per il precursore selezionato.</p> <hr/> <p><b>Suggerimento!</b> Utilizzare <b>Ctrl+clic</b> per selezionare più righe. Se vengono selezionate più righe, viene visualizzato <b>MS/MS Spectrum</b> per il primo precursore selezionato.</p>	<p>—</p>

**Tabella 3-4: Aggiunta di uno spettro di riferimento (continua)**

Il file contiene più precursori	Il file contiene un solo precursore
<p>Se la casella di controllo <b>Charge state from</b> è selezionata, selezionare i valori <b>from</b> e <b>to</b> dalle opzioni fornite. Il valore <b>from</b> è equivalente allo stato di carica disponibile minimo nella tabella Precursors. Il valore <b>to</b> è equivalente allo stato di carica disponibile massimo nella tabella Precursors.</p>	—
<p>Se la casella di controllo <b>Quality above</b> è selezionata, immettere il valore appropriato nel campo fornito.</p>	—
<p>Fare clic su <b>OK</b>.</p>	—
<p>Per ogni riga selezionata nella tabella Precursors, il software utilizza i valori <b>m/z</b> e <b>Charge</b> del precursore selezionato e l'energia di collisione dell'esperimento per creare una riga univoca di informazioni nel campo <b>Spectra</b> della finestra di dialogo Compound Library. Ad esempio, nel campo viene visualizzato Prec(m/z), CE(energia di collisione dell'esperimento), Charge(carica).</p> <p>Le informazioni visualizzate nel campo <b>Spectra</b> e lo spettro visualizzato nel campo <b>MS/MS Spectrum</b> corrispondono alla prima riga selezionata nella tabella Precursors.</p> <p>Il titolo dello spettro contiene i valori di <b>Polarity</b> e <b>Compound name</b> del gruppo Compound Information, seguiti dalle informazioni del campo <b>Spectra</b>.</p> <p><b>Spectrum Details</b> contiene tipo di strumento, tempo di ritenzione, carica ed energia di collisione corrispondenti allo spettro MS/MS selezionato. Queste informazioni sono di sola lettura.</p>	—

- (Facoltativo) In **Spectra** selezionare spettri diversi dall'elenco fornito. **MS/MS Spectrum** e **Spectrum Details** vengono aggiornati per mostrare le informazioni relative alla selezione.
- Per salvare uno spettro come lo spettro predefinito per il composto, selezionare gli spettri appropriati in **Spectra** dall'elenco fornito e fare clic su **Set as Reference**. **- Reference** viene aggiunto alle informazioni visualizzate nel campo **Spectra**. Ad esempio, nel campo viene visualizzato Prec (xx.xx), CE(xx), Charge(xx) - Reference.

5. Fare clic su **Save**.
6. Fare clic su **OK**.  
Il nuovo composto viene salvato nella libreria e la finestra di dialogo Compound Library viene chiusa.

## Aggiunta di uno spettro MS/MS di riferimento da un file txt

1. Fare clic su **Open txt File**.  
Viene visualizzata la finestra di dialogo Open txt File.
2. Andare alla posizione appropriata, selezionare un file txt MS/MS e fare clic su **OK**.  
Viene visualizzata la finestra di dialogo Spectrum Details.
3. Immettere le informazioni appropriate per lo spettro selezionato e fare clic su **OK**.

Il software utilizza le informazioni dei campi **Precursor mass (m/z)**, **Collision energy** e **Charge** per generare le informazioni per il campo **Spectra** della finestra di dialogo Compound Library. Ad esempio, nel campo viene visualizzato Prec (massa precursore (m/z)), CE (energia di collisione), Charge (carica).

Le informazioni visualizzate nel campo **Spectra** e lo spettro visualizzato nel campo **MS/MS Spectrum** corrispondono al file txt selezionato.

Il titolo dello spettro contiene i valori di **Polarity** e **Compound name** del gruppo Compound Information, seguiti dalle informazioni del campo **Spectra**.

**Spectrum Details** contiene tipo di strumento, tempo di ritenzione, carica ed energia di collisione corrispondenti allo spettro MS/MS selezionato. Queste informazioni sono di sola lettura.

4. (Facoltativo) In **Spectra** selezionare spettri diversi dall'elenco fornito.  
**MS/MS Spectrum** e **Spectrum Details** vengono aggiornati per mostrare le informazioni relative alla selezione.
5. Per salvare uno spettro come lo spettro predefinito per il composto, selezionare gli spettri appropriati in **Spectra** dall'elenco fornito e fare clic su **Set as Reference**.  
- **Reference** viene aggiunto alle informazioni visualizzate nel campo **Spectra**. Ad esempio, nel campo viene visualizzato Prec (xx.xx), CE(xx), Charge(xx) - Reference.
6. Fare clic su **Save**.
7. Fare clic su **OK**.  
Il nuovo composto viene salvato nella libreria e la finestra di dialogo Compound Library viene chiusa.

## Aggiunta di informazioni alla libreria composti da una Results Table

---

**Nota:** questa funzionalità è disponibile solo per file Results di molecole piccole e peptidi. La funzionalità non è disponibile per file Results di ADC e oligonucleotidi.

---

1. Nel pannello Workspace fare clic su **Results**.  
Viene visualizzata l'area di lavoro Results.
2. Fare clic su **Open**.  
Viene visualizzata la finestra di dialogo Open Results.
3. Spostarsi sul file appropriato e selezionarlo.
4. Fare clic su **OK**.  
Viene visualizzata la vista Results.
5. Selezionare una riga nella tabella Potential Metabolites, fare clic con il pulsante destro del mouse, quindi selezionare **Add to Compound Library**.

---

**Nota:** se la riga selezionata non contiene uno spettro MS/MS, l'opzione **Add to Compound Library** non è disponibile.

---

6. Fare clic su **OK** in risposta al messaggio di conferma.
7. Nel pannello Workflow fare clic su **Compound Library**.  
Viene visualizzata la finestra di dialogo Compound Library. Il metabolita aggiunto viene inserito nell'elenco **Compound name**.

I set di biotrasformazioni sono elenchi di biotrasformazioni comuni.

## Informazioni sulle biotrasformazioni

Gli utenti possono cercare i metaboliti previsti utilizzando i set di biotrasformazioni predefiniti installati nel software oppure creare nuovi set di biotrasformazioni. Ad esempio, gli utenti potrebbero voler creare un set diverso per ogni composto analizzato. Le biotrasformazioni installate contengono informazioni integrate che vengono utilizzate durante la proposta automatica di sequenza o struttura.

I set di biotrasformazioni specifici del metodo sono utilizzati come impostazioni predefinite per ogni tipo di metodo. Ad esempio, il metodo per i peptidi utilizza il set di biotrasformazioni delle sostanze biologiche come impostazione predefinita. Questo set di biotrasformazioni contiene le biotrasformazioni maggiormente pertinenti per le reazioni metaboliche in vivo per i peptidi.

Per gli oligonucleotidi, selezionare uno dei tre set di trasformazioni predefiniti:

- **Oligonucleotide Basic:** fornisce un elenco conciso delle modificazioni ed è limitato a quelle che incidono solo sulla base o sul backbone.
- **Oligonucleotide Comprehensive:** fornisce una copertura estesa di tutte le trasformazioni che possono verificarsi durante la sintesi, il metabolismo e la conservazione.
- **Oligonucleotide Metabolites:** contiene un sottoinsieme del set completo che si concentra solo sulle trasformazioni

Valutare attentamente l'origine del campione e quindi scegliere il set più rappresentativo. Gli utenti possono creare il proprio set di biotrasformazioni personalizzato dagli elementi predefiniti o aggiungendo nuovi elementi. Fare riferimento alle sezioni: [Creazione di un set di biotrasformazioni](#) e [Modifica di un set di biotrasformazioni](#).

Creare biotrasformazioni personalizzate identificando un cambiamento nella formula chimica o combinando due biotrasformazioni esistenti.

Le biotrasformazioni personalizzate o le biotrasformazioni da set esistenti possono essere incluse in qualsiasi nuovo set di biotrasformazioni che viene creato.

---

**Suggerimento!** Quando si valutano i dati delle sostanze biologiche, selezionare le biotrasformazioni altamente probabili per creare un set ristretto per un'analisi più veloce dei dati.

---

## Creazione di un set di biotrasformazioni

1. Nel pannello Workflow fare clic su **Biotransformations**. Viene visualizzata la finestra di dialogo Biotransformations.

2. Fare clic su **New**.  
Viene visualizzata la finestra di dialogo New Biotransformation Set.
3. Immettere un nome per il set nel campo **Working biotransformation set**.
4. Fare clic su **New Biotransformation**.  
Viene visualizzata la finestra di dialogo New Biotransformation.
5. Immettere un nome per la biotrasformazione nel campo **Name**.
6. (Facoltativo) Immettere i dettagli appropriati relativi alla biotrasformazione nei campi **Description** e **Comments**.
7. Eseguire una delle seguenti operazioni:

Tabella 4-1: Creazione di set di biotrasformazioni

Per creare una biotrasformazione singola	Per creare una biotrasformazione combinata
Fare clic su <b>Single biotransformation</b> .	Fare clic su <b>Combined biotransformation</b> .
Identificare la porzione della struttura che andrà persa nel campo <b>Formula from</b> .	Selezionare una biotrasformazione per ognuno dei campi <b>Biotransformation 1</b> e <b>Biotransformation 2</b> .
Inserire la formula della biotrasformazione nel campo <b>Formula to</b> .	—

**Nota:** le biotrasformazioni disponibili sono quelle presenti nel set di lavoro.

**Nota:** il software calcola automaticamente la modifica risultante dalla biotrasformazione e compila il campo **Mass shift** con questo valore.

8. Fare clic su **OK**.  
La nuova biotrasformazione viene mostrata in entrambe le tabelle del set di biotrasformazioni di lavoro e nel set di biotrasformazioni di origine:
9. Fare clic su **OK** per salvare il nuovo set di biotrasformazioni.  
La finestra di dialogo New Biotransformation Set viene chiusa.
10. Fare clic su **OK**.  
La finestra di dialogo Biotransformations viene chiusa.

## Modifica di un set di biotrasformazioni

1. Nel pannello Workflow fare clic su **Biotransformations**.  
Viene visualizzata la finestra di dialogo Biotransformations.
2. Selezionare il **Set** appropriato dall'elenco fornito.
3. Fare clic su **Edit**.  
Viene visualizzata la finestra di dialogo Edit Biotransformation Set con il nome del set selezionato riportato nel campo **Working biotransformation set**.

## Set di biotrasformazioni

---

4. Immettere un nome per il set appropriato nel campo **Working biotransformation set**.
5. Selezionare una riga nella tabella Working biotransformation set.
6. Fare clic su **Edit Biotransformation**.  
Viene visualizzata la finestra di dialogo Edit Biotransformation.
7. (Facoltativo) Apportare le modifiche necessarie nei campi **Name**, **Description** e **Comments**.
8. (Facoltativo) Eseguire una delle seguenti opzioni:

**Tabella 4-2: Modifica dei set di biotrasformazioni**

Per creare una biotrasformazione singola	Per creare una biotrasformazione combinata
Fare clic su <b>Single biotransformation</b> .	Fare clic su <b>Combined biotransformation</b> .
Identificare la porzione della struttura che andrà persa nel campo <b>Formula from</b> .	Selezionare una biotrasformazione per ognuno dei campi <b>Biotransformation 1</b> e <b>Biotransformation 2</b> .
Inserire la formula della biotrasformazione nel campo <b>Formula to</b> .	—

---

**Nota:** le biotrasformazioni disponibili sono quelle presenti nel set di lavoro.

---

9. Fare clic su **OK**.  
La biotrasformazione aggiornata viene mostrata sia nel set di biotrasformazioni di lavoro e che nel set di biotrasformazioni di origine.
10. Fare clic su **OK** per salvare le modifiche.  
La finestra di dialogo Edit Biotransformation Set viene chiusa.
11. Fare clic su **OK**.  
La finestra di dialogo Biotransformations viene chiusa.

## Eliminazione di un set di biotrasformazioni

1. Nel pannello Workflow fare clic su **Biotransformations**.  
Viene visualizzata la finestra di dialogo Biotransformations.
2. Selezionare il **Set** appropriato dall'elenco fornito.
3. Fare clic su **Delete**.  
Viene visualizzato un messaggio di conferma.
4. Fare clic su **Yes**.
5. Fare clic su **OK**.  
La finestra di dialogo Biotransformations viene chiusa.

# Creazione di metodi di elaborazione

# 5

Il software supporta quattro flussi di lavoro: molecole piccole, peptidi, oligonucleotidi e ADC.

È necessario creare un metodo che contenga i parametri di elaborazione specifici per il file del campione per trovare i metaboliti potenziali in un campione di interesse.

[Selezione del tipo di metodo](#)



[Selezione dei valori dei parametri](#)



Impostazione dei [Parametri di elaborazione generici](#)



Impostazione dei [Parametri di elaborazione specifici del composto](#)

## Parametri di elaborazione

I parametri di elaborazione nel software Molecule Profiler contengono tutti gli attributi e i valori che consentono l'elaborazione dei file wiff. La funzione di elaborazione viene utilizzata per trovare e caratterizzare i metaboliti. La funzione di elaborazione assegna inoltre i punteggi di confidenza ai metaboliti.

Vengono utilizzati i seguenti modelli di parametri:

- Small molecule
- Peptides
- Oligonucleotides
- ADC

I modelli rappresentano i tipi di composto e di flusso di lavoro che vengono considerati per i diversi tipi di analisi.

---

**Nota:** quando si aggiungono sequenze di composti, assicurarsi che i nomi delle sequenze siano formattati correttamente. Fare riferimento alle sezioni: [Convenzioni di denominazione delle sequenze peptidiche](#) o [Convenzioni di denominazione delle sequenze oligonucleotidiche](#).

---

### Selezione del tipo di metodo

1. Nel pannello Workflow fare clic su **Processing Parameters**. Viene visualizzata l'area di lavoro Processing Parameters.
2. Fare clic su **New** e selezionare il tipo di metodo dall'elenco fornito.
3. Continuare con il passaggio 2 di [Selezione dei valori dei parametri](#).

### Selezione dei valori dei parametri

1. Nel pannello Workflow fare clic su **Processing Parameters**. Viene visualizzata l'area di lavoro Processing Parameters.
2. Immettere le informazioni sul composto nell'area di lavoro Processing Parameters.
  - Per i flussi di lavoro di molecole piccole e ADC, fare clic su **Open Structure** nel gruppo Structure, selezionare il file mol di destinazione, quindi importare la struttura.
  - Per i flussi di lavoro di peptidi e oligonucleotidi, immettere la sequenza appropriata nel gruppo Sequence.

---

**Suggerimento!** In alternativa, fare clic su **Select From Library** per selezionare una voce dalla libreria composti per completare la struttura o la sequenza. Nell'elenco sono disponibili solo le voci che corrispondono al flusso di lavoro. Fare riferimento alla sezione: [Selezione di un composto da una libreria](#).

---

3. Assicurarsi che **Polarity**, **Charge state** e **Adduct** o **Ion type** siano appropriati per il set di dati.

Gli oligonucleotidi vengono in genere acquisiti in polarità negativa o in modalità ioni negativi. L'intervallo di carica consigliato per gli oligonucleotidi con masse pari o inferiori a 10.000 Da è compreso tra -2 e -20. L'elaborazione di oligonucleotidi con masse superiori a 10.000 Da è sconsigliata.
4. Selezionare le strategie di ricerca picchi da utilizzare quando si trovano metaboliti potenziali. Fare riferimento alla sezione: [Informazioni sulle strategie di ricerca picchi](#).
5. Configurare i parametri indipendenti dal composto in fase di elaborazione. Fare riferimento alla sezione: [Parametri di elaborazione generici](#).
6. Configurare i parametri indipendenti dal composto. Fare riferimento alla sezione: [Parametri di elaborazione specifici del composto](#).
7. Fare clic su **Save and Close**.
8. Selezionare la posizione di archiviazione del metodo nel campo **Folder** della finestra di dialogo Save Processing Parameters As.
9. Immettere un nome per il metodo nel campo **Name**, quindi fare clic su **OK**. Il metodo viene salvato e l'area di lavoro Processing Parameters viene chiusa.

### Selezione di un composto da una libreria

1. Nel pannello Workflow fare clic su **Processing Parameters**.

Viene visualizzata l'area di lavoro Processing Parameters.

2. Fare clic su **Select From Library**.

Viene visualizzata la finestra di dialogo Select From Library.

3. Selezionare un composto dall'elenco nel campo **Compound name**.

---

**Nota:** per i parametri di elaborazione per molecole piccole e ADC, solo le voci identificate come strutture nella libreria composti sono riportate nell'elenco. Per i parametri di elaborazione per peptidi e oligonucleotidi, solo le voci identificate come sequenze nella libreria composti sono riportate nell'elenco.

---

4. Fare clic su **OK**.

L'area di lavoro Processing Parameters viene aggiornata con le informazioni del composto selezionato.

5. Per rivedere o modificare lo spettro MS/MS di riferimento, fare clic su **Compound-Specific Parameters > Product Ions and Neutral Losses**.

---

**Nota:** il riquadro Reference MS/MS Spectrum viene compilato con lo spettro MS/MS del composto selezionato.

---

6. (Facoltativo) Se sono disponibili più spettri di riferimento, spostarsi nell'elenco e selezionare uno spettro diverso, se appropriato.

---

**Nota:** quando si seleziona uno spettro di riferimento diverso, il riquadro Reference MS/MS Spectrum viene aggiornato e le informazioni vengono cancellate dalla tabella di ioni prodotto e perdite neutre.

---

7. Per configurare la tabella Fragments, fare clic su **Assign Fragments**.

8. Continuare con il passaggio 5 della sezione: [Selezione dei valori dei parametri](#).

## Informazioni sulle strategie di ricerca picchi

Le strategie di ricerca picchi si riferiscono ai logaritmi che il software utilizza per trovare i potenziali metaboliti nel campione di interesse. Gli utenti possono selezionare algoritmi specifici nel gruppo Peak Finding Strategy per elaborare i dati.

Algoritmo	Descrizione
TOF MS	

## Creazione di metodi di elaborazione

Algoritmo	Descrizione
<b>Predicted metabolites</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>• <b>Small molecule:</b> con questo algoritmo, il software cerca i metaboliti in base al set di biotrasformazioni selezionato, ai metaboliti di scissione previsti e a una combinazione di questi due elementi.</li><li>• <b>Peptides:</b> con questo algoritmo, il software cerca i metaboliti in base al set di biotrasformazioni, ai cataboliti previsti e a una combinazione di questi due elementi.</li><li>• <b>Oligonucleotides:</b> con questo algoritmo, il software cerca i metaboliti in base al set di biotrasformazioni, ai cataboliti previsti (inclusi prodotti di scissione idrolitica, con terminazione n+1 e interni n-1) e una combinazione di questi due elementi.</li><li>• <b>ADC:</b> con questo algoritmo, il software cerca i metaboliti in base a biotrasformazioni, scissioni, frammenti anticorpali e una combinazione di questi tre elementi.</li></ul> <p>Fare riferimento alla sezione: <a href="#">Parametri di elaborazione generici</a>. Per ciascun metodo, gli <b>Available Adducts</b> selezionati nella scheda MS Parameters sono anche inclusi utilizzando le combinazioni.</p> <hr/> <p><b>Nota:</b> l'opzione <b>Predicted metabolites</b> è consigliata per l'elaborazione dei dati degli oligonucleotidi.</p> <hr/>
<b>Generic peak finding</b>	<p>Con questo algoritmo, il software cerca i metaboliti imprevisti. La ricerca può essere ulteriormente affinata selezionando <b>Apply mass defect filter</b> o <b>Apply charge state filter</b>.</p> <p>I parametri che controllano questo algoritmo si trovano nelle schede <b>Chromatographic Data</b> e <b>MS Parameters</b>. Fare riferimento alla sezione: <a href="#">Parametri di elaborazione generici</a>.</p> <hr/> <p><b>Nota:</b> questa opzione, insieme all'opzione <b>Predicted metabolites</b>, è consigliata per l'elaborazione dei dati degli oligonucleotidi.</p> <hr/>
<b>Apply mass defect filter</b>	<p>Questo filtro limita la ricerca ai picchi che mostra i filtri selezionati nell'intervallo <b>Mass Defect</b> specificato in Compound-Specific Parameters. Quando viene selezionato questo filtro, solo i metaboliti trovati dalla ricerca picchi generica che soddisfano i criteri specificati sono inclusi nei risultati.</p>

Algoritmo	Descrizione
<b>Apply charge state filter</b>	<p>Questo filtro limita la ricerca ai picchi con una carica inclusa nella scheda Charge state nel gruppo Compound Information. Quando viene selezionato questo filtro, solo i metaboliti trovati dalla ricerca picchi generica che soddisfano i criteri specificati sono inclusi nei risultati.</p> <hr/> <p><b>Nota:</b> questa opzione non è consigliata per l'elaborazione dei dati degli oligonucleotidi.</p>
<b>Mass defect</b>	<p>Questo algoritmo è applicabile solo ai metodi per molecole piccole.</p> <p>Questo algoritmo utilizza la massa frazionale per filtrare i dati. Il composto, le biotrasformazioni selezionate e i metaboliti di scissione potenziali contribuiscono ai filtri disponibili che consentono agli utenti di cercare metaboliti specifici all'interno di un intervallo di masse.</p> <p>I parametri che controllano questo algoritmo si trovano nella scheda Mass Defect. Fare riferimento alla sezione: <a href="#">Parametri di elaborazione specifici del composto</a>.</p>
<b>Isotope pattern</b>	<p>Questo algoritmo cerca i metaboliti che hanno un pattern isotopico simile al composto padre.</p> <hr/> <p><b>Suggerimento!</b> Se il composto è radiomarcato, gli utenti possono definire l'arricchimento isotopico nella finestra di dialogo Processing Parameters selezionando <b>Compound-Specific Parameters &gt; Isotope Pattern</b>.</p> <hr/> <p>I parametri che controllano questo algoritmo si trovano nella scheda Isotope Pattern. Fare riferimento alla sezione: <a href="#">Parametri di elaborazione specifici del composto</a>.</p>
<b>TOF MSMS</b>	<hr/> <p><b>Nota:</b> questo algoritmo funziona solo se il metodo del parametro di elaborazione contiene un spettro MS/MS di riferimento. Lo spettro MS/MS di riferimento può provenire dalla voce nella libreria composti oppure può essere aggiunto manualmente nella scheda Product Ions and Neutral Losses. Fare riferimento alla sezione: <a href="#">Parametri di elaborazione specifici del composto</a>.</p> <hr/>

## Creazione di metodi di elaborazione

---

Algoritmo	Descrizione
<b>Find characteristic product ions</b>	<p>Il software utilizza questo algoritmo per cercare i dati IDA e i dati di acquisizione SWATH per i metaboliti che hanno ioni prodotto caratteristici nel composto padre.</p> <p>Con questo algoritmo, gli utenti possono cercare tutti gli ioni identificati o un numero limitato di essi.</p> <p>I parametri che controllano questo algoritmo si trovano nella scheda Product Ions and Neutral Losses. Fare riferimento alla sezione: <a href="#">Parametri di elaborazione specifici del composto</a>.</p>
<b>All specified ions</b>	<p>Quando questa opzione è selezionata, vengono cercati tutti gli ioni identificati. Ad esempio, se sono identificati quattro ioni prodotto e viene effettuata una ricerca dei picchi che hanno tutti questi ioni, solo le corrispondenze esatte vengono identificate come metaboliti potenziali.</p>
<b>At least __ ions</b>	<p>Quando questa opzione è selezionata, vengono cercati solo gli ioni selezionati nella scheda Product Ions and Neutral Losses. Ad esempio, se la ricerca si rivolge ai picchi con almeno due ioni, almeno due ioni tra gli ioni selezionati devono essere presenti nello spettro MS/MS del metabolita perché un picco sia considerato un metabolita.</p>
<b>Find characteristic neutral losses</b>	<p>Il software utilizza questo algoritmo per cercare i dati IDA e i dati di acquisizione SWATH per i metaboliti che hanno perdite neutre nel composto padre. L'algoritmo non è applicabile ai flussi di lavoro di peptidi e oligonucleotidi.</p> <p>Con questo algoritmo, gli utenti possono cercare tutte le perdite o un numero limitato di esse. Ad esempio, se sono identificate quattro perdite neutre e viene effettuata una ricerca dei picchi che hanno tutte queste perdite, solo le corrispondenze esatte vengono identificate come metaboliti potenziali. Se la ricerca si rivolge ai picchi con almeno due perdite, almeno due delle perdite selezionate devono essere presenti nello spettro MS/MS del metabolita perché un picco sia considerato un metabolita.</p> <p>I parametri che controllano questo algoritmo si trovano nella scheda Product Ions and Neutral Losses. Fare riferimento alla sezione: <a href="#">Parametri di elaborazione specifici del composto</a>.</p>
<b>All specified losses</b>	<p>Quando questa opzione è selezionata, vengono cercati tutti i metaboliti e vengono registrate tutte le perdite neutre.</p>

Algoritmo	Descrizione
<b>At least __ losses</b>	Quando questa opzione è selezionata, vengono cercate solo le perdite selezionate nella scheda Product Ions and Neutral Losses. Ad esempio, se sono identificate quattro perdite neutre e viene effettuata una ricerca dei picchi che hanno tutte queste perdite, solo le corrispondenze esatte vengono identificate come metaboliti potenziali. Se la ricerca si rivolge ai picchi con almeno due perdite, almeno due delle perdite selezionate devono essere presenti nello spettro MS/MS del metabolita perché un picco sia considerato un metabolita.
<b>Consider internal neutral losses</b>	Questo algoritmo è specifico dei dati di acquisizione SWATH.  Questa strategia funziona solo se vengono selezionate almeno due perdite neutre. La perdita neutra è il delta tra le formule delle due perdite neutre. Notare che la formula di una perdita neutra deve essere un sottoinsieme della formula dell'altra perdita neutra perché l'opzione "Find by Internal Neutral Loss" abbia effetto.
<b>Isotope pattern (SWATH Only)</b>	Questo algoritmo è specifico dei dati di acquisizione SWATH.  I precursori con un pattern isotopico frammento selezionato nella tabella della scheda Product Ions and Neutral Losses in Compound-Specific Parameters sono contrassegnati come metaboliti. L'utente deve selezionare una o più caselle di controllo della formula isotopo frammento nella colonna <b>Isotope Pattern</b> . Il pattern isotopico frammento deve corrispondere al pattern isotopico frammento teorico all'interno della tolleranza <i>m/z</i> MS/MS e alla tolleranza intensità specificata nella scheda MS/MS Parameters, affinché il picco sia considerato un metabolita.

## Parametri di elaborazione generici

I parametri di elaborazione generici sono impostazioni che non dipendono dal composto elaborato. Ognuna delle seguenti schede gestisce parametri specifici del composto:

### Generic Parameters

↙	↙	↘	↘
<b>Small Molecules</b>	<b>Peptides</b>	<b>Oligonucleotides</b>	<b>ADC</b>
<a href="#">Scheda Biotransformations</a>	<a href="#">Scheda Biotransformations</a>	<a href="#">Scheda Biotransformations</a>	<a href="#">Scheda Biotransformations</a>
<a href="#">Scheda Chromatographic Data</a>			

## Creazione di metodi di elaborazione

---

Scheda MS Parameters	Scheda MS Parameters	Scheda MS Parameters	Scheda MS Parameters
Scheda MS/MS Parameters	Scheda MS/MS Parameters	Scheda MS/MS Parameters	Scheda MS/MS Parameters
Scheda Formula Prediction (metodi per molecole piccole e ADC)	Scheda Confirmation Scoring	Scheda Confirmation Scoring	Scheda Formula Prediction (metodi per molecole piccole e ADC)
Scheda Confirmation Scoring			Scheda Confirmation Scoring

## Scheda Biotransformations

Identifica il set di biotrasformazioni che contiene le biotrasformazioni previste. Il software include i set di biotrasformazioni predefiniti. Per creare un set di biotrasformazioni personalizzato, fare riferimento alla sezione: [Creazione di un set di biotrasformazioni](#).

Parametro	Descrizione
<b>Select Set</b>	<p>Seleziona dal database un set di biotrasformazioni diverso, da utilizzare per l'elaborazione.</p> <p>Quando questa opzione è selezionata, il software potrebbe mostrare l'avviso seguente: "The selected biotransformation set might no longer exist in the biostransformations database". Ciò si verifica perché il set di biotrasformazioni selezionato è stato salvato nel file dei parametri di elaborazione. Le modifiche successive apportate al set di biotrasformazioni nell'area di lavoro Biotransformations non vengono salvate nel file dei parametri di elaborazione.</p> <p>Per ripetere l'elaborazione utilizzando il set di biotrasformazioni salvato, fare clic su <b>OK</b>, quindi fare clic su <b>Cancel</b> nella finestra di dialogo Biotransformations. Per aggiornare il file dei parametri di elaborazione con un nuovo set di biotrasformazioni, attenersi alla seguente procedura:</p> <ol style="list-style-type: none"><li>1. Fare clic su <b>OK</b>.</li><li>2. Selezionare un set di biotrasformazioni.  Viene visualizzato il messaggio: "If you select this new biotransformation set, you might not be able to re-select the existing set. Do you want to continue?"</li><li>3. Fare clic su <b>OK</b>.</li></ol>

## Scheda Chromatographic Data

Parametro	Descrizione
<b>Chromatographic Peak</b>	
<b>Retention time window</b>	<p>Specifica l'intervallo di tempi di ritenzione in cui cercare i metaboliti potenziali. La dimensione della finestra del tempo di ritenzione (T.R.) è direttamente proporzionale al tempo di elaborazione.</p> <p>Specificare un valore superiore a 0,00 min per escludere il volume vuoto della colonna.</p> <p>Il valore <b>to</b> deve essere maggiore del valore <b>from</b>.</p> <p>Si consiglia di impostare un finestra T.R. per tutti i flussi di lavoro, poiché un intervallo T.R. ampio può aumentare di molto i tempi di elaborazione. Gli intervalli dipendono notevolmente dall'esperimento analizzato. Esaminare la finestra T.R. per ogni esperimento. Si consiglia che il tempo iniziale sia leggermente superiore a 0,00 min e che il tempo finale sia leggermente successivo al picco di interesse o al punto in cui il metodo entra la fase di eluizione elevata o di lavaggio del gradiente.</p>
<b>MS data</b>	<p>Specifica il metodo per l'impostazione della larghezza XIC.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>XIC width</b>: specifica la larghezza del cromatogramma ioni estratti da considerare per l'elaborazione.</li> <li>• <b>Automatic</b>: il software calcola la larghezza migliore in base ai dati selezionati.</li> </ul> <p>Per i flussi di lavoro degli oligonucleotidi si consiglia l'impostazione <b>Automatic</b>.</p> <hr/> <p><b>Nota:</b> se questa opzione è selezionata quando vengono elaborati i dati di acquisizione SWATH, viene applicata l'opzione <b>XIC width</b>.</p>
<b>LC peak separation</b>	<p>Determina come vengono integrati i picchi con eluizioni ravvicinate. Questo parametro gestisce inoltre i picchi cromatografici con scodamento significativo.</p> <p>Impostare questo parametro su un valore inferiore se vi sono picchi con eluizioni ravvicinate. L'impostazione inferiore consente di considerare i picchi separatamente anziché come un solo picco.</p>
<b>TOF MS</b>	
<b>Minimum peak width</b>	<p>Esclude i picchi cromatografici che hanno una larghezza inferiore a questo valore.</p> <p>Imposta il valore inferiore per l'inclusione dei picchi stretti.</p>

## Creazione di metodi di elaborazione

---

Parametro	Descrizione
<b>Minimum peak intensity</b>	<p>Fa sì che non vengano considerati i picchi cromatografici inferiori a una data intensità TOF MS.</p> <p>Utilizzare quando sono presenti dati cromatografici con rumore. Impostando una soglia immediatamente superiore al livello di rumore, è possibile rifiutare i picchi probabilmente dovuti a rumore.</p> <p>Esaminare le larghezze dei picchi prima di elaborare i dati nel software Molecule Profiler o nel software visualizzatore, quale l'area di lavoro Explorer in SCIEX OS. Utilizzare una media generale di tutti i picchi esaminati per calcolare la larghezza minima del picco.</p> <p>Per i metodi per oligonucleotidi che contengono esperimenti TOF MS o IDA, si consiglia un'impostazione di 50.</p>
<b>Use smoothing</b>	<p>Distingue i picchi dal rumore eliminando la variazione di intensità entro il rumore.</p> <p>Selezionare quando sono presenti dati cromatografici con rumore.</p> <p>Questa opzione è consigliata per i flussi di lavoro degli oligonucleotidi.</p>
<b>Sample-control offset</b>	<p>Allinea i cromatogrammi del campione MS e di controllo Durante l'elaborazione, il software sposta tutti i controlli prima di confrontarli con il campione.</p>
<b>Sample/control ratio</b>	<p>Specifica di quante volte un picco del campione deve essere più grande quando viene confrontato con il controllo affinché sia considerato un metabolita.</p>
<b>TOF MS/MS</b>	
<b>Minimum peak intensity</b>	<p>Questo parametro è utilizzato solo quando si elaborano i dati di acquisizione SWATH, con gli algoritmi di rilevamento picchi MS/MS. Questo parametro non viene utilizzato quando si elaborano i dati IDA.</p> <p>Fa sì che non vengano considerati i picchi cromatografici inferiori a una data intensità TOF MS/MS.</p> <p>Utilizzare quando sono presenti dati cromatografici con rumore. Impostando una soglia immediatamente superiore al livello di rumore, è possibile rifiutare i picchi probabilmente dovuti a rumore.</p>
<b>Analog data</b>	
<b>Wavelength (UV only)</b>	<p>Seleziona la lunghezza d'onda da utilizzare quando si confermano i metaboliti potenziali.</p>

Parametro	Descrizione
<b>Time offset from MS</b>	<p>Allinea i dati cromatografici MS e analogici. Durante l'elaborazione, il software sposta i dati analogici prima di confrontarli con i dati MS.</p> <hr/> <p><b>Nota:</b> i dati cromatografici MS e analogici possono anche essere allineati successivamente all'elaborazione nell'area di lavoro Analog Interpretation. Fare riferimento alla sezione: <a href="#">Modifica dell'offset del tempo di ritenzione</a>.</p> <hr/>
<b>LC peak separation</b>	<p>Determina come vengono integrati i picchi con eluizioni ravvicinate. Questo parametro gestisce inoltre i picchi cromatografici con scodamento significativo.</p> <p>Impostare questo parametro su un valore inferiore se vi sono picchi con eluizioni ravvicinate. L'impostazione inferiore consente di considerare i picchi separatamente anziché come un solo picco.</p>
<b>Minimum peak width</b>	<p>Esclude i picchi cromatografici che hanno una larghezza inferiore a questo valore.</p> <p>Imposta il valore inferiore per l'inclusione dei picchi stretti.</p>
<b>Minimum peak intensity</b>	<p>Fa sì che non vengano considerati i picchi cromatografici inferiori a un dato livello di intensità.</p> <p>Utilizzare quando sono presenti dati cromatografici con rumore. Impostando una soglia immediatamente superiore al livello di rumore, è possibile rifiutare i picchi probabilmente dovuti a rumore.</p>
<b>Use smoothing</b>	<p>Distingue i picchi dal rumore eliminando la variazione di intensità entro il rumore.</p> <p>Selezionare quando sono presenti dati cromatografici con rumore.</p>
<b>Sample-control offset</b>	<p>Allinea i cromatogrammi del campione MS e di controllo Durante l'elaborazione, il software sposta tutti i controlli prima di confrontarli con il campione.</p>

### Scheda MS Parameters

Parametro	Descrizione
<b>m/z Tolerance</b>	

## Creazione di metodi di elaborazione

---

Parametro	Descrizione
<b>MS m/z tolerance</b>	<p>Specifica un intervallo per la determinazione dei picchi nello spettro MS. Tutte le masse comprese in questo intervallo saranno considerate come un unico picco. Per un picco con una formula sperimentale assegnata da considerare come un metabolita potenziale, l'accuratezza della massa del picco deve essere compresa nella tolleranza specificata.</p> <p>Questo parametro dipende notevolmente dallo stato di calibrazione dello strumento. Per gli strumenti calibrati entro <math>\pm 3</math> ppm, si consiglia un valore di 10 ppm per i metodi per oligonucleotidi che contengono esperimenti TOF MS o IDA.</p>
<b>Minimum MS peak intensity</b>	<p>Specifica la soglia spettrale minima per l'intensità del picco MS. Fa sì che non vengano considerati i picchi MS che hanno un'intensità sotto la soglia spettrale specificata.</p> <p>Impostare il valore in base al livello di rumore negli spettri.</p>
<b>Isotope Pattern Tolerances</b>	
<b>MS m/z tolerance</b>	<p>Specifica la tolleranza applicata al pattern isotopico dei metaboliti. Vengono considerati come corrispondenze solo i picchi con valori di offset <math>m/z</math> dell'isotopo compresi entro questa tolleranza.</p> <p>Per i metodi per oligonucleotidi che contengono esperimenti TOF MS o IDA, si consiglia un valore di 10 mDa.</p>
<b>Intensity tolerance</b>	<p>Specifica la tolleranza relativa per le intensità isotopiche, definite nella scheda Isotope Pattern in Compound-Specific Parameters. Per essere considerato come corrispondenza, il rapporto di intensità di due picchi deve essere uguale al rapporto previsto entro questa tolleranza.</p> <p>Per i metodi per oligonucleotidi che contengono esperimenti TOF MS, si consiglia un valore del 20%.</p>
<b>Minimum Score</b>	<p>(Metodi per oligonucleotidi) Specifica la tolleranza di corrispondenza minima (in percentuale) per il pattern isotopico osservato per un metabolita, durante il confronto con il relativo pattern isotopico previsto. Si consiglia di iniziare con un valore dello 0% e quindi di aumentare il valore come richiesto per rimuovere le identificazioni dei falsi positivi confermati.</p>
<b>Limits</b>	

Parametro	Descrizione
<b>Maximum number of unexpected metabolites</b>	<p>Selezionare un numero massimo di picchi imprevisti che possono essere identificati come metaboliti potenziali.</p> <p>Questa impostazione incide sul numero massimo di picchi che possono essere identificati dalla ricerca di picchi generica. La ricerca di picchi generica interagisce con la ricerca di picchi dei metaboliti previsti. Ad esempio, se è selezionato un set di biotrasformazioni più ridotto per un campione complesso, il numero massimo di metaboliti imprevisti sarà elevato e pertanto sarà necessario aumentare questa impostazione. In genere, per elaborare i campioni di oligonucleotidi di impurità, si consiglia un'impostazione di 100. Per i campioni più complessi questo numero deve essere aumentato.</p>
<b>Mass range window (m/z)</b>	Digitare un intervallo di massa in cui trovare potenziali metaboliti.
<b>Generic LC/MS Peak Finding</b>	
<b>Perform background subtraction</b>	<p>Specifica se deve essere eseguita la sottrazione del fondo. Selezionare questa opzione per rimuovere gli ioni del fondo se il livello del fondo è elevato nel cromatogramma LC/MS.</p> <p>Questa opzione è sconsigliata per i metodi per oligonucleotidi che contengono esperimenti TOF MS e TOF MS/MS.</p>
<b>Available Adducts</b> (Metodi per molecole piccole)	
Elenco di tutti gli addotti supportati, in base all'intervallo di carica definito nel gruppo Compound Information.	
<b>Use</b>	Indica se gli addotti devono essere inclusi nella ricerca.
<b>__ adduct(s) selected</b>	(Sola lettura) Indica il numero di addotti selezionati nella colonna <b>Use</b> della tabella Available Adducts.
<b>Advanced Ion Types</b> (Metodi per ADC, peptidi e oligonucleotidi)	
<b>Use</b>	Indica se gli ioni devono essere inclusi nella ricerca.
<b>__ adduct(s) selected</b>	(Sola lettura) Indica il numero di ioni selezionati nella colonna <b>Use</b> della tabella Advanced Ion Types.

## Scheda MS/MS Parameters

Parametro	Descrizione
<b>MS/MS Finding</b>	

## Creazione di metodi di elaborazione

Parametro	Descrizione
<b>MS/MS m/z tolerance</b>	<p>Specifica un intervallo per la determinazione dei picchi nello spettro MS/MS. La tolleranza <i>m/z</i> MS/MS è la tolleranza entro cui i picchi di frammenti trovati nello spettro MS/MS devono corrispondere ai frammenti selezionati o ai valori di perdite neutre specificati nella scheda Product Ions and Neutral Losses in Compound-Specific Parameters affinché il picco precursore corrispondente possa essere considerato un metabolita potenziale.</p> <p>Per i metodi per oligonucleotidi che contengono esperimenti TOF MS/MS o IDA, si consiglia un valore di 10 mDa.</p>
<b>Minimum MS/MS peak intensity</b>	<p>Fa sì che non vengano considerati i picchi MS/MS che hanno un'intensità sotto la soglia spettrale specificata.</p> <p>Impostare il valore in base al livello di rumore negli spettri.</p>
<b>MS/MS Isotope Finding</b>	
<b>MS/MS m/z tolerance</b>	<p>Specifica un intervallo per la determinazione dei picchi nello spettro MS/MS. Affinché i picchi nello spettro MS/MS siano considerati come corrispondenze, la differenza di massa tra due picchi isotopici deve essere uguale alla differenza prevista entro questa tolleranza.</p> <p>La tolleranza MS/MS <i>m/z</i> viene utilizzata quando si elaborano i dati di acquisizione SWATH con la strategia di ricerca picchi tramite pattern isotopico selezionata (solo SWATH).</p> <p>Per i metodi per oligonucleotidi che contengono esperimenti TOF MS/MS o IDA, si consiglia un valore di 10 mDa.</p>
<b>Intensity tolerance</b>	<p>Specifica la tolleranza relativa attorno alle intensità isotopiche delle formule dei frammenti selezionate, definite nella cella <b>IP</b> selezionata nella scheda Product Ions and Neutral Losses in Compound-Specific Parameters. Per essere considerato come corrispondenza, il rapporto di intensità di due picchi deve essere uguale al rapporto previsto entro questa tolleranza. Questo parametro definisce inoltre l'isotopo più piccolo che è considerato parte del pattern. Ad esempio, se la tolleranza dell'intensità è del 10%, l'isotopo più piccolo che può contribuire al pattern di massa deve essere il 10% o più del picco definito al 100%.</p> <p><b>Intensity tolerance</b> viene utilizzata quando si elaborano i dati di acquisizione SWATH con la strategia di ricerca picchi tramite pattern isotopico selezionata (solo SWATH).</p> <p>Per i metodi per oligonucleotidi che contengono esperimenti TOF MS/MS o IDA, si consiglia un valore del 20%.</p>
<b>Source of Reference MS/MS Spectrum</b>	

Parametro	Descrizione
<b>Control</b>	Selezionare uno spettro di riferimento per il composto di interesse. Lo spettro può essere selezionato da diverse posizioni.  Lo spettro di riferimento selezionato è definito per impostazione predefinita.  Si consiglia di selezionare l'opzione <b>Selected reference spectrum</b> quando si utilizza la funzione di generazione automatica della struttura o della sequenza.
<b>Sample</b>	
<b>Selected reference spectrum</b>	
<b>MS/MS Spectrum</b>	
<b>Use advanced MS/MS filter</b>	Questo filtro è utilizzato esclusivamente per i dati di acquisizione SWATH. Gli algoritmi utilizzati da questo filtro includono PCVG, che è utilizzato per assegnare i frammenti dallo spettro MS/MS a un particolare precursore per i dati di acquisizione SWATH. Solo i frammenti che possono essere assegnati con fiducia al precursore vengono mostrati nello spettro MS/MS, a seconda della posizione del cursore ( <b>Comprehensive</b> o <b>Confident</b> ).
<b>Similarity and Fragment Interpretation</b>	
<b>MS/MS m/z tolerance</b>	Selezionare un'accuratezza della massa per confrontare lo spettro MS/MS di riferimento con lo spettro MS/MS del metabolita. Questo parametro è anche utilizzato quando vengono assegnati frammenti nella tabella Interpretation. L'accuratezza della massa dei frammenti assegnati deve essere compresa nella tolleranza <i>m/z</i> MS/MS fornita.  Per i metodi per oligonucleotidi che contengono esperimenti TOF MS/MS o IDA, si consiglia un valore di 10 ppm.
<b>Minimum signal-to-noise ratio</b>	Selezionare un rapporto minimo tra segnale e rumore indesiderato per confrontare lo spettro MS/MS di riferimento con lo spettro MS/MS del metabolita. Questo parametro è anche utilizzato quando vengono assegnati frammenti nella tabella Interpretation. Il rapporto segnale-rumore dei frammenti assegnati deve essere maggiore del rapporto segnale-rumore minimo fornito.
<b>Fragment Interpretation Options (Metodi per molecole piccole e peptidi)</b>	
<b>Number of fragment peaks selected for assignment</b>	(Metodi per molecole piccole) Specifica il numero di frammenti MS/MS che verranno selezionati per l'assegnazione. I picchi sono selezionati in base alle loro intensità (i picchi più intensi vengono selezionati per primi).
<b>Break aromatic rings</b>	(Metodi per molecole piccole) Spezza i legami che fanno parte di un anello automatico.
<b>Maximum number of bonds to break</b>	(Metodi per molecole piccole) Specifica il numero massimo di legami da spezzare quando si assegnano frammenti MS/MS per l'interpretazione.

## Creazione di metodi di elaborazione

---

Parametro	Descrizione
<b>Maximum number of C-C bonds to break</b>	(Metodi per molecole piccole) Specifica il numero massimo di legami C-C da spezzare quando si assegnano frammenti MS/MS per l'interpretazione.
<b>Fragment Types</b>	(Metodi per peptidi) Identifica il tipo di frammento. È possibile selezionare più tipi.
<b>Maximum bonds to break</b>	(Metodi per peptidi) Specifica il numero massimo di legami da spezzare.
<b>Break linkages</b>	(Metodi per peptidi) Spezza i legami nella sequenza peptidica o oligonucleotidica.

## Scheda Formula Prediction (metodi per molecole piccole e ADC)

Parametro	Descrizione
<b>Search Constraints</b>	
<b>Elements from</b> <b>Elements to</b>	Specifica l'elemento iniziale che il software utilizzerà per proporre le formule per i metaboliti potenziali.
<b>Isotope Pattern Tolerances</b>	
<b>MS m/z tolerance</b>	Dopo che il software identifica un pattern isotopico previsto teorico per una formula proposta, questo parametro limita la differenza di massa consentita tra gli isotopi durante il confronto con il modello isotopico del metabolita.
<b>Intensity tolerance</b>	Dopo che il software identifica un pattern isotopico previsto teorico per una formula proposta, questo valore limita la differenza consentita nell'intensità del picco isotopico durante il confronto con il modello isotopico del metabolita.
<b>Ranking</b>	
<b>Contribution</b>	Specifica se nei risultati devono venire fornite formule basate sullo spettro MS o basate sullo spettro MS/MS.
<b>Automatically weight MS/MS</b>	Selezionare per applicare una scala logaritmica alla ponderazione MS/MS.
<b>Rings and Double Bonds</b>	
<b>RDB from</b> <b>RDB to</b>	Identifica un intervallo di anelli e legami doppi nelle formule proposte di metaboliti potenziali.  Se il numero di anelli e legami doppi di una formula proposta non rientra nell'intervallo specificato, tale formula non verrà considerata per il metabolita.  Il valore minimo deve essere minore del valore massimo.

Parametro	Descrizione
<b>Element Ratios</b>	
<b>Oxygen/phosphorus count</b>	<p>Specifica l'intervallo di molecole ossigeno-fosforo che devono essere presenti nelle formule proposte.</p> <p>Questo parametro si applica sia alle formule MS che alle formule MS/MS.</p>
<b>Oxygen/sulphur count</b>	<p>Specifica l'intervallo di molecole ossigeno-zolfo che devono essere presenti nelle formule proposte.</p> <p>Questo parametro si applica sia alle formule MS che alle formule MS/MS.</p>

### Scheda Confirmation Scoring

Quando viene trovato un potenziale metabolita nel campione di interesse, il software assegna un punteggio di conferma che indica la probabilità che il picco trovato sia un metabolita. Il punteggio è indipendente dagli algoritmi utilizzati per trovare i metaboliti e si basa su varie proprietà.

**Nota:** per i metodi per oligonucleotidi, si consiglia un valore di 100 per **Isotope pattern** e di 0 per tutti gli altri parametri.

Parametro	Descrizione
<b>Mass defect</b>	<p>(Metodi per molecole piccole) Indica quanto strettamente il difetto di massa del metabolita corrisponde al difetto di massa del composto padre, dei potenziali metaboliti di scissione o dei metaboliti di fase II.</p> <hr/> <p><b>Nota:</b> questo attributo non viene utilizzato nel calcolo del punteggio di conferma totale per i dati di ADC, peptidi e oligonucleotidi.</p> <hr/>
<b>Isotope pattern</b>	<p>(Metodi per molecole piccole e ADC) Indica se il metabolita ha un pattern isotopico simile al composto padre. Questa proprietà ha un punteggio da 0 a 100.</p> <p>(Metodi per oligonucleotidi) Indica se il metabolita ha un pattern isotopico simile al pattern isotopico previsto. Questo parametro è molto utile per filtrare i falsi positivi. Si consiglia un valore di 100.</p>

## Creazione di metodi di elaborazione

Parametro	Descrizione
<b>MS/MS</b>	<p>Indica quanto lo spettro MS/MS è simile allo spettro di riferimento. Questa proprietà si applica solo se è disponibile uno spettro di riferimento.</p> <p>Il punteggio MS/MS ha due componenti:</p> <ul style="list-style-type: none"><li>• Quality: una misura della capacità di distinguere i picchi spettrali dal rumore di fondo.</li><li>• Similarity: il software calcola quanto lo spettro MS/MS è simile allo spettro di riferimento, includendo ioni prodotto spostati in base alle biotrasformazioni note.</li></ul> <hr/> <p><b>Nota:</b> se vengono elaborati solo dati TOF MS, impostare questo parametro su 0.</p>
<b>Mass accuracy</b>	Indica quanto il valore $m/z$ trovato è prossimo al valore $m/z$ previsto. Questa proprietà si applica solo per i metaboliti previsti.
<b>Total confirmation score</b>	(Sola lettura) Totale dei valori delle quattro proprietà.

**Suggerimento!** Immettere 0 nella tabella Scoring per ignorare una proprietà specifica nel calcolo del punteggio.

## Parametri di elaborazione specifici del composto

I parametri di elaborazione specifici del composto sono impostazioni che dipendono dal composto elaborato. Ognuna delle seguenti schede gestisce parametri specifici del composto.

### Compound-Specific Parameters

↙	↙	↘	↘
<b>Small Molecules</b>	<b>Peptides</b>	<b>Oligonucleotides</b>	<b>ADC</b>
<a href="#">Scheda Cleavage Metabolites (metodi per piccole molecole e ADC)</a>	<a href="#">Scheda Catabolites (metodi per peptidi)</a>	<a href="#">Scheda Catabolites (metodi per oligonucleotidi)</a>	<a href="#">Scheda Cleavage Metabolites (metodi per piccole molecole e ADC)</a>
<a href="#">Scheda Mass Defect (metodi per molecole piccole)</a>	<a href="#">Scheda Isotope Pattern</a>	<a href="#">Scheda Isotope Pattern</a>	<a href="#">Scheda Isotope Pattern</a>
<a href="#">Scheda Isotope Pattern</a>	<a href="#">Scheda Product Ions and Neutral Losses</a>	<a href="#">Scheda Product Ions and Neutral Losses</a>	<a href="#">Scheda Product Ions and Neutral Losses</a>

[Scheda Product Ions  
and Neutral Losses](#)[Dettagli anticorpo](#)

## Scheda Cleavage Metabolites (metodi per piccole molecole e ADC)

Identifica i metaboliti di scissione potenziali del composto padre. Il metodo deve contenere una struttura perché il software possa generare un elenco dei potenziali metaboliti di scissione.

Parametro	Descrizione
<b>Potential Compound Cleavages</b>	
<b>Maximum bonds to break</b>	Specifica il numero massimo di legami da spezzare.
<b>Break ring bonds</b>	Spezza i legami che fanno parte di un anello.
<b>Only break C-N bonds</b>	Spezza solo legami C-N.
<b>Cleavages selected</b>	Indica il numero di scissioni che sono state selezionate nella tabella delle scissioni di composti potenziali. Generato automaticamente dal software.

## Scheda Catabolites (metodi per peptidi)

Identifica le potenziali scissioni idrolitiche del composto padre. Il metodo deve contenere una sequenza peptidica perché il software possa generare un elenco dei potenziali cataboliti idrolitici.

Parametro	Descrizione
<b>Potential Hydrolytic Cleavages</b>	
<b>Max. peptide bonds to break</b>	Specifica il numero massimo di legami peptidici da spezzare.
<b>Max. cross-links to break</b>	Specifica il numero massimo di collegamenti incrociati da spezzare.
<b>Min. AA count</b>	Specifica il numero minimo di aminoacidi nel catabolita.
<b>Catabolites selected</b>	(Sola lettura) Indica il numero di cataboliti che sono stati selezionati nella tabella delle scissioni idrolitiche potenziali.

## Scheda Catabolites (metodi per oligonucleotidi)

Identifica le potenziali scissioni idrolitiche del composto padre. Il metodo deve contenere una sequenza peptidica perché il software possa generare un elenco dei potenziali cataboliti idrolitici.

## Creazione di metodi di elaborazione

---

Parametro	Descrizione
<b>Potential Hydrolytic Cleavages</b>	
<b>Max. bonds to break</b>	Specifica il numero massimo di legami che può spezzare solo lungo il backbone oligonucleotidico, inclusa la perdita di H <sub>2</sub> PO <sub>3</sub> . Per le perdite di nucleobasi e di zuccheri, fare riferimento alla sezione: <a href="#">Scheda Biotransformations</a> .
<b>Min. Nucleotides</b>	Specifica il numero minimo di nucleotidi utilizzati per generare cataboliti potenziali e scissioni idrolitiche.
<b>Include terminus n+1 sequences</b>	Specifica se cercare impurità terminali n+1.
<b>Include internal n-1 sequences</b>	Specifica se cercare impurità interne n-1.
<b>Catabolites selected</b>	(Sola lettura) Indica il numero di cataboliti che sono stati selezionati nella tabella delle scissioni idrolitiche potenziali.

## Scheda Mass Defect (metodi per molecole piccole)

Quando vengono analizzati campioni biologici complessi, questi filtri possono aiutare a rimuovere l'interferenza di fondo.

Parametro	Descrizione
<b>Mass Defect Filters</b>	
<b>Filters selected</b>	Indica il numero di filtri di difetto di massa selezionati nella tabella dei filtri di difetto di massa. Generato automaticamente dal software.
<b>Filters</b>	
<b>Parent</b>	Selezionato per impostazione predefinita.
<b>Glucuronidation</b>	Selezionato per impostazione predefinita.
<b>Bis-Glucuronidation</b>	Selezionato per impostazione predefinita.
<b>Glutathione</b>	Selezionato per impostazione predefinita.
<b>Sulphate</b>	Selezionato per impostazione predefinita.

## Scheda Isotope Pattern

Parametro	Descrizione
<b>Isotope Pattern</b>	<p>Mostra una rappresentazione grafica delle informazioni elencate nella tabella Isotopes.</p> <p>(Metodi per oligonucleotidi) Mostra una rappresentazione grafica della distribuzione isotopica per l'oligonucleotide, a uno stato di carica specificato. Per modificare lo stato di carica, selezionare un <b>Ion type</b> diverso in Compound Information.</p>
<b>Isotopic Enrichment</b>	<p>Specifica l'arricchimento isotopico di un atomo che verrà utilizzato nella formula del composto padre.</p> <hr/> <p><b>Nota:</b> per aggiungere un elemento isotopo per i metodi per ADC o molecole piccole, importare il file mol che contiene l'isotopo.</p> <hr/> <p><b>Nota:</b> per modificare l'arricchimento isotopico per le formule di peptidi e oligonucleotidi con atomi arricchiti, fare riferimento alla sezione: <a href="#">Modifica dell'arricchimento isotopico per le formule di peptidi e oligonucleotidi</a>.</p> <hr/>
<b>Isotopes</b>	Mostra gli isotopi più intensi, in base alla formula e all'arricchimento isotopico, se applicabile, del composto padre.
<b>Isotope Pattern Intensity Cutoff for Metabolite XICs (%)</b>	(Metodi per oligonucleotidi) Specifica il valore limite, in intensità percentuale, che viene applicato durante il calcolo dell'area del picco per i singoli isotopi considerati per l'estrazione XIC. Gli isotopi con intensità inferiori al limite sono visualizzati in rosso nella tabella.

## Scheda Product Ions and Neutral Losses

Parametro	Descrizione
<b>Reference MS/MS Spectrum</b>	<p>Identifica uno spettro da utilizzare quando si selezionano gli ioni prodotto e le perdite neutre di cui si desidera verificare la corrispondenza in base al MS/MS dei metaboliti potenziali. L'origine migliore è un file di dati per un campione acquisito in condizioni simili al campione di interesse.</p> <p>Lo spettro può essere selezionato da una delle due posizioni seguenti:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• File wiff</li> <li>• Libreria composti</li> </ul>
<b>Filters</b>	
<b>m/z From __ to __</b>	Definisce l'intervallo di massa che viene considerato quando si compila la tabella di ioni prodotto e perdite neutre. Solo i frammenti compresi nell'intervallo selezionato vengono mostrati nella tabella di ioni prodotto e perdite neutre.

## Creazione di metodi di elaborazione

---

Parametro	Descrizione
<b>Charge state</b> <b>From ___ to ___</b>	Definisce l'intervallo di stato di carica che viene considerato quando si compila la tabella di ioni prodotto e perdite neutre. Solo i frammenti con le cariche comprese nell'intervallo selezionato vengono mostrati nella tabella di ioni prodotto e perdite neutre.
<b>Only show product ions above (%)</b>	Definisce la soglia minima per gli ioni prodotto da includere nella tabella di ioni prodotto e perdite neutre. Fa sì che non vengano considerati gli ioni prodotto inferiori all'intensità specificata.
<b>Mass accuracy within (mDa)</b>	Solo i frammenti con accuratezze della massa comprese nel valore specificato vengono mostrati nella tabella di ioni prodotto e perdite neutre.
<b>Add product ions, neutral losses from Phase II metabolites</b>	(Metodi per molecole piccole e ADC) Include gli ioni prodotto e le perdite neutre dei metaboliti della fase II nella tabella di ioni prodotto e perdite neutre.

---

**Nota:** dopo aver apportato le modifiche ai filtri necessarie, fare clic su **Assign Fragments** per aggiornare la tabella di ioni prodotto e perdite neutre.

---

## Dettagli anticorpo

---

**Nota:** questi parametri specifici del composto sono applicabili solo ai metodi per ADC.

---

Parametro	Descrizione
<b>Protein Sequence</b>	Sequenza proteica dell'anticorpo.
<b>Enzyme</b>	Enzima da utilizzare per digerire la proteina.
<b>Break disulfide bonds</b>	I legami di disolfuro vengono spezzati quando questa casella di controllo è selezionata.
<b>Site of conjugation</b>	Aminoacido nell'anticorpo con cui la molecola del farmaco può essere coniugata.
<b>Type of conjugation</b>	Processo chimico coinvolto nella coniugazione della molecola del farmaco con l'anticorpo.
<b>Max. AA count</b>	Numero massimo di aminoacidi da considerare come frammenti potenziali dopo la digestione.
<b>Selected fragments</b>	Generato automaticamente dal software. Indica il numero di frammenti selezionati nella tabella.

## Modifica dell'arricchimento isotopico per le formule di peptidi e oligonucleotidi

### Prerequisito

È necessario creare un aminoacido personalizzato, con o senza una modificazione dell'aminoacido personalizzata. Fare riferimento alle sezioni: [Creazione di un aminoacido personalizzato](#) e [Creazione di una modificazione di aminoacido personalizzata](#). L'aminoacido personalizzato o la modificazione dell'aminoacido personalizzata deve contenere almeno un isotopo arricchito.

1. Nel pannello Workflow fare clic su **Processing Parameters**. Viene visualizzata l'area di lavoro Processing Parameters.

2. Fare clic su **New > Peptides** o **New > Oligonucleotide**

---

**Nota:** in alternativa, selezionare una voce dalla libreria composti da inserire nella sequenza.

---

3. Immettere il nome del composto per l'aminoacido o l'oligonucleotide personalizzato nel campo **Compound name**.
4. In **Sequence** immettere le informazioni sulla sequenza per l'aminoacido o l'oligonucleotide personalizzato. La sequenza deve includere almeno un isotopo arricchito.
5. Fare clic nel campo **Chemical formula**.

Il campo **Chemical formula** e il valore **m/z** vengono compilati con le informazioni relative all'aminoacido personalizzato.

---

**Suggerimento!** Sopra la sequenza viene visualizzata un'icona ⓘ. Posizionare il cursore del mouse sopra l'icona per visualizzare **Symbol** e **Residue Formula** dell'aminoacido personalizzato utilizzato.

---

6. Fare clic su **Compound-Specific Parameters > Isotope Pattern**. Nella tabella Isotopic Enrichment, la formula del residuo dell'aminoacido personalizzato viene riportata nella colonna **Element** e **100** è indicato nella colonna **Enrichment %**.
7. Modificare il valore **Enrichment %** in base alle necessità.
8. Fare clic su **Save and Close**.

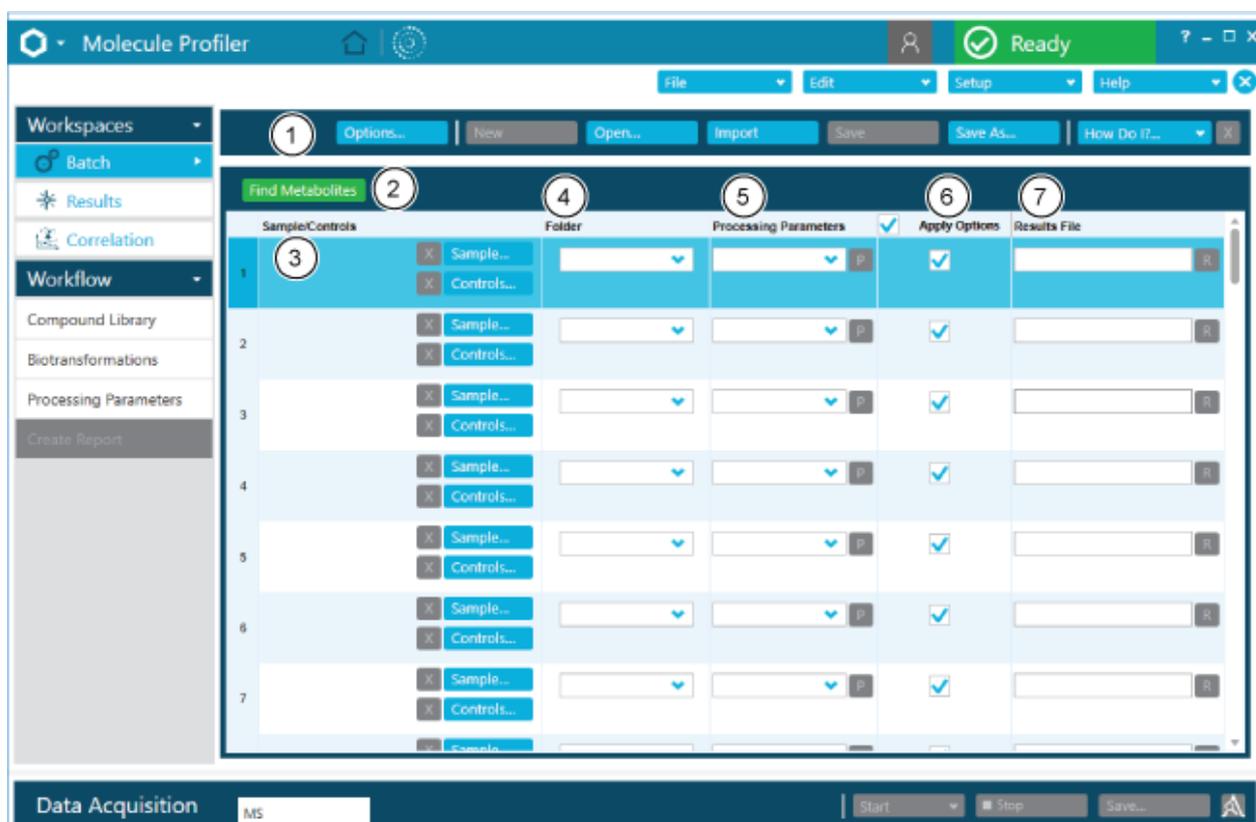
L'area di lavoro Batch viene utilizzata per elaborare contemporaneamente più file di campioni. La tabella Batch può essere completata manualmente, in alternativa è possibile importare un lotto esistente per compilare la tabella.

1. Per preparare manualmente un lotto, continuare con la sezione: [Creazione di un lotto](#).
2. Per aprire un lotto esistente, continuare con la sezione: [Apertura di un lotto](#).
3. Per importare un lotto esistente, continuare con la sezione: [Importazione di un lotto](#).

## Informazioni sull'area di lavoro Batch

Utilizzare l'area di lavoro Batch per creare lotti di campione per l'elaborazione.

Figura 6-1: Area di lavoro Batch



Elemento	Descrizione
1	<p>Barra dei menu. Contiene i seguenti pulsanti:</p> <ul style="list-style-type: none"><li>• <b>Options</b>: apre la finestra di dialogo Batch Processing Options in cui l'utente può specificare le opzioni relative al lotto. Fare riferimento alla sezione: <a href="#">Opzioni di elaborazione del lotto</a>.</li><li>• <b>New</b>: fare clic per salvare il lotto. Disponibile solo dopo che viene aggiunto un campione nel campo <b>Sample/Controls</b>.</li><li>• <b>Open</b>: apre la finestra di dialogo Open Processing Batch in cui l'utente può selezionare un lotto esistente da aprire. Fare riferimento alla sezione: <a href="#">Apertura di un lotto</a>.</li><li>• <b>Import</b>: apre la finestra di dialogo Batch Importer in cui l'utente può selezionare un file di Excel da importare. Fare riferimento alla sezione: <a href="#">Importazione di un lotto</a>.</li><li>• <b>Save</b>: salva il file di lotto attualmente aperto. Sostituisce automaticamente la versione esistente. Disponibile solo dopo la modifica delle informazioni sul lotto.</li><li>• <b>Save As</b>: salva il file di lotto attualmente aperto. Gli utenti possono assegnare un nuovo nome al file di lotto.</li></ul>
2	<p>Pulsante <b>Find Metabolites</b>. Avvia l'elaborazione del lotto.</p>
3	<p>Colonna <b>Sample/Controls</b>. Il pulsante <b>Sample</b> apre la finestra di dialogo Select Data in cui l'utente può selezionare il campione di interesse. Il pulsante <b>Controls</b> apre la finestra di dialogo Select Data in cui l'utente può selezionare il campione di controllo corrispondente. È possibile selezionare un massimo di cinque controlli per campione.</p>
4	<p>Colonna <b>Folder</b>. Fornisce un elenco di posizioni di cartelle in cui vengono archiviati parametri di elaborazione e risultati.</p>
5	<p>Colonna <b>Processing Parameters</b>. Fornisce un elenco di parametri di elaborazione che possono essere utilizzati per elaborare il campione di interesse. Solo i parametri di elaborazione archiviati nella cartella (<b>Folder</b>) selezionata sono disponibili per la selezione.</p>

Elemento	Descrizione
6	<p>Colonna <b>Apply Options</b>. Selezionata per impostazione predefinita. Quando è selezionata, applica tutte le opzioni Auto Assign e Report scelte nella finestra di dialogo Batch Processing Options ai campioni e ai campioni di controllo nel lotto. Le opzioni includono:</p> <ul style="list-style-type: none"><li>• Deselezionare la casella di controllo <b>Apply Options</b> per deselezionare tutte le caselle di controllo selezionate.</li><li>• Deselezionare caselle di controllo dei campioni specifiche</li><li>• Selezionare caselle di controllo dei campioni specifiche.</li></ul> <p>Fare riferimento alla sezione: <a href="#">Opzioni di elaborazione del lotto</a>.</p> <hr/> <p><b>Nota:</b> le opzioni Auto Assign non sono applicabili al flusso di lavoro degli oligonucleotidi.</p> <hr/>
7	Colonna <b>Results File</b> . Nome specificato dall'utente per il file Results.

## Specifica delle opzioni del lotto

Fare riferimento alla sezione: [Opzioni di elaborazione del lotto](#).

1. Nel pannello Workspace fare clic su **Batch**.  
Viene visualizzata l'area di lavoro Batch.
2. Fare clic su **Options**.  
Viene visualizzata la finestra di dialogo Batch Processing Options.
3. (Flussi di lavoro per molecole piccole, peptidi e ADC) Nella scheda Auto Assign:
  - Selezionare la casella di controllo per ogni opzione applicabile.
  - Immettere il valore appropriato per ogni opzione selezionata.
4. Nella scheda Report:
  - Selezionare la casella di controllo per ogni opzione applicabile.
  - Immettere il valore appropriato per ogni opzione selezionata.
5. Fare clic su **OK**.  
Le opzioni del lotto verranno salvate con il lotto.

## Opzioni di elaborazione del lotto

Opzione	Descrizione
<b>Auto Assign</b>	
<p><b>Nota:</b> le opzioni Auto Assign sono indipendenti l'una dall'altra. Sono considerate condizioni "or". Una o più delle opzioni selezionate devono soddisfare i criteri specificati.</p>	
<p><b>Nota:</b> le opzioni Auto Assign non sono applicate ai campioni di oligonucleotidi.</p>	
<b>Assign Structures or Sequences</b>	<p>Propone strutture o sequenze potenziali per i metaboliti che soddisfano i criteri dell'opzione selezionata. Dipende dal tipo di dati e dai parametri di elaborazione utilizzati (ossia se si tratta di una molecola piccola o di un peptide).</p> <p><b>Nota:</b> è possibile selezionare più opzioni.</p>
<b>Metabolites with peak areas above (%)</b>	Propone strutture o sequenze potenziali per i metaboliti con area di picco XIC superiore al valore specificato.
<b>Metabolites with analog peak areas above (%)</b>	Propone strutture o sequenze potenziali per i metaboliti con area di picco analogico superiore al valore specificato.
<b>Metabolites with MS/MS quality above</b>	<p>Propone strutture o sequenze per i metaboliti che hanno una qualità MS/MS superiore al valore specificato.</p> <p>Questa opzione non è applicabile ai flussi di lavoro degli oligonucleotidi.</p>
<b>Report</b>	
<p><b>Nota:</b> le opzioni dei report dipendono l'una dall'altra. Sono considerate condizioni "and". Tutte le opzioni selezionate devono soddisfare i criteri specificati.</p>	
<b>Report metabolites with assigned structures or sequences</b>	Mostra un segno di spunta nella colonna <b>Report</b> della tabella Potential Metabolites per qualsiasi metabolita a cui è assegnata una struttura o una sequenza.
<b>Report metabolites with peak areas above (%)</b>	Mostra un segno di spunta nella colonna <b>Report</b> della tabella Potential Metabolites per qualsiasi metabolita che ha un'area del picco superiore al valore specificato.
<b>Report metabolites with analog peak areas above (%)</b>	Mostra un segno di spunta nella colonna <b>Report</b> della tabella Potential Metabolites per qualsiasi metabolita che ha un'area del picco analogico superiore al valore specificato.
<b>Report metabolites with scores above (%)</b>	Mostra un segno di spunta nella colonna <b>Report</b> della tabella Potential Metabolites per qualsiasi metabolita che ha un punteggio superiore al valore specificato.

## Creazione di un lotto

---

**Nota:** è possibile elaborare un solo campione in ogni riga. È possibile selezionare un massimo di cinque controlli per ogni campione. Tuttavia, i controlli non sono richiesti per l'elaborazione.

---

1. Nel pannello Workspace fare clic su **Batch**.  
Viene visualizzata l'area di lavoro Batch.

---

**Suggerimento!** Selezionare l'opzione **Open** per recuperare il file del lotto salvato. Fare riferimento alla sezione: [Apertura di un lotto](#).

---

2. Aggiungere un campione MS attendendosi alla seguente procedura:
  - a. Nella prima riga disponibile del lotto, fare clic su **Sample**.  
Viene visualizzata la finestra di dialogo Select Data.
  - b. Fare clic su **Browse**, quindi spostarsi sulla cartella di origine appropriata.
  - c. Selezionare il file wiff e l'iniezione contenente il campione di interesse nel campo **Available** e fare clic su **>>**.  
Le informazioni sul campione vengono visualizzate nel campo **Selected**.
3. (Facoltativo) Aggiungere un campione analogico attendendosi alla seguente procedura:

---

**Suggerimento!** Se sono stati acquisiti dati analogici, selezionare la casella di controllo **Use analog data** per aggiungere automaticamente i dati analogici quando si aggiunge il campione MS.

---

- a. Nella prima riga disponibile del lotto, fare clic su **Use analog data**.
  - b. Aprire la scheda Analog Sample.
  - c. Fare clic su **Browse**, quindi spostarsi sulla cartella di origine appropriata.
  - d. Selezionare il campione analogico nel campo **Available** e quindi fare clic su **>>**.  
Le informazioni sul campione vengono visualizzate nel campo **Selected**.
4. Fare clic su **OK**.  
Il campo **Sample/Controls** della riga selezionata nella tabella Batch viene compilato con le informazioni sul campione.
  5. (Facoltativo) Aggiungere un controllo MS attendendosi alla seguente procedura:
    - a. Nella prima riga disponibile del lotto, fare clic su **Control**.  
Viene visualizzata la finestra di dialogo Select Data.
    - b. Fare clic su **Browse**, quindi spostarsi sulla cartella di origine appropriata.
    - c. Selezionare il file wiff e l'iniezione contenente il controllo nel campo **Available** e fare clic su **>>**.  
Le informazioni sul campione vengono visualizzate nel campo **Selected**.
    - d. Continuare con il passaggio seguente per aggiungere un controllo analogico, oppure fare clic su **OK** per chiudere questa finestra di dialogo.

6. (Facoltativo) Aggiungere un controllo analogico attendendosi alla seguente procedura:
  - a. Nella prima riga disponibile del lotto, fare clic su **Use analog data**.
  - b. Aprire la scheda Analog Sample.
  - c. Fare clic su **Browse**, quindi spostarsi sulla cartella di origine appropriata.
  - d. Selezionare il campione analogico nel campo **Available** e quindi fare clic su **>>**.  
Le informazioni sul campione vengono visualizzate nel campo **Selected**.
  - e. Fare clic su **OK**.  
Il campo **Sample/Controls** della riga selezionata nella tabella Batch viene compilato con le informazioni sul campione.
7. Nella colonna **Folder** selezionare la cartella in cui verranno salvati i parametri di elaborazione e i file Results.
8. Nella colonna **Processing Parameters** selezionare un file dei parametri di elaborazione.

---

**Suggerimento!** Per visualizzare il file dei parametri di elaborazione, fare clic su **P**.  
Modificare i parametri come necessario, quindi fare clic su **Save and Close** per salvarli.

---

9. Nella colonna **Results File** immettere il nome del file in cui verranno archiviati i risultati.
10. Ripetere i passaggi da **2** a **9** per ogni riga nel lotto.

---

**Nota:** il numero massimo di righe che è possibile elaborare in un lotto è 200.

---

---

**Suggerimento!** Per facilitare la creazione del lotto, è possibile copiare e incollare le righe oppure eliminarle. Fare riferimento alle sezioni: [Copiare e incollare una riga del lotto](#) o [Cancellazione di una riga del lotto](#).

---

## Copiare e incollare una riga del lotto

Utilizzare le opzioni di copia e incolla per modificare un lotto.

1. Nella tabella Batch, selezionare la riga da copiare.
2. Fare clic con il pulsante destro del mouse e selezionare **Copy Batch Row**.
3. Selezionare la riga di destinazione in cui incollare le informazioni.
4. Fare clic con il pulsante destro del mouse e selezionare **Paste Batch Row**.

---

**Nota:** le eventuali informazioni presenti nella riga di destinazione verranno sovrascritte.

---

## Cancellazione di una riga del lotto

Quando si crea un lotto è possibile cancellare righe di informazioni sui campioni.

1. Nella tabella Batch, selezionare la riga da cancellare.
2. Fare clic con il pulsante destro del mouse e selezionare **Clear Batch Row**.  
Tutti i dati vengono rimossi dalla riga selezionata.

## Apertura di un lotto

1. Nel pannello Workspace fare clic su **Batch**.  
Viene visualizzata l'area di lavoro Batch.
2. Fare clic su **Open**.  
Viene visualizzata la finestra di dialogo Open Processing Batch.
3. Selezionare il file del lotto e fare clic su **OK**.
4. Eseguire una delle seguenti operazioni:
  - Se il lotto è completo, continuare con la sezione: [Invio di un lotto](#).
  - Se il lotto è incompleto, continuare con la sezione: [Creazione di un lotto](#).

## Importazione di un lotto

1. Nel pannello Workspace fare clic su **Batch**.
2. Fare clic su **Import**.  
Viene visualizzata la finestra di dialogo Batch Importer.
3. Fare clic su **Browse**.  
Viene visualizzata la finestra di dialogo Open excel file.
4. Spostarsi sul file Excel appropriato e selezionarlo.

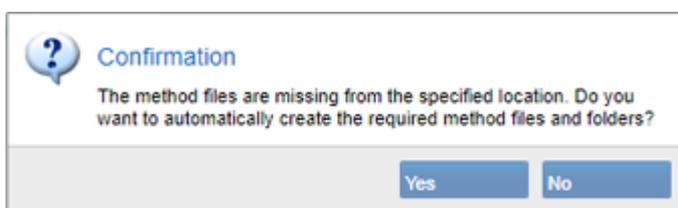
---

**Nota:** il file Excel deve essere creato utilizzando il modello di esempio (BatchImportTemplate.xlsx) distribuito con il software. Durante l'installazione, il modello viene installato nella seguente posizione: cartella  
C:\ProgramData\SCIEX\Molecole Profiler\Batch Import Templates.

---

5. Fare clic su **Open**.  
Il campo **Target batch file** viene compilato con il nome del file Excel importato. Queste informazioni possono essere modificate, se necessario.
6. Eseguire una delle seguenti operazioni:
  - Per convertire il file Excel selezionato in un lotto del software Molecole Profiler e aprire il lotto nell'area di lavoro Batch, fare clic su **Convert and Open** e continuare con il passaggio 7.
  - Per convertire il file Excel selezionato in un lotto del software Molecole Profiler che potrà essere aperto nell'area di lavoro Batch successivamente, fare clic su **Convert** e continuare con il passaggio 7.
  - Per annullare l'importazione, fare clic su **Close**.
7. Eseguire una delle seguenti operazioni:
  - Se si è selezionata l'opzione **Convert and Open** e tutti i parametri di elaborazione (file del metodo) e le cartelle indicati nel file Excel sono memorizzati nelle posizioni corrette, continuare con la sezione: [Invio di un lotto](#).

- Se si è selezionata l'opzione **Convert** e tutti i parametri di elaborazione (file del metodo) e le cartelle indicati nel file Excel sono memorizzati nelle posizioni corrette, continuare con la sezione: [Salvataggio di un lotto](#).
- Se si è selezionata l'opzione **Convert and Open** o l'opzione **Convert** e viene visualizzata una finestra di dialogo di conferma, continuare con il passaggio 8.

**Figura 6-2: Finestra di dialogo Confirmation**

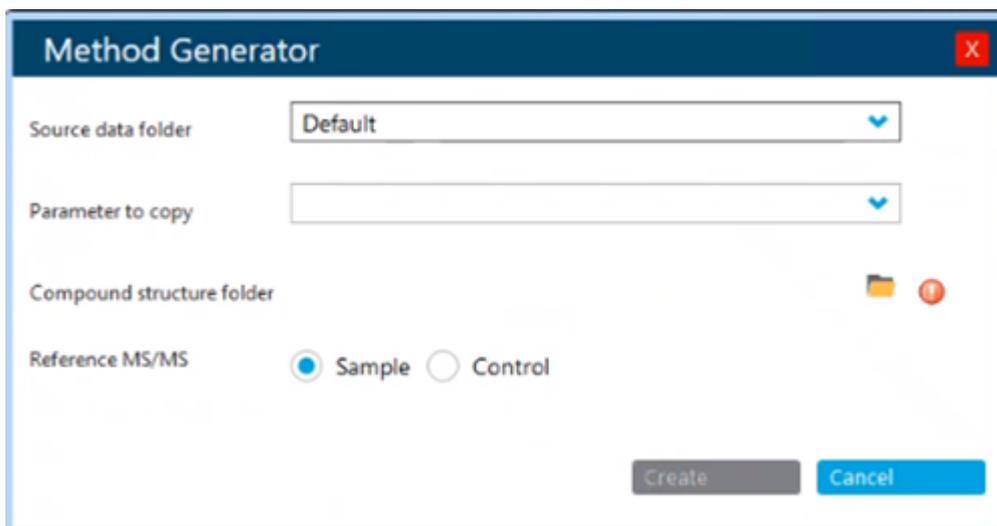
8. Eseguire una delle seguenti operazioni:
  - (Flusso di lavoro di molecole piccole) Per creare automaticamente i file del metodo richiesti, continuare con il passaggio 9.

---

**Nota:** non è possibile utilizzare Method Generator con i flussi di lavoro di peptidi, oligonucleotidi o ADC.

---

- Per creare manualmente i file del metodo richiesti, fare clic su **No** e annullare l'importazione. Continuare con la sezione: [Creazione di metodi di elaborazione](#).
9. Fare clic su **Yes**.

**Figura 6-3: Finestra di dialogo Method Generator**

10. Selezionare la cartella appropriata dall'elenco **Source data folder**.
11. Selezionare il file del metodo appropriato dall'elenco **Parameters to copy**.

## Ricerca di molecole potenziali

---

12. Fare clic sull'icona della cartella a destra del campo **Compound structure folder**, quindi spostarsi sulla cartella che contiene le strutture precursore dei parametri di elaborazione.
13. Eseguire una delle seguenti operazioni:
  - Fare clic su **Sample** se il file wiff del campione contiene l'MS/MS di riferimento.
  - Fare clic su **Control** se il file wiff del controllo contiene l'MS/MS di riferimento.
14. Fare clic su **Create**.  
I parametri di elaborazione e le eventuali cartelle mancanti vengono creati e archiviati nella posizione specificata nel foglio di calcolo di Excel.
15. Eseguire una delle seguenti operazioni:
  - Se si è selezionata l'opzione **Convert and Open**, continuare con la sezione: [Invio di un lotto](#).
  - Se si è selezionata l'opzione **Convert**, continuare con la sezione: [Salvataggio di un lotto](#).

## Salvataggio di un lotto

Le informazioni aggiunte alla tabella nell'area di lavoro Batch possono essere salvate per l'uso successivo.

1. Per salvare un lotto utilizzando lo stesso nome file, fare clic su **Save**.
2. Per creare un lotto utilizzando un nome diverso, fare clic su **Save As**.  
Viene visualizzata la finestra di dialogo Save Processing Batch As.
3. Immettere un nome univoco in **Name**, quindi fare clic su **OK**.

## Invio di un lotto

Dopo che il lotto è stato preparato e che sono state specificate le opzioni relative, il lotto viene inviato per l'elaborazione dei dati.

---

**Nota:** se necessario, è possibile modificare i parametri di elaborazione per un campione di interesse prima di inviare il lotto.

---

1. (Facoltativo) Per visualizzare i parametri di elaborazione per un campione, effettuare la seguente procedura:
  - a. Selezionare la riga che contiene il campione di interesse, quindi fare clic sulla **P** a destra del campo **Processing Parameters**.  
Vengono visualizzati i parametri di elaborazione associati al campione selezionato.
  - b. Apportare le modifiche necessarie, quindi fare clic su **Save and Close**.  
Viene visualizzata l'area di lavoro Batch.
2. Fare clic su **Save As**.  
Viene visualizzata la finestra di dialogo Save Processing Batch As.
3. Immettere un nome univoco in **Name**, quindi fare clic su **OK**.

4. Fare clic su **Find Metabolites**.

L'elaborazione del lotto viene avviata. Una barra di avanzamento mostra lo stato dell'elaborazione. Durante l'elaborazione, l'opzione **P** è disabilitata per impedire la modifica dei parametri. Al termine dell'elaborazione della riga, la **P** a destra del campo **Processing Parameters** e la **R** a destra del campo **Results File** sono disponibili.

5. Fare clic sulla **R** per aprire il file Results nell'area di lavoro Results.

---

**Nota:** le eventuali opzioni Auto Assign e Report selezionate nella finestra di dialogo Batch Processing Options vengono completate dal software.

---

6. (Facoltativo) Completare il passaggio 1 per salvare i parametri di elaborazione aggiornati.

7. Fare clic su **Save**.

---

**Suggerimento!** Fare clic su **Save As** per salvare il batch con un nome diverso.

---

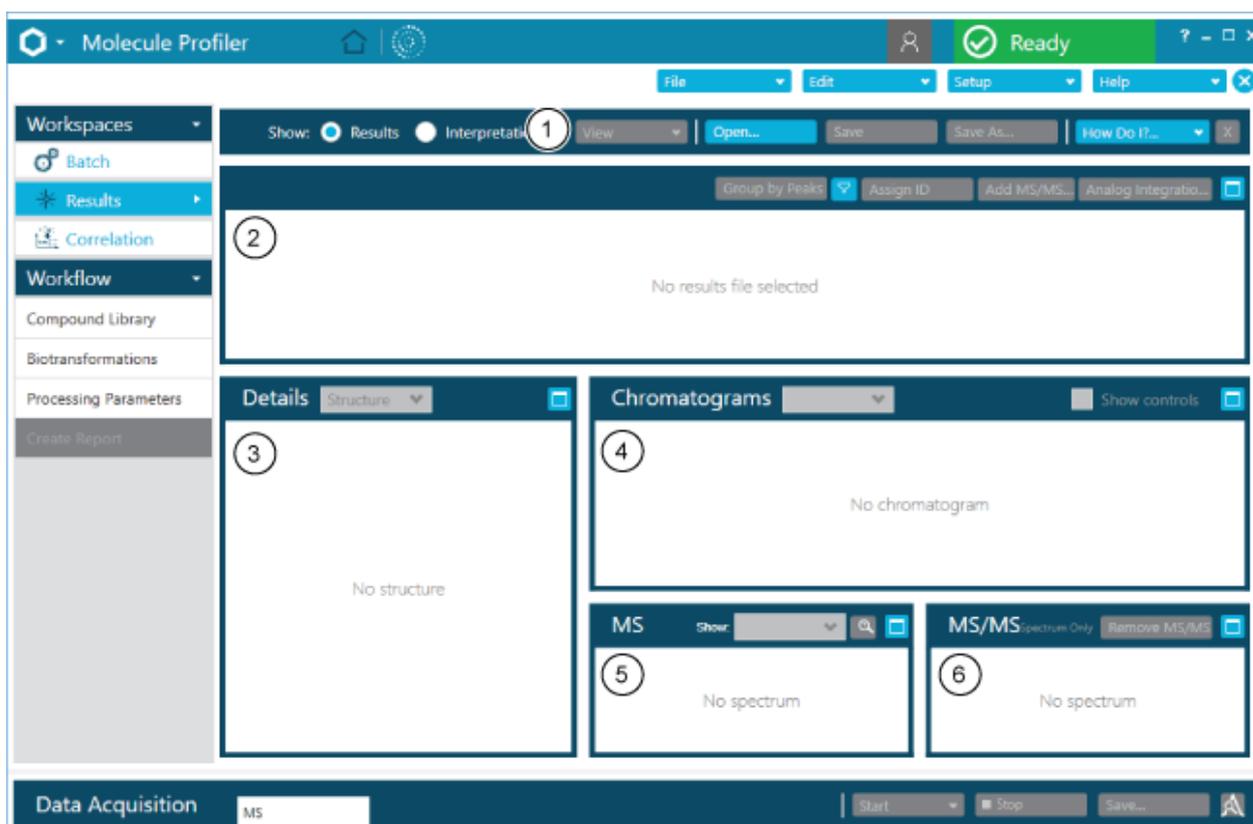
Utilizzare l'area di lavoro Results per visualizzare i risultati della ricerca di metaboliti potenziali in un campione di interesse.

1. Nel pannello Workspace fare clic su **Results**.  
Viene visualizzata l'area di lavoro Results.
2. Fare clic su **Open**.  
Viene visualizzata la finestra di dialogo Open Results.
3. Spostarsi sul file appropriato e selezionarlo.
4. Fare clic su **OK**.  
Viene visualizzata la vista Results.

## Informazioni sull'area di lavoro Results

Dopo che il software elabora i dati, utilizzare l'area di lavoro Results per visualizzare l'elenco dei metaboliti potenziali.

Figura 7-1: Area di lavoro Results



Elemento	Descrizione
1	<p>Barra dei menu. Contiene i seguenti pulsanti:</p> <ul style="list-style-type: none"><li>• <b>View</b><ul style="list-style-type: none"><li>• <b>Processing Parameters</b>: mostra i parametri di elaborazione per i risultati.</li><li>• <b>Batch Options</b>: mostra le opzioni di elaborazione lotto per i risultati.</li><li>• <b>Sample Details</b>: mostra informazioni dettagliate sul campione.</li></ul></li><li>• <b>Open</b>: apre la finestra di dialogo Open Results in cui gli utenti possono spostarsi sul file Results appropriato.</li><li>• <b>Save</b>: salva il file Results attualmente aperto. Sostituisce automaticamente la versione esistente.</li><li>• <b>Save As</b>: salva il file Results attualmente aperto. Gli utenti possono selezionare la cartella di destinazione e assegnare un nuovo nome al file Results.</li></ul>
2	<p>Riquadro Potential Metabolites. Elenca tutti i picchi trovati dagli algoritmi selezionati nel campione di interesse. Fare riferimento alla sezione: <a href="#">Informazioni sulle strategie di ricerca picchi</a>.</p> <p>Modificare i risultati eliminando le righe che non contengono metaboliti potenziali, modificando il nome e la formula, aggiungendo spettri MS/MS e assegnando ID dei picchi. Fare riferimento alla sezione: <a href="#">Modifica dei risultati</a>.</p> <p>Per una descrizione delle colonne nella tabella Potential Metabolites, fare riferimento alla sezione: <a href="#">Tabella 7-1</a>.</p> <hr/> <p><b>Nota:</b> i filtri predefiniti potrebbero incidere sui metaboliti potenziali mostrati nell'elenco. Fare riferimento alla tabella: <a href="#">Informazioni sui filtri dei risultati</a>.</p> <hr/>

## Visualizzazione dei risultati

---

Elemento	Descrizione
3	<p>Riquadro Details. Fornisce informazioni su come è stato assegnato il punteggio del metabolita potenziale. Per ogni proprietà nel metodo di elaborazione, <b>Scoring</b> elenca il punteggio per il singolo metabolita nonché il punteggio totale per tutti i metaboliti. Fare riferimento alla sezione: <a href="#">Scheda Confirmation Scoring</a>. Vengono mostrati i punteggi per <b>Mass Defect</b> (disabilitato per gli oligonucleotidi), <b>Isotope Pattern</b>, <b>MS/MS</b>, <b>Mass Accuracy</b> e <b>Total confirmation score</b>.</p> <p>Per i risultati delle molecole piccole, l'elenco <b>Structure</b> mostra la struttura disponibile.</p> <p>Per i risultati ADC, l'elenco <b>Structure</b> mostra sia la struttura disponibile che la sequenza disponibile.</p> <p>Per i risultati dei peptidi, l'elenco <b>Sequence</b> mostra la sequenza disponibile.</p> <p>Per i risultati degli oligonucleotidi, l'elenco <b>Sequence</b> mostra la sequenza di oligonucleotidi per il metabolita selezionato, determinata dall'assegnazione MS/MS nella vista Interpretation. Se non è stata effettuata alcuna assegnazione, questo campo è vuoto.</p>

Elemento	Descrizione
4	<p>Riquadro Chromatograms. Consente all'utente di visualizzare diversi cromatogrammi per il metabolita potenziale trovato:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Metabolites:</b> mostra la somma di tutti i picchi di metaboliti attualmente trovati. Vengono visualizzati tutti i principali picchi cromatografici, con i loro tempi di ritenzione e ID picco. Il picco del metabolita selezionato e gli eventuali altri picchi con eluizione allo stesso tempo di ritenzione sono gialli.</li> <li>• <b>XIC:</b> mostra un cromatogramma ioni estratti (XIC) per il metabolita selezionato. Gli isotopi selezionati per l'estrazione XIC sono etichettati all'inizio del grafico.</li> <li>• <b>Mass Defect:</b> mostra i cromatogrammi di difetto di massa utilizzati per identificare il metabolita selezionato. È specifico solo per i dati delle molecole piccole.</li> <li>• <b>Isotope Pattern:</b> mostra un cromatogramma di tutti i picchi con pattern isotopici corrispondenti al composto padre.</li> <li>• <b>Product Ions:</b> mostra un cromatogramma di tutti i picchi con ioni frammento corrispondenti ai frammenti selezionati nella scheda Product Ion and Neutral Losses.</li> <li>• <b>Neutral Losses:</b> mostra un cromatogramma di tutti i picchi con perdite neutre corrispondenti alle perdite neutre selezionate nella scheda Product Ion and Neutral Losses.</li> <li>• <b>Isotope Pattern (dati di acquisizione SWATH):</b> mostra un cromatogramma di tutti i picchi con pattern isotopico frammento corrispondente ai pattern isotopici frammento selezionati nella scheda Product Ion and Neutral Losses.</li> <li>• <b>Analog Data:</b> mostra un cromatogramma analogico di tutti i picchi. L'etichetta di un picco indica gli ID picco corrispondenti sia per il picco analogico che per il picco MS corrispondente.</li> </ul> <hr/> <p><b>Nota:</b> i cromatogrammi <b>Mass Defect</b>, <b>Isotope Pattern</b>, <b>Product Ions</b>, <b>Neutral Losses</b> e <b>Isotope Pattern (acquisizione di dati SWATH)</b> sono disponibili solo se questi algoritmi sono stati selezionati per l'elaborazione. Inoltre, se sono stati elaborati dati analogici, come definito nel metodo di elaborazione, il cromatogramma <b>Analog Data</b> è disponibile nell'elenco <b>Chromatograms</b>.</p> <hr/> <p><b>Nota:</b> nei flussi di lavoro degli oligonucleotidi, sono disponibili solo le viste <b>Metabolites</b>, <b>XIC</b> e <b>Analog Data</b>.</p>

## Visualizzazione dei risultati

Elemento	Descrizione
	<p><b>Nota:</b> se a casella di controllo <b>Show Controls</b> è selezionata, sia il cromatogramma <b>XIC</b> che il cromatogramma <b>Analog Data</b>, se applicabile, mostrano le tracce di controllo.</p>
5	<p>Riquadro MS. Mostra lo spettro MS. Le opzioni nell'elenco <b>Show</b> selezionano i picchi da evidenziare:</p> <ul style="list-style-type: none"><li>• <b>Default:</b> mostra una porzione dell'MS campione, centrato sul valore <math>m/z</math> del metabolita selezionato.</li><li>• <b>Mass Defect:</b> evidenzia tutti i valori <math>m/z</math> corrispondenti a qualsiasi filtro difetto di massa selezionato nel metodo di elaborazione. È specifico solo per i dati delle molecole piccole.</li><li>• <b>Isotope Pattern:</b> evidenzia tutti i valori <math>m/z</math> che hanno lo stesso pattern isotopico del composto padre.</li></ul> <p>Per i flussi di lavoro degli oligonucleotidi, le tracce <b>Predicted Isotope Pattern</b> e <b>Charge Series</b> sono sovrapposte per impostazione predefinita. La vista predefinita dello spettro TOF MS centroide per i metaboliti selezionati. Il picco monoisotopico è etichettato con la carica prevista e una freccia blu ne indica la posizione. Le frecce rosse sull'asse <math>m/z</math> indicano singoli isotopi selezionati per l'estrazione XIC e la determinazione dell'area. Un envelope isotopico teorico si sovrappone ai picchi centroidi per fornire una valutazione di corrispondenza dei dati osservati. Per impostare lo spettro sull'intero intervallo, fare doppio clic sotto l'asse <math>m/z</math>. Per visualizzare la posizione prevista degli stati di carica aggiuntivi per il metabolita selezionato, effettuare panoramica e zoom facendo clic con il pulsante sinistro e trascinando sull'asse <math>m/z</math>.</p>
6	<p>Riquadro MS/MS. Mostra uno spettro MS/MS per il metabolita selezionato. L'origine di questi dati è una delle seguenti:</p> <ul style="list-style-type: none"><li>• Il file wiff IDA del campione.</li><li>• Il file wiff di acquisizione SWATH del campione.</li><li>• Il file wiff MS/MS dedicato aggiunto al file Results. Fare riferimento alla sezione: <a href="#">Aggiunta di più spettri con il pulsante Add MS/MS</a>.</li></ul> <p>Per gli oligonucleotidi, i picchi degli ioni prodotto comuni corrispondenti allo spettro MS/MS di riferimento selezionato nei parametri di elaborazione sono gialli. I picchi degli ioni prodotto non corrispondenti sono blu.</p>

Tabella 7-1: Colonne della tabella Potential Metabolites

Colonna	Descrizione
<b>Report</b>	Quando selezionata, include il metabolita nel report finale.
<b>Peak ID</b>	Mostra l'ID picco del metabolita. L'ID si basa sul tempo di ritenzione e sulla massa del metabolita. Per tutti i metaboliti padre, <b>Peak ID</b> è vuoto.  –# viene assegnato ai picchi con stessa massa e stesso tempo di ritenzione ma carica diversa. Ad esempio: M1-1, M1-2, M1-3 e così via.
<b>Name</b>	Mostra il nome del metabolita.  Per i risultati ADC, i nomi sono preceduti dalla parola <i>Parent</i> . <i>Parent</i> indica che farmaco con molecole piccole (payload) e componenti linker sono combinati.  Per i risultati degli oligonucleotidi, i nomi dei componenti principali sono indicati dalle parole <i>Parent</i> e <i>Ion charge</i> . I prodotti di biotrasformazione e scissione identificati dal rilevatore di picchi previsto presentano la notazione caratteristica 5' o 3' (n-#). I risultati della ricerca di picchi generica sono indicati da un prefisso <i>Gain</i> o <i>Loss</i> .
<b>Formula</b>	Mostra la formula neutra del metabolita.
<b>Assigned</b>	Quando selezionata, indica che sono presenti informazioni nell'area di lavoro Interpretation. Ad esempio, può essere presente una struttura o una sequenza oppure può essere compilata la tabella Fragments.
<b>Neutral Mass</b>	Mostra la massa neutra del metabolita.
<b>m/z</b>	Mostra il rapporto tra massa monoisotopica e carica per il metabolita.  Per i risultati degli oligonucleotidi, se non viene osservato il monoisotopo, il software ne calcola la posizione e contrassegna il valore <i>m/z</i> con ( <i>n</i> ), dove <i>n</i> denota il numero di picchi di distanza tra il monoisotopo e il primo picco osservato.
<b>Charge</b>	Mostra la carica del metabolita.

**Tabella 7-1: Colonne della tabella Potential Metabolites (continua)**

Colonna	Descrizione
<b>Peak Index</b>	Riflette l'isotopo dell'area del picco XIC mostrata per il metabolita. <ul style="list-style-type: none"><li>• <b>Blank cell:</b> monoisotopo</li><li>• <b>1:</b> il primo isotopo dopo il picco monoisotopico</li><li>• <b>2:</b> il secondo isotopo dopo il picco monoisotopico e così via</li></ul> Se la colonna non è inclusa nella tabella, l'area del picco XIC è associata al monoisotopo dei metaboliti. Per i metaboliti identificati dalla strategia di ricerca dei metaboliti previsti, viene mostrato un indice picco di base ipotetico stimato per un metabolita. Per i metaboliti identificati da altre strategie di ricerca picchi, viene mostrato il picco isotopico sperimentale. In genere, il picco isotopico sperimentale è il picco di base. Tuttavia, per i dati IDA, il picco isotopico sperimentale potrebbe essere l'indice dello ione precursore.
<b>ppm</b>	Mostra l'accuratezza della massa (in ppm) del metabolita-
<b>R.T. (min)</b>	Mostra il tempo di ritenzione del metabolita.
<b>Peak Area</b>	Mostra l'area del picco XIC dell'isotopo il cui indice picco è mostrato nella colonna <b>Peak Index</b> .
<b>% Area</b>	Mostra l'area percentuale dell'XIC, in base al numero totale di metaboliti nella tabella.
<b>% Score</b>	Mostra il punteggio percentuale del metabolita.
<b>Analog - Peak Area</b>	Mostra l'area di picco del picco analogico. Disponibile solo quando sono stati elaborati dati analogici.
<b>Analog - % Area</b>	Mostra l'area percentuale del picco analogico. Disponibile solo quando sono stati elaborati dati analogici.
<b>Analog - R.T. (min)</b>	Mostra il tempo di ritenzione del picco analogico. Disponibile solo quando sono stati elaborati dati analogici.

## Visualizzazione del solo spettro filtrato

---

**Nota:** questa funzionalità non è applicabile ai flussi di lavoro degli oligonucleotidi.

---

Se il parametro **Use advanced MS/MS filter** è stato selezionato per elaborare un file di dati di acquisizione SWATH nella scheda MS/MS Parameters nel gruppo Generic Parameters nell'area di lavoro Processing Parameters, selezionare questa casella di controllo per mostrare solo uno spettro MS/MS filtrato con il filtro avanzato. Deselezionare la casella di controllo per mostrare lo spettro con sottrazione del fondo.

**Nota:** se il parametro **Use advanced MS/MS filter** è stato selezionato ma nello spettro MS/MS è visualizzato solo lo spettro con sottrazione del fondo, ciò può essere dovuto a:

- Spettro filtrato vuoto.
- Filtro avanzato non efficace a causa di interferenza da un picco coeluyente con intensità di circa 10 volte o superiore.
- Filtro avanzato non efficace a causa della presenza di meno di cinque punti dati lungo il picco precursore.

## Informazioni sui filtri dei risultati

È possibile applicare filtri per affinare i risultati visualizzati nella tabella Potential Metabolites.

**Suggerimento!** Fare clic sull'icona del filtro  per aprire la finestra di dialogo Results Filters.

Tabella 7-2: Filtri

Selezionare questo filtro	Per visualizzare
<b>Metabolites</b>	
<b>Top __ metabolites by peak area</b>	Solo il numero specificato di picchi più abbondanti in base al valore % peak area.
<b>Reported metabolites</b>	Solo i metaboliti che sono stati selezionati nella colonna <b>Report</b> .
<b>Metabolites by adduct</b>	Solo i metaboliti trovati da un addotto primario. Un addotto primario è definito come l'addotto che costituisce la prima selezione visibile nella tabella <b>Advanced Ion Types</b> della scheda <b>Generic Parameters &gt; MS Parameters</b> . Le opzioni includono: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Primary</li> <li>• Most intense</li> </ul>
<b>Assigned Metabolites</b>	
<b>Metabolites with structures or sequences assigned</b>	Solo i metaboliti che hanno strutture assegnate (molecole piccole) o sequenze assegnate (peptidi e oligonucleotidi), indicati con un punto interrogativo nella colonna <b>Assigned</b> della tabella Potential Metabolites.
<b>Retention Time Window</b>	
<b>Retention time from __ to __</b>	Solo i picchi compresi nell'intervallo specificato.
<b>Peak Area</b>	

## Visualizzazione dei risultati

Tabella 7-2: Filtri (continua)

Selezionare questo filtro	Per visualizzare
Peak area from __ % to __ %	Solo i picchi con un valore % Area compreso nell'intervallo di percentuali specificato.
Analog peak area from __ % to __ %	Solo i picchi con un valore % Analog Area compreso nell'intervallo di percentuali specificato. Se non viene fornito alcun file analogico per l'elaborazione, questo filtro non ha effetto.
<b>Charge</b>	
Charge from __ to __	Solo i metaboliti con un valore di carica compreso nell'intervallo specificato.
<b>Score</b>	
Overall score above __ %	Solo i picchi con un punteggio complessivo superiore al valore specificato. Fare riferimento alla sezione: <a href="#">Scheda Confirmation Scoring</a> .  Per i flussi di lavoro di oligonucleotidi, si consiglia che l'envelope isotopico venga utilizzato come unico parametro nel punteggio di conferma. Si consiglia inoltre che l'utente imposti <b>Overall Score</b> sopra il 20% per rimuovere i metaboliti con punteggi di sovrapposizione isotopi teorici bassi.
<b>Mass Accuracy</b>	
Accuracy within __ ppm	Solo i picchi con accuratezza della massa compresa nell'intervallo specificato.
<b>Mass Range</b>	
m/z from __ to __	Solo valori <i>m/z</i> compresi nell'intervallo specificato.
<b>Product Ions and Neutral Losses</b>	
MS/MS similarity above __	Solo i picchi con un punteggio somiglianza MS/MS superiore al valore specificato. Se non viene fornito uno spettro di riferimento, questo filtro non ha effetto.
Minimum number of common product ions __	Solo i picchi che hanno almeno il numero specificato di ioni prodotto in comune con il composto padre. Se non viene fornito uno spettro di riferimento, questo filtro non ha effetto.
Minimum number of common neutral losses __	Solo i picchi che hanno almeno il numero specificato di perdite neutre in comune con il composto padre. Se non viene fornito uno spettro di riferimento, questo filtro non ha effetto.

**Nota:** l'eliminazione o l'aggiunta di righe alla tabella causerà automaticamente l'aggiornamento dei valori **% Area** e **% Analog Area** di ogni metabolita, incidendo su come i filtri di area del picco, area del picco analogico e principali metaboliti per area del picco vengono applicati alle righe rimanenti.

---

## Modifica dei risultati

Le voci della tabella Potential Metabolites possono essere modificate o eliminate per affinare ulteriormente i risultati.

Gli utenti possono:

- [Eliminazione di righe](#)
- [Modifica del nome e della formula di un metabolita potenziale](#)
- [Assegnazione di ID picco](#)

### Eliminazione di righe

1. Nel pannello Workspace fare clic su **Results**.  
Viene visualizzata l'area di lavoro Results.
2. Fare clic su **Open**.  
Viene visualizzata la finestra di dialogo Open Results.
3. Spostarsi sul file appropriato e selezionarlo.
4. Fare clic su **OK**.  
Viene visualizzata la vista Results.
5. Selezionare una riga nella tabella Potential Metabolites.

---

**Suggerimento!** Fare clic e premere **Ctrl** o **Shift** per selezionare più righe.

---

6. Fare clic su **Edit > Delete Selected Rows**.

---

**Suggerimento!** Per annullare l'ultima eliminazione, fare clic su **Edit > Undo Delete**.

---

7. Fare clic su **Save**.

### Modifica del nome e della formula di un metabolita potenziale

Fare riferimento alla sezione: [Come vengono denominati i metaboliti dal software](#).

1. Nel pannello Workspace fare clic su **Results**.  
Viene visualizzata l'area di lavoro Results.
2. Fare clic su **Open**.  
Viene visualizzata la finestra di dialogo Open Results.
3. Spostarsi sul file appropriato e selezionarlo.

## Visualizzazione dei risultati

---

4. Fare clic su **OK**.  
Viene visualizzata la vista Results.
5. Fare clic con il pulsante destro del mouse su una riga nella tabella Potential Metabolites e selezionare **Edit Name and Formula**.  
Viene visualizzata la finestra di dialogo Edit Name and Formula.
6. Effettuare una delle seguenti operazioni per modificare **Name**:
  - Se applicabile, selezionare un nome dall'elenco di opzioni fornite.
  - Digitare un nuovo nome.
7. Se applicabile, selezionare un addotto dall'elenco di opzioni fornite.

---

**Nota:** se l'addotto viene modificato, l'impostazione di **Mass accuracy** del metabolita viene aggiornata automaticamente.

---

8. Effettuare una delle seguenti operazioni per modificare **Formula**:
  - Se non sono disponibili informazioni sufficienti per determinare una formula, selezionare **Unknown**.
  - Per aggiungere manualmente una formula al metabolita potenziale, selezionare **Use** e immettere una formula nel campo fornito.
  - Se il software ha previsto formule potenziali, selezionare **Automatic** e selezionare una voce dall'elenco.

---

**Nota:** se il software non ha previsto formule potenziali, l'opzione **Automatic** non è disponibile per la selezione.

---

---

**Nota:** i valori nei campi **Mass accuracy** e **RDB** vengono aggiornati automaticamente dal software quando si aggiunge la nuova formula.

---

9. Per identificare il metabolita dalla riga selezionata come composto padre, fare clic su **Assign as Parent**.
10. Fare clic su **OK**.
11. Fare clic su **Save**.

---

**Nota:** per i peptidi, l'ordine dei nomi si basa sull'accuratezza della massa del nome proposto e sul numero di manipolazioni richieste, ad esempio il numero di legami spezzati. Il nome proposto per il peptide con l'accuratezza della massa più elevata e il minor numero di manipolazioni viene visualizzato all'inizio dell'elenco.

---

## Raggruppamento per picchi

Utilizzare il pulsante **Group by Peaks** per raggruppare i picchi che hanno la stessa massa neutra, ad esempio i diversi stati di carica di una molecola, per mostrare una tabella di riepilogo delle molecole identificate, con **Peak Area**, **%Area** e così via, riportati in totale per tutti gli stati di carica identificati. I picchi sono raggruppati in base alla massa neutra e alla tolleranza del tempo di ritenzione.

**Nota:** la funzione di raggruppamento è applicabile solo al flusso di lavoro degli oligonucleotidi.

---

### Assegnazione di ID picco

1. Nel pannello Workspace fare clic su **Results**.  
Viene visualizzata l'area di lavoro Results.
2. Fare clic su **Open**.  
Viene visualizzata la finestra di dialogo Open Results.
3. Spostarsi sul file appropriato e selezionarlo.
4. Fare clic su **OK**.  
Viene visualizzata la vista Results.
5. Rivedere gli **ID picco** correnti nella tabella Potential Metabolites.
6. Apportare le modifiche necessarie alla tabella, tra cui l'eliminazione di righe e la ridenominazione di metaboliti.
7. Fare clic su **Assign ID**.

Le righe relative alla formula neutra e il tempo di ritenzione vengono raggruppate insieme. A una riga viene assegnato l'ID picco primario e alle righe restanti nel gruppo viene assegnato un ID sequenziale, un livello sotto l'ID picco primario. Ad esempio, se l'ID picco primario è M2, a ogni riga rimanente viene assegnato un ID sequenziale che inizia con M2. Ad esempio, M2-1, M2-2 e così via.

Gli ID picco non primari sono assegnati ai picchi con addotti non primari. Gli addotti non primari sono quelli che sono stati selezionati nella tabella Advanced Ion Types ma non sono visualizzati nell'elenco Ion type. Solo gli ID picco primari sono visualizzati nell'elenco Ion type.

### Spettri MS/MS

Per qualsiasi metabolita è possibile aggiungere, rimuovere o sostituire spettri MS/MS. Uno spettro MS/MS può essere aggiunto manualmente, copiando uno spettro MS/MS centroide singolo nell'area di lavoro Explorer e incollandolo nell'area di lavoro Results, o automaticamente mediante il pulsante **Add MS/MS** nell'area di lavoro Results.

### Aggiunta di spettri mediante la funzione incolla

---

**Nota:** questa è una funzione beta.

---

**Nota:** questa funzione è disponibile solo nel flusso di lavoro degli oligonucleotidi per i dati TOF-MS/MS e IDA. Non è attualmente possibile incollare spettri MS/MS da IDA Explorer. I file di dati devono essere aperti come TIC standard e centroide nell'area di lavoro Explorer prima di essere incollati in Molecule Profiler.

---

## Visualizzazione dei risultati

---

**Nota:** lo spettro MS/MS esistente nel file dei risultati non viene sovrascritto finché il file dei risultati non viene salvato. Per tornare allo spettro originale per il metabolita selezionato, come memorizzato nel file dei risultati, fare clic su **Remove MS/MS** prima di salvare il file dei risultati.

---

1. Nel pannello Workspace fare clic su **Results**.  
Viene visualizzata l'area di lavoro Results.
2. Fare clic su **Open**.  
Viene visualizzata la finestra di dialogo Open Results.
3. Spostarsi sul file appropriato e selezionarlo, quindi fare clic su **OK**.  
Viene visualizzata la vista Results.
4. Selezionare una riga nella tabella Potential Metabolites.
5. Dalla pagina Home di SCIEX OS, aprire l'area di lavoro Explorer.
6. Selezionare **File > Open Sample**.  
Si aprirà la finestra di dialogo Select Sample.
7. Spostarsi sul file di dati che contiene il campione, fare clic su **+** per espanderlo, selezionare il campione da aprire e quindi fare clic su **OK**.  
Il file di dati deve essere un file wiff o wiff2 contenente dati TOF-MS/MS o IDA data.
8. Se il file di dati contiene dati IDA, selezionare **As a standard TIC** nella finestra di dialogo Open IDA Sample, quindi fare clic su **OK**.
9. Aprire uno spettro MS e MS/MS.

---

**Suggerimento!** Per aprire gli spettri, impostare una finestra di selezione oppure fare doppio clic su un tempo di ritenzione nel riquadro TIC.

---

10. Fare clic con il pulsante destro del mouse sull'intestazione dello spettro MS/MS, quindi selezionare **Remove All Traces Except Active**.
11. Selezionare **Process > Centroid Spectrum**.  
Viene visualizzata la finestra di dialogo Centroid.
12. Selezionare se impostare il centroide su **Intensity**, **Height**, **Area** o **Intensity sum above 50%**.
13. Selezionare **Edit > Copy**.
14. Andare all'area di lavoro Molecule Profiler.
15. Fare clic su **Paste MS/MS**.  
Viene aggiunto lo spettro MS/MS.
16. Fare clic su **Save**.

---

## Aggiunta di più spettri con il pulsante Add MS/MS

---

**Nota:** lo spettro MS/MS esistente nel file dei risultati non viene sovrascritto finché il file dei risultati non viene salvato. Per tornare allo spettro originale per il metabolita selezionato, come memorizzato nel file dei risultati, fare clic su **Remove MS/MS** prima di salvare il file dei risultati.

---

1. Nel pannello Workspace fare clic su **Results**.  
Viene visualizzata l'area di lavoro Results.
2. Fare clic su **Open**.  
Viene visualizzata la finestra di dialogo Open Results.
3. Spostarsi sul file appropriato e selezionarlo, quindi fare clic su **OK**.  
Viene visualizzata la vista Results.
4. Selezionare una riga nella tabella Potential Metabolites.
5. Fare clic su **Add MS/MS**.  
Viene visualizzata la finestra di dialogo Add MS/MS.
6. Fare clic su **Select MS/MS**.  
Viene visualizzata la finestra di dialogo Select Data.
7. Spostarsi sulla cartella **Source** appropriata e selezionarla.
8. Fare clic su **OK**.
9. Nel riquadro Available della finestra di dialogo Select Data, selezionare il file wiff e l'iniezione contenente uno spettro MS/MS e fare clic sull'icona () per spostare il file nel riquadro Selected.

---

**Suggerimento!** È possibile selezionare un massimo di 10 iniezioni.

---

10. Dopo che tutti i file necessari sono presenti nella finestra di dialogo Add MS/MS, fare clic su **OK**.  
Il software tenta di trovare uno spettro corrispondente per ogni metabolita.
11. Rivedere il punteggio di ogni metabolita.  
Se lo spettro MS/MS è stato modificato, il software potrebbe ricalcolare **% Score**.
12. Fare clic su **Save**.  
Per modificare tipi di frammenti specifici con un unico spettro MS/MS, fare riferimento alla sezione: [Flussi di lavoro degli oligonucleotidi](#).

## Rimozione degli spettri

1. Nel pannello Workspace fare clic su **Results**.  
Viene visualizzata l'area di lavoro Results.
2. Fare clic su **Open**.  
Viene visualizzata la finestra di dialogo Open Results.
3. Spostarsi sul file appropriato e selezionarlo.

## Visualizzazione dei risultati

---

4. Fare clic su **OK**.  
Viene visualizzata la vista Results.
5. Selezionare una riga nella tabella Potential Metabolites.
6. Fare clic su **Remove MS/MS** nel riquadro MS/MS.

---

**Nota:** se è presente uno spettro IDA per il metabolita potenziale, viene visualizzato nel riquadro MS/MS.

---

7. Fare clic su **Save**.

## Rimozione dei file degli spettri MS/MS

1. Nel pannello Workspace fare clic su **Results**.  
Viene visualizzata l'area di lavoro Results.
2. Fare clic su **Open**.  
Viene visualizzata la finestra di dialogo Open Results.
3. Spostarsi sul file appropriato e selezionarlo.
4. Fare clic su **OK**.  
Viene visualizzata la vista Results.
5. Fare clic su **Add MS/MS**.
6. Selezionare il file wiff appropriato nel campo **MS/MS Samples**.
7. Fare clic su **Remove**, quindi su **OK**.  
Tutti gli spettri MS/MS dedicati nel file wiff vengono rimossi dai risultati.
8. Fare clic su **Save**.

Dopo aver identificato i picchi in un campione di interesse, utilizzare l'interpretazione dei frammenti per identificare la struttura di ogni metabolita potenziale.

## Informazioni sulla vista Interpretation

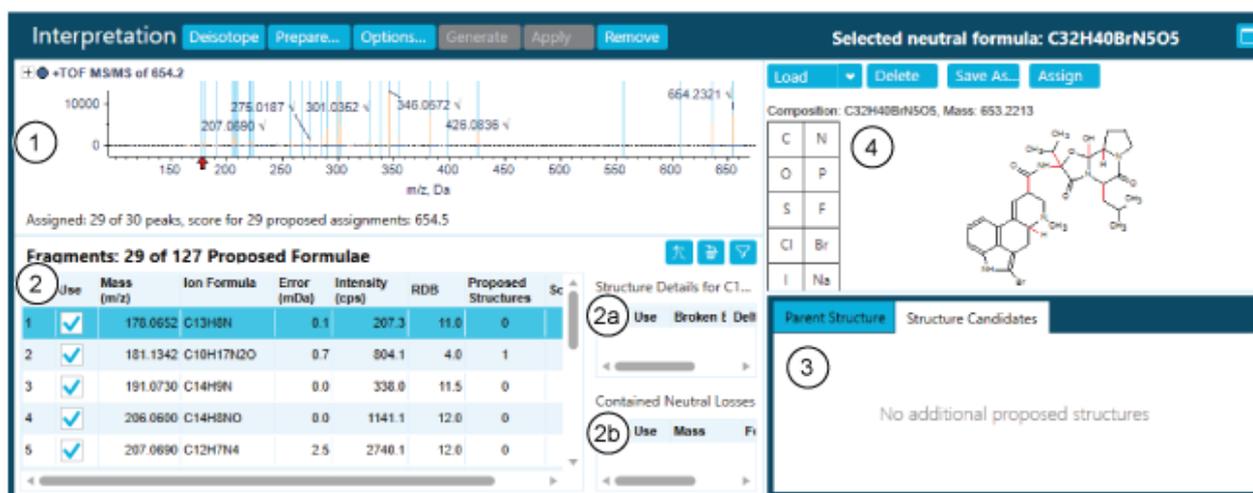
La vista Interpretation nell'area di lavoro Results mostra i dati e gli strumenti richiesti per l'elucidazione di una struttura potenziale per ogni metabolita in un file Results.

### Viste Interpretation



## Vista Small Molecule Interpretation

Figura 8-1: Vista Small Molecule Interpretation



## Caratterizzazione dei dati MS/MS

Elemento	Componente dell'interfaccia	Descrizione
1	Riquadro MS/MS	Mostra lo spettro MS/MS del metabolita selezionato. Viene inoltre mostrata l'immagine speculare dello spettro MS/MS di riferimento, se disponibile. Gli asterischi identificano i picchi che sono stati selezionati per l'assegnazione. L'origine di questo spettro è il file wiff IDA del campione, il file wiff di acquisizione SWATH del campione o un file wiff MS/MS dedicato aggiunto al file Results. Per una descrizione delle funzionalità fornite dai pulsanti, fare riferimento alla tabella: <a href="#">Tabella 8-1</a> .
2	Tabella Fragments	<p>Elenca tutti i frammenti assegnati per il metabolita selezionato includendo il loro valore <math>m/z</math>, il numero di strutture proposte e il punteggio. Se un particolare valore <math>m/z</math> può essere assegnato a formule diverse, la tabella contiene una riga per ogni formula. Per impostazione predefinita, è selezionata la casella di controllo <b>Use</b> della riga che contiene il punteggio più elevato per ogni combinazione di formula e valore <math>m/z</math>.</p> <hr/> <p><b>Suggerimento!</b> Le righe in cui la casella di controllo <b>Use</b> non è selezionata possono essere nascoste. Per mostrare tutte le righe, fare clic con il pulsante destro del mouse sulla tabella, quindi fare clic su <b>Show Hidden Rows</b>.</p> <hr/> <p>Per una descrizione delle funzionalità fornite dalle icone, fare riferimento alla tabella: <a href="#">Tabella 8-3</a>.</p>
2a	Tabella Structure Details	<p>Elenca le porzioni della struttura che potrebbero generare il frammento selezionato, inclusi il numero di legami spezzati, il valore delta H e il punteggio. La selezione di una riga in questa tabella fa sì che venga evidenziata la porzione correlata della struttura.</p> <p>Per impostazione predefinita, è selezionata la casella di controllo <b>Use</b> della struttura con il punteggio più elevato.</p>
2b	Tabella Contained Neutral Losses	Contiene le perdite neutre dalle masse dei due frammenti.

Elemento	Componente dell'interfaccia	Descrizione
3	Riquadro Structure charts	<p>Contiene le due schede seguenti:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Scheda Parent Structure, che contiene la struttura padre del metabolita selezionato.</li> <li>Scheda Structure Candidates, che è un istogramma interattivo contenente una tabella che mostra l'elenco completo delle strutture, in ordine di punteggio decrescente. La selezione di una riga in questa tabella modifica la struttura visualizzata nel riquadro Structure (elemento 2). Per includere una struttura specifica nei risultati, fare clic sulla casella di controllo <b>Apply to Results</b> per tale struttura. Fare riferimento alla sezione: <a href="#">Informazioni sulla scheda Structure Candidates</a>.</li> </ul>
4	Riquadro Structure	<p>Consente all'utente di caricare una struttura candidata per metaboliti potenziali e fornisce gli strumenti di disegno di base che permettono agli utenti di modificare la struttura. Per una descrizione delle funzionalità fornite dai pulsanti, fare riferimento alla tabella: <a href="#">Tabella 8-2</a>.</p>

Tabella 8-1: Pulsanti del riquadro MS/MS

Pulsante	Descrizione
<b>Deisotope</b>	Nasconde tutti gli isotopi nel riquadro MS/MS. Fare clic nuovamente per mostrare gli isotopi.
<b>Prepare</b>	Apri la finestra di dialogo Interpret Data in cui gli utenti possono modificare i dettagli necessari per interpretare il metabolita selezionato (formula, picchi attivi, ricalibrazione dello spettro MS/MS).
<b>Options</b>	Apri la finestra di dialogo Options in cui gli utenti possono assegnare frammenti MS/MS. Fare riferimento alla tabella: <a href="#">Tabella 8-15</a> nella sezione: <a href="#">Impostazione delle opzioni</a> .
<b>Generate</b>	Compila la scheda Structure Candidate con candidati potenziali generati automaticamente per il metabolita selezionato. Fare riferimento alla sezione: <a href="#">Informazioni sulla scheda Structure Candidates</a> .
<b>Apply</b>	Applica le modifiche di interpretazione al picco selezionato.
<b>Remove</b>	Rimuove i frammenti assegnati e la struttura dei metaboliti dal picco selezionato.

## Caratterizzazione dei dati MS/MS

Tabella 8-2: Pulsanti del riquadro Structure

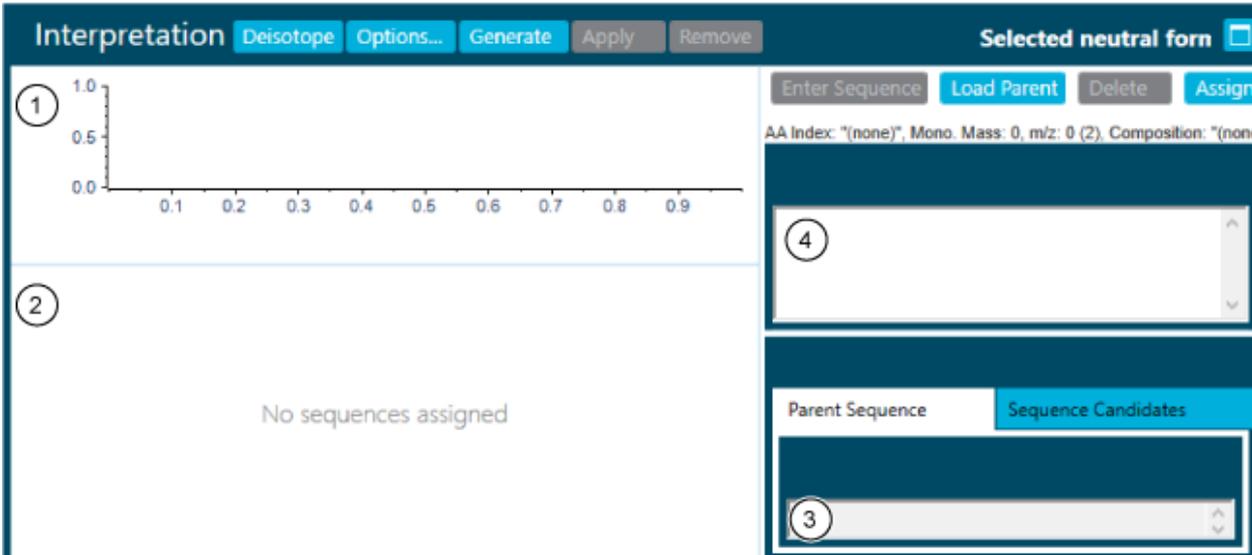
Pulsante	Descrizione
Load	<ul style="list-style-type: none"><li>Load Parent: apre la struttura padre del metabolita selezionato.</li><li>Load Structure: apre un file di struttura per il picco selezionato.</li></ul>
Delete	Rimuove la struttura visibile dal riquadro Structure.
Save As	Consente all'utente di salvare la struttura visibile con un nome file diverso.
Assign	Calcola i frammenti e le perdite neutre per la struttura potenziale e quindi assegna gli ioni agli spettri MS/MS.

Tabella 8-3: Icone della tabella Fragments

Icona	Descrizione
	Aggiunge un'etichetta per il frammento selezionato.
	Elimina tutte le etichette dallo spettro MS/MS.
	Aprire la finestra di dialogo Interpretation Filters. Fare riferimento alla sezione: <a href="#">Informazioni sui filtri di interpretazione per le molecole piccole</a> .

## Vista Peptides Interpretation

Figura 8-2: Vista Peptides Interpretation



Elemento	Componente dell'interfaccia	Descrizione
1	Riquadro MS/MS	Mostra lo spettro MS/MS del metabolita selezionato. Viene inoltre mostrata l'immagine speculare dello spettro MS/MS di riferimento, se disponibile. L'origine di questo spettro è il file wiff IDA del campione, il file wiff di acquisizione SWATH del campione o un file wiff MS/MS dedicato aggiunto al file Results. Per una descrizione delle funzionalità fornite dai pulsanti, fare riferimento alla tabella: <a href="#">Tabella 8-4</a> .
2	Riquadro Sequence	Consente all'utente di immettere una sequenza. Per una descrizione delle funzionalità fornite dai pulsanti, fare riferimento alla tabella: <a href="#">Tabella 8-5</a> .
3	Tabella Fragments	Contiene un elenco delle formule proposte per i metaboliti potenziali selezionati. L'elenco include valori $m/z$ , sequenze, tipi di ione frammento (ad esempio y o b), carica, errori e intensità. Per una descrizione delle funzionalità fornite dalle icone, fare riferimento alla tabella: <a href="#">Tabella 8-6</a> .
4	Riquadro Sequence charts	Contiene le due schede seguenti: <ul style="list-style-type: none"> <li>Scheda Parent Sequence, che contiene la sequenza del farmaco padre.</li> <li>Scheda Sequence Candidates, che è un istogramma interattivo contenente una tabella che riporta un elenco di sequenze proposte dal software. A ogni sequenza proposta viene assegnato un punteggio, in base all'area di picco percentuale assegnata. Per applicare una sequenza specifica ai risultati, selezionare la casella di controllo <b>Apply to Results</b> per tale sequenza. La sequenza applicata viene visualizzata come sequenza predefinita dopo che il file Results viene chiuso e riaperto. Fare riferimento alla sezione: <a href="#">Informazioni sulla scheda Sequence Candidates</a>.</li> </ul>

Tabella 8-4: Pulsanti del riquadro MS/MS

Pulsante	Descrizione
Deisotope	Rimuove tutti gli isotopi dallo spettro MS/MS.
Options	Apri la finestra di dialogo Options. Fare riferimento alla tabella: <a href="#">Tabella 8-16</a> nella sezione: <a href="#">Impostazione delle opzioni</a> .

## Caratterizzazione dei dati MS/MS

---

**Tabella 8-4: Pulsanti del riquadro MS/MS (continua)**

Pulsante	Descrizione
<b>Generate</b>	Compila la scheda Structure Candidate con candidati potenziali generati automaticamente per il metabolita selezionato. Fare riferimento alla sezione: <a href="#">Informazioni sulla scheda Structure Candidates</a> .
<b>Apply</b>	Applica le modifiche di interpretazione al picco selezionato.
<b>Remove</b>	Rimuove i frammenti assegnati e la struttura dei metaboliti dal picco selezionato.

**Tabella 8-5: Pulsanti del riquadro Sequence**

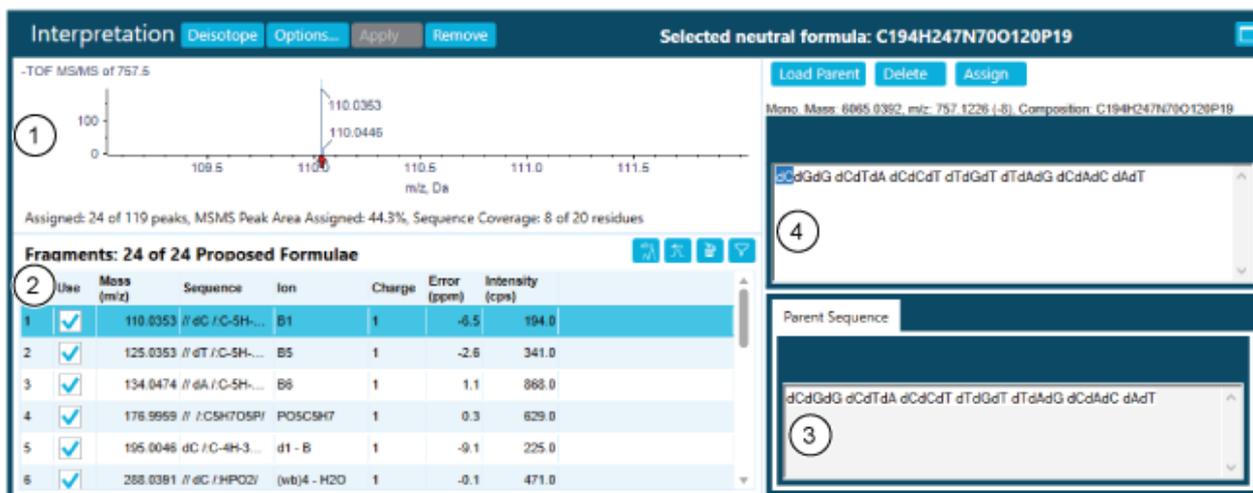
Pulsante	Descrizione
<b>Enter Sequence</b>	Consente all'utente di immettere una nuova sequenza nel riquadro Sequence. Fare riferimento alla sezione: <a href="#">Convenzioni di denominazione delle sequenze peptidiche</a> .
<b>Load Parent</b>	Apri la sequenza padre del metabolita selezionato.
<b>Delete</b>	Rimuove la sequenza visibile dal riquadro Sequence.
<b>Assign</b>	Calcola i frammenti e le perdite neutre per la struttura potenziale e quindi assegna gli ioni agli spettri MS/MS.

**Tabella 8-6: Icone della tabella Fragments**

Icona	Descrizione
	Aggiunge etichette per tutti i picchi.
	Aggiunge un'etichetta per il frammento selezionato.
	Elimina tutte le etichette dallo spettro MS/MS.
	Apri la finestra di dialogo Interpretation Filters. Fare riferimento alla sezione: <a href="#">Informazioni sui filtri di interpretazione per i peptidi</a> .

## Vista Oligonucleotides Interpretation

Figura 8-3: Vista Oligonucleotides Interpretation



Elemento	Componente dell'interfaccia	Descrizione
1	Riquadro MS/MS	Mostra lo spettro MS/MS del metabolita selezionato. Viene inoltre mostrata l'immagine speculare dello spettro MS/MS di riferimento, se disponibile. L'origine di questo spettro è il file wiff IDA del campione, il file wiff di acquisizione SWATH del campione o un file wiff MS/MS dedicato aggiunto al file Results. Per una descrizione delle funzionalità fornite dai pulsanti, fare riferimento alla tabella: <a href="#">Tabella 8-7</a> .
2	Tabella Fragments	Contiene un elenco delle formule proposte per i metaboliti potenziali selezionati. L'elenco include valori <i>m/z</i> , sequenze, tipi di ione frammento (ad esempio y o b), carica, errori e intensità. Per una descrizione delle funzionalità fornite dalle icone, fare riferimento alla tabella: <a href="#">Tabella 8-6</a> .
3	Riquadro Sequence charts	Contiene la sequenza del farmaco padre.
4	Riquadro Sequence	Consente all'utente di immettere una sequenza. Per una descrizione delle funzionalità fornite dai pulsanti, fare riferimento alla tabella: <a href="#">Tabella 8-5</a> .

Tabella 8-7: Pulsanti del riquadro MS/MS

Pulsante	Descrizione
Deisotope	Rimuove tutti gli isotopi dallo spettro MS/MS.

## Caratterizzazione dei dati MS/MS

---

**Tabella 8-7: Pulsanti del riquadro MS/MS (continua)**

Pulsante	Descrizione
Options	Aprire la finestra di dialogo Options. Fare riferimento alla tabella: <a href="#">Tabella 8-18</a> nella sezione: <a href="#">Impostazione delle opzioni</a> .
Apply	Applica le modifiche di interpretazione al picco selezionato.
Remove	Rimuove i frammenti assegnati e la struttura dei metaboliti dal picco selezionato.

**Tabella 8-8: Pulsanti del riquadro Sequence**

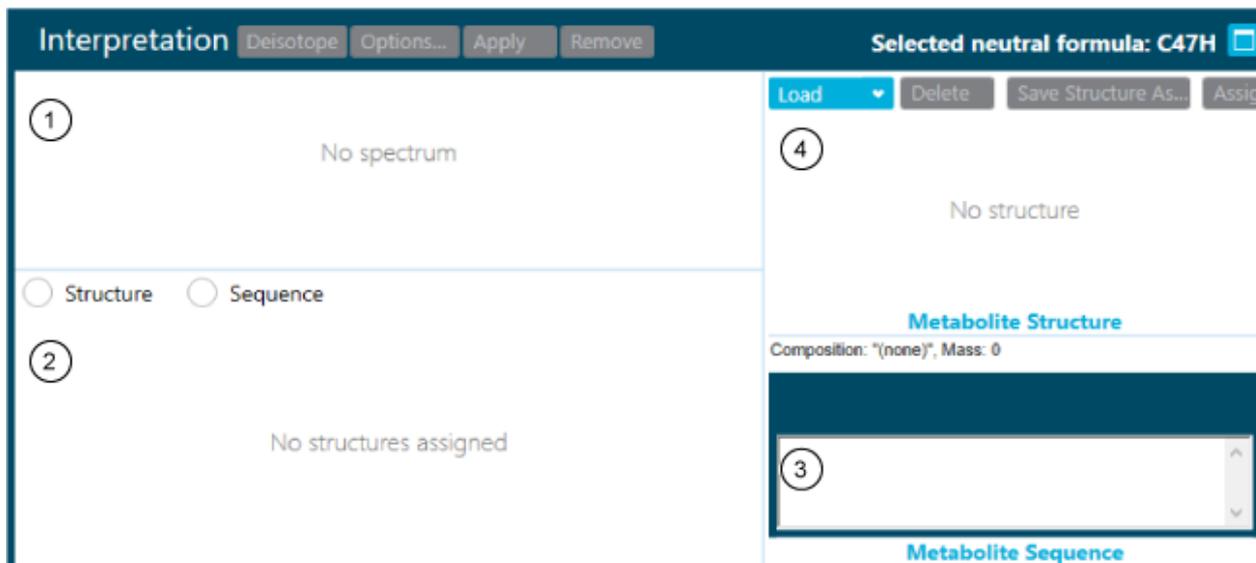
Pulsante	Descrizione
Load Parent	Aprire la sequenza padre del metabolita selezionato.
Delete	Rimuove la sequenza visibile dal riquadro Sequence.
Assign	Calcola i frammenti e le perdite neutre per la struttura potenziale e quindi assegna gli ioni agli spettri MS/MS.

**Tabella 8-9: Icone della tabella Fragments**

Icona	Descrizione
	Aggiunge etichette per tutti i picchi.
	Aggiunge un'etichetta per il frammento selezionato.
	Elimina tutte le etichette dallo spettro MS/MS.
	Aprire la finestra di dialogo Interpretation Filters. Fare riferimento alla sezione: <a href="#">Informazioni sui filtri di interpretazione per i oligonucleotidi</a> .

## Vista ADC Interpretation

Figura 8-4: Vista ADC Interpretation



Elemento	Componente dell'interfaccia	Descrizione
1	Riquadro MS/MS	Mostra lo spettro MS/MS del metabolita selezionato. Viene inoltre mostrata l'immagine speculare dello spettro MS/MS di riferimento, se disponibile. L'origine di questo spettro è il file wiff IDA del campione, il file wiff di acquisizione SWATH del campione o un file wiff MS/MS dedicato aggiunto al file Results. Per una descrizione delle funzionalità fornite dai pulsanti, fare riferimento alla tabella: <a href="#">Tabella 8-10</a> .

## Caratterizzazione dei dati MS/MS

Elemento	Componente dell'interfaccia	Descrizione
2	Tabella Fragments	<p>Contiene le schede seguenti:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>La scheda Structure, che elenca tutti i frammenti assegnati per il metabolita selezionato includendo il loro valore <math>m/z</math>, il numero di strutture proposte e il punteggio. Se un particolare valore <math>m/z</math> può essere assegnato a formule diverse, la tabella contiene una riga per ogni formula. Per impostazione predefinita, è selezionata la casella di controllo <b>Use</b> della riga che contiene il punteggio più elevato per ogni combinazione di formule e valore <math>m/z</math>.</li> <li>La scheda Sequence, che elenca tutte le formule proposte per i metaboliti potenziali selezionati. L'elenco include valori <math>m/z</math>, sequenze, tipi di ione frammento (ad esempio y o b), carica, errori e intensità.</li> </ul> <p>Per una descrizione delle funzionalità fornite dalle icone, fare riferimento alla tabella: <a href="#">Tabella 8-13</a>.</p>
3	Riquadro Sequence	<p>Mostra la parte della sequenza che è coniugata alla porzione payload o linker. Per indicare il residuo che è coniugato alla porzione payload o linker, selezionare il residuo, fare clic con il pulsante destro e selezionare <b>Mark Residue to Conjugate</b>.</p>
4	Riquadro Structure	<p>Consente all'utente di caricare una struttura candidata per metaboliti potenziali e fornisce gli strumenti di disegno di base che permettono agli utenti di modificare la struttura. Per una descrizione delle funzionalità fornite dai pulsanti, fare riferimento alla tabella: <a href="#">Tabella 8-11</a>.</p>

**Tabella 8-10: Pulsanti del riquadro MS/MS**

Pulsante	Descrizione
<b>Deisotope</b>	Rimuove tutti gli isotopi dallo spettro MS/MS.
<b>Options</b>	Apri la finestra di dialogo Options. Fare riferimento alla tabella: <a href="#">Tabella 8-21</a> nella sezione: <a href="#">Impostazione delle opzioni</a> .
<b>Apply</b>	Applica le modifiche di interpretazione al picco selezionato.
<b>Remove</b>	Rimuove i frammenti assegnati e la struttura dei metaboliti dal picco selezionato.

Tabella 8-11: Pulsanti del riquadro Structure

Pulsante	Descrizione
Load	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Load Parent Structure:</b> apre la struttura padre del metabolita selezionato.</li> <li>• <b>Load Sequence:</b> apre la sequenza del metabolita selezionato.</li> </ul>
Delete	Rimuove la struttura caricata dal riquadro Structure, le informazioni sulla sequenza caricata dal riquadro Sequence e le informazioni su struttura e sequenza assegnate dalla tabella Fragments.
Save Structure As	Consente all'utente di salvare la struttura con un nome file diverso.
Assign	Calcola i frammenti e le perdite neutre per la struttura potenziale e quindi assegna gli ioni agli spettri MS/MS.

Tabella 8-12: Pulsanti della tabella Fragments

Pulsante	Descrizione
Structure	Elenca tutti i frammenti assegnati per il metabolita selezionato includendo il loro valore $m/z$ , il numero di strutture proposte e il punteggio. Se un particolare valore $m/z$ può essere assegnato a formule diverse, la tabella contiene una riga per ogni formula. Per impostazione predefinita, è selezionata la casella di controllo <b>Use</b> della riga che contiene il punteggio più elevato per ogni combinazione di formule e valore $m/z$ .
Sequence	Elenca tutte le formule proposte per i metaboliti potenziali selezionati. L'elenco include valori $m/z$ , sequenze, tipi di ione frammento (ad esempio y o b), carica, errori e intensità.

Tabella 8-13: Icone della tabella Fragments

Icona	Descrizione
	Aggiunge etichette per tutti i picchi.
	Aggiunge un'etichetta per il frammento selezionato.
	Elimina tutte le etichette dallo spettro MS/MS.
	Apre la finestra di dialogo Interpretation Filters. Fare riferimento alla sezione: <a href="#">Informazioni sui filtri interpretazione per ADC</a> .

## Interpretazione manuale

### Interpretazione manuale



Flusso di lavoro delle  
molecole piccole



Flussi di lavoro dei  
peptidi



Flussi di lavoro degli  
oligonucleotidi



Flusso di lavoro degli  
ADC

## Flusso di lavoro delle molecole piccole

Caricamento di una struttura

Modifica di un struttura

Preparazione dell'assegnazione  
strutturale



Modifica del nome e della formula di un  
metabolita potenziale

Ricalibrazione dello spettro MS/MS

Rimozione degli isotopi dallo spettro  
MS/MS

Selezione dei picchi attivi

Selezione di picchi di frammenti per  
l'assegnazione

Impostazione delle opzioni

Assegnazione di strutture dei frammenti



Assegnazione di formule proposte e  
strutture

Selezione di una struttura della formula  
per ogni frammento

Associazione di strutture Markush

Informazioni sulle etichette dei picchi



Aggiunta di un'etichetta di picco allo  
spettro MS/MS

Informazioni sui filtri di interpretazione  
per le molecole piccole

## Caricamento di una struttura

Prima di avviare l'elucidazione strutturale di un metabolita, caricare i file della struttura che consentono al software di determinare le strutture dei frammenti potenziali.

---

**Nota:** se non si carica una struttura, possono comunque essere assegnate formule potenziali ai frammenti.

---

1. Nel pannello Workspace fare clic su **Results**.
2. Fare clic su **Open**.  
Viene visualizzata la finestra di dialogo Open Results.
3. Spostarsi su un file Results e selezionarlo.
4. Fare clic su **OK**.

5. Nel campo **Show**, selezionare **Interpretation**.
6. Selezionare una riga nella tabella Potential Metabolites.
7. Nel riquadro Structure fare clic su **Load** e selezionare l'opzione **Load Structure**. Viene visualizzata la finestra di dialogo Open Structure File.
8. Spostarsi su un file della struttura e selezionarlo.

---

**Nota:** il software accetta i file della struttura in formato sdf o mol.

---

9. Se sono necessari piccoli cambiamenti, modificare la struttura. Fare riferimento alla sezione: [Modifica di un struttura](#).

## Modifica di un struttura

Dopo aver caricato una struttura per uno specifico metabolita, utilizzare gli strumenti di modifica per apportare piccoli cambiamenti.

---

**Suggerimento!** Utilizzare gli strumenti di modifica per apportare piccoli cambiamenti a una struttura, ad esempio diverse posizioni di collegamento per una trasformazione metabolica. Gli strumenti di modifica non devono essere utilizzati per creare nuove strutture o per apportare grandi modifiche alle strutture esistenti.

---

**Tabella 8-14: Modifica di un struttura**

Per eseguire questa operazione	Procedere come segue
Aggiungere un atomo a una struttura	Trascinare un simbolo specifico sulla palette in una nuova posizione. L'atomo aggiunto forma un legame singolo con l'atomo esistente più vicino.
Creare nuovi atomi sulla palette	Fare clic su un quadrato vuoto, digitare il simbolo nella finestra di dialogo Specify Symbol, quindi fare clic su <b>OK</b> .  <b>Suggerimento!</b> Fare clic sul quadrato aggiunto e digitare un nuovo simbolo per creare atomi diversi.
Evidenziare una porzione della struttura	Trascinare un cerchio attorno agli atomi e legami richiesti.
Spostare uno o più atomi	Trascinare una porzione evidenziata della struttura nella nuova posizione. Se la porzione è legata a un altro atomo, il legame si sposta nella nuova posizione. Se la porzione è collegata a due o più atomi, la porzione si sposta ma i legami esistenti restano invariati.

**Tabella 8-14: Modifica di un struttura (continua)**

<b>Per eseguire questa operazione</b>	<b>Procedere come segue</b>
Inserire una struttura in una struttura esistente	Fare clic con il pulsante destro del mouse, quindi fare clic su una delle seguenti opzioni: <ul style="list-style-type: none"><li>• <b>Insert .mol File</b> per aggiungere un'altra struttura.</li><li>• <b>Insert Conjugate</b> per aggiungere una struttura coniugata specifica.</li></ul>
Eliminare uno o più atomi	Fare clic con il pulsante destro del mouse su una porzione evidenziata della struttura, quindi fare clic su <b>Remove Selected Atoms</b> .
Creare un legame	Selezionare due atomi non legati, fare clic con il pulsante destro del mouse sulla selezione, fare clic su <b>New Bond</b> e selezionare il tipo di legame.
Modificare un legame	Fare clic con il pulsante destro del mouse su un legame, fare clic su <b>Set Bond Type</b> e selezionare il tipo di legame.
Eliminare un legame	Fare clic con il pulsante destro del mouse su un legame, quindi fare clic su <b>Remove Bond</b> .
Modificare lo stato di carica di un atomo esistente	Fare clic con il pulsante destro del mouse sull'atomo, fare clic su <b>Atom Charge State</b> e selezionare lo stato.

---

**Suggerimento!** Per salvare la struttura modificata come file separato, fare clic su **Save As**.

---

**Suggerimento!** Le strutture possono essere salvate come file mol o sdf. Immettere l'estensione appropriata nella finestra di dialogo Save As.

---

### Preparazione dell'assegnazione strutturale

Per la preparazione dell'assegnazione strutturale è possibile completare quattro attività:

- Modificare il nome o la formula del metabolita potenziale.
- Ricalibrare lo spettro MS/MS.
- Selezionare picchi specifici nello spettro MS/MS.
- Selezionare picchi di frammenti per l'interpretazione.

---

**Nota:** se non è richiesta nessuna di queste attività, gli utenti possono ignorare queste procedure e assegnare immediatamente le strutture dei frammenti.

---

### Modifica del nome e della formula di un metabolita potenziale

Fare riferimento alla sezione: [Come vengono denominati i metaboliti dal software](#).

---

1. Nel pannello Workspace fare clic su **Results**.  
Viene visualizzata l'area di lavoro Results.
2. Fare clic su **Open**.  
Viene visualizzata la finestra di dialogo Open Results.
3. Spostarsi sul file appropriato e selezionarlo.
4. Fare clic su **OK**.  
Viene visualizzata la vista Results.
5. Fare clic con il pulsante destro del mouse su una riga nella tabella Potential Metabolites e selezionare **Edit Name and Formula**.  
Viene visualizzata la finestra di dialogo Edit Name and Formula.
6. Effettuare una delle seguenti operazioni per modificare **Name**:
  - Se applicabile, selezionare un nome dall'elenco di opzioni fornite.
  - Digitare un nuovo nome.
7. Se applicabile, selezionare un addotto dall'elenco di opzioni fornite.

---

**Nota:** se l'addotto viene modificato, l'impostazione di **Mass accuracy** del metabolita viene aggiornata automaticamente.

---

8. Effettuare una delle seguenti operazioni per modificare **Formula**:
  - Se non sono disponibili informazioni sufficienti per determinare una formula, selezionare **Unknown**.
  - Per aggiungere manualmente una formula al metabolita potenziale, selezionare **Use** e immettere una formula nel campo fornito.
  - Se il software ha previsto formule potenziali, selezionare **Automatic** e selezionare una voce dall'elenco.

---

**Nota:** se il software non ha previsto formule potenziali, l'opzione **Automatic** non è disponibile per la selezione.

---

---

**Nota:** i valori nei campi **Mass accuracy** e **RDB** vengono aggiornati automaticamente dal software quando si aggiunge la nuova formula.

---

9. Per identificare il metabolita dalla riga selezionata come composto padre, fare clic su **Assign as Parent**.
10. Fare clic su **OK**.
11. Fare clic su **Save**.

---

**Nota:** per i peptidi, l'ordine dei nomi si basa sull'accuratezza della massa del nome proposto e sul numero di manipolazioni richieste, ad esempio il numero di legami spezzati. Il nome proposto per il peptide con l'accuratezza della massa più elevata e il minor numero di manipolazioni viene visualizzato all'inizio dell'elenco.

---

## Caratterizzazione dei dati MS/MS

---

### Ricalibrazione dello spettro MS/MS

1. Nella vista Interpretation fare clic su **Prepare**.  
Viene visualizzata la finestra di dialogo Interpret Data.
2. Fare clic sulla scheda MS/MS Details.
3. Selezionare un frammento da utilizzare come punto di calibrazione.
4. Fare clic col pulsante destro sul frammento selezionato, quindi fare clic su **Set calibration points**.  
Il colore del cerchio del frammento diventa blu.
5. Ripetere i passaggi 3 e 4 per selezionare ulteriori punti di calibrazione.
6. Per rimuovere i punti di calibrazione impostati, selezionare i punti di calibrazione appropriati, fare clic con il pulsante destro del mouse, quindi selezionare **Clear calibration points**.  
Il colore del cerchio del frammento diventa verde.
7. Per visualizzare i dettagli di un frammento, selezionare un punto di calibrazione, fare clic con il pulsante destro del mouse, quindi selezionare **Composition details**.  
Viene visualizzata la finestra di dialogo Fragment, che fornisce il valore  $m/z$ , l'errore di massa in ppm e in mDa, un'indicazione sul fatto che la formula proposta punti o meno a un elettrone pari e il valore RDB (anelli e legami doppi) della formula proposta.
8. Per selezionare un punto di calibrazione come composizione del frammento o come punto di calibrazione potenziale, selezionare un punto di calibrazione, fare clic con il pulsante destro del mouse, quindi selezionare **Select composition**.
9. Fare clic con il pulsante destro del mouse sullo spettro MS/MS, quindi fare clic su **Recalibrate**.

---

**Nota:** per scartare lo spettro ricalibrato, fare clic col pulsante destro sullo spettro, quindi fare clic su **Revert Calibration**.

---

### Rimozione degli isotopi dallo spettro MS/MS

Nella vista Interpretation quando si seleziona Deisotope, tutti gli isotopi vengono rimossi dallo spettro MS/MS. Ciò fornisce una vista rapida dei picchi monoisotopici, utile quando si visualizzano i dati di acquisizione SWATH.

---

**Nota:** nella Results Table vengono riportati solo i monoisotopi, indipendentemente dal fatto che questa opzione sia selezionata o meno.

---

### Selezione dei picchi attivi

I picchi attivi sono gli unici picchi nello spettro MS/MS che sono disponibili per l'interpretazione dei frammenti.

1. Nella vista Interpretation fare clic su **Prepare**.  
Viene visualizzata la finestra di dialogo Interpret Data.
2. Rivedere lo spettro MS/MS.  
Le frecce blu identificano i picchi attivi correnti.

3. Per selezionare un picco, trascinare un riquadro su di esso.
4. Fare doppio clic sul picco selezionato.  
Una freccia blu viene visualizzata sotto il picco selezionato.
5. Per rimuovere singoli picchi, trascinare la freccia blu sotto il bordo della finestra di dialogo Interpret Data.  
La freccia blu viene rimossa da sotto il picco selezionato.

---

**Suggerimento!** Per cancellare tutti i picchi attivi, fare clic con il pulsante destro del mouse sullo spettro, quindi fare clic su **Clear All Markers**.

---

6. Dopo aver selezionato tutti i picchi attivi, fare clic su **Find**.
7. Selezionare la riga con la formula che corrisponde maggiormente agli spettri MS ed MS/MS.
8. Fare clic su **Select**.

### Selezione di picchi di frammenti per l'assegnazione

Sebbene possano essere identificati più picchi come attivi, gli utenti possono selezionare di lavorare solo con i picchi che hanno le intensità più elevate.

1. Nella vista Interpretation fare clic su **Options**.  
Viene visualizzata la finestra di dialogo Options.
2. Nel campo **Number of fragment peaks selected for assignment**, immettere il numero appropriato.
3. Fare clic su **OK**.  
Gli asterischi nello spettro MS/MS identificano i picchi selezionati per l'assegnazione.

### Impostazione delle opzioni

1. Nella vista Interpretation fare clic su **Options**.  
Viene visualizzata la finestra di dialogo Options.
2. Modificare i parametri di frammentazione e di etichettatura come descritto nella tabella: [Tabella 8-15](#).

**Tabella 8-15: Finestra di dialogo Options**

Opzione	Descrizione
<b>Number of fragment peaks selected for assignment</b>	Utilizzare questo campo per specificare il numero di picchi di frammenti che verrà assegnato . Questo numero può essere un sottoinsieme del numero totale di picchi selezionati nella finestra di dialogo Prepare. Se si tratta di un sottoinsieme del numero totale di picchi, i picchi vengono scelti in ordine di intensità.
<b>Minimum signal-to-noise ratio</b>	Utilizzare questo campo per specificare la soglia utilizzata per assegnare i picchi dei frammenti. I picchi sotto questa soglia non verranno assegnati. Il rumore è definito come il picco con l'intensità più bassa nello spettro MS/MS.

Tabella 8-15: Finestra di dialogo Options (continua)

Opzione	Descrizione
<b>MS/MS m/z tolerance (ppm or mDa)</b>	Per un picco di frammento a cui deve essere assegnato una formula e potenzialmente una struttura, l'accuratezza della massa deve rientrare nella tolleranza <i>m/z</i> MS/MS specificata.
<b>Fragmentation Settings</b>	
<b>Break aromatic rings</b>	Selezionare questa casella di controllo per spezzare l'anello aromatico.
<b>Maximum number of bonds to break</b>	Utilizzare questo campo per specificare il numero massimo di legami da spezzare. Le opzioni includono: <ul style="list-style-type: none"> <li>• 1</li> <li>• 2</li> <li>• 3</li> <li>• 4</li> </ul>
<b>Maximum number of C-C bonds to break</b>	Utilizzare questo campo per specificare il numero massimo di legami C-C da spezzare. Le opzioni includono: <ul style="list-style-type: none"> <li>• 0</li> <li>• 1</li> <li>• 2</li> <li>• 3</li> <li>• 4</li> </ul>
<b>Label Settings</b>	
<b>Label peaks with</b>	Utilizzare questo campo per specificare le informazioni che devono essere mostrate nelle etichette dei picchi. Le opzioni includono: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Ion</li> <li>• Ion with ppm Error</li> <li>• Ion with mDa Error</li> </ul>
<b>Apply options to all potential metabolites</b>	Selezionare questa casella di controllo per applicare le opzioni correnti a tutti i metaboliti non assegnati.

## Assegnazione di strutture dei frammenti

Per assegnare le strutture, il software collega i picchi dei frammenti nello spettro MS/MS alle porzioni potenziali della struttura candidata. Gli utenti possono quindi selezionare la formula e la struttura che corrispondano maggiormente al valore *m/z* di ogni frammento.

Dopo che viene eseguita l'assegnazione, gli asterischi che identificano i picchi selezionati per l'assegnazione sono sostituiti con un segno di spunta per indicare che l'assegnazione è stata effettuata o con una x per indicare che non è stata possibile alcuna assegnazione.

---

**Nota:** le regole di frammentazione sono integrate nel software e non possono essere modificate.

---

### Assegnazione di formule proposte e strutture

Ogni metabolita deve avere uno spettro MS/MS perché possano essere assegnate strutture dei frammenti. Per aggiungere uno spettro, fare riferimento alla sezione: [Aggiunta di più spettri con il pulsante Add MS/MS](#).

1. Nel pannello Workspace fare clic su **Results**.  
Viene visualizzata l'area di lavoro Results.
2. Fare clic su **Open**.  
Viene visualizzata la finestra di dialogo Open Results.
3. Spostarsi sul file appropriato e selezionarlo.
4. Fare clic su **OK**.  
Viene visualizzata la vista Results.
5. Nel campo **Show**, selezionare **Interpretation**.
6. Caricare e modificare una struttura candidata. Fare riferimento alle sezioni: [Caricamento di una struttura](#) e [Modifica di un struttura](#).
7. Se necessario, preparare l'assegnazione strutturale. Fare riferimento alla sezione: [Preparazione dell'assegnazione strutturale](#).
8. Nel riquadro Structure della vista Interpretation fare clic su **Assign**.  
Tre tabelle sono visualizzate sotto il riquadro MS/MS: la tabella Fragments che mostra i frammenti identificati, la tabella Structure Details che mostra le strutture potenziali e la tabella Contained Neutral Losses che mostra le perdite neutre contenute.

---

**Nota:** se non viene caricata una struttura, il software assegna solo formule potenziali ai frammenti.

---

### Selezione di una struttura della formula per ogni frammento

1. Se appropriato, nella vista Interpretation fare clic con il pulsante destro del mouse su ognuna delle tabelle Fragments, Structure Details e Contained Neutral Losses, quindi fare clic su **Show Hidden Rows**.

---

**Nota:** nella tabella Fragments, è selezionata la casella di controllo **Use** della riga che contiene il punteggio più elevato per il valore  $m/z$ . Nella tabella Structure Details, è selezionata la casella di controllo **Use** della riga con il punteggio più elevato. Nella tabella Contained Neutral Losses, è selezionata la casella di controllo **Use** di tutte le righe.

---

2. Nella tabella Fragments, selezionare la casella di controllo **Use** per identificare la riga che contiene la formula più accurata per ogni valore  $m/z$ .

## Caratterizzazione dei dati MS/MS

---

**Suggerimento!** Nella tabella Fragments, selezionare la casella di controllo **Use** in più righe per selezionare più formule potenziali per ogni frammento.

---

3. Nella tabella Structure Details, selezionare la casella di controllo **Use** per identificare le porzioni della struttura che corrispondono in modo più accurato alla formula selezionata.
  4. Nella tabella Contained Neutral Losses, selezionare la casella di controllo **Use** per identificare la riga che riflette in modo più accurato le perdite neutre contenute.
- 

**Suggerimento!** Nelle tabelle Structure Details e Contained Neutral Losses, selezionare la casella di controllo **Use** in più righe per un particolare frammento.

---

5. Fare clic su **Apply**.  
I dati di interpretazione vengono salvati per il metabolita selezionato.
  6. Dopo aver apportato tutte le modifiche, fare clic su **Save**.
- 

**Suggerimento!** Per eliminare tutti i dati di interpretazione per uno specifico metabolita, fare clic su **Remove**.

---

## Informazioni sulla scheda Structure Candidates

Quando viene utilizzata la generazione automatica della struttura, la scheda Structure Candidates nel riquadro Structure charts viene compilata con un elenco di strutture per il catabolita o il metabolita che soddisfa le condizioni impostate nella finestra di dialogo Options. Fare riferimento alla sezione: [Opzioni di elaborazione del lotto](#). Il software genera strutture per i seguenti tipi di metaboliti o cataboliti:

- Metaboliti con una o più scissioni
- Metaboliti con biotrasformazione singola
- Metaboliti con una scissione e biotrasformazione singola

Nel caso di metabolismo più complesso, l'utente può fornire o modificare una struttura di metabolita personalizzata e valutare tale proposta di struttura.

L'elenco di strutture (indicato come l'istogramma) contiene le seguenti colonne di informazioni:

Colonna	Descrizione
Rank	Indica la posizione o la classifica delle strutture.

Colonna	Descrizione
<b>Relative Evidence</b>	<p>La classifica o il punteggio si basa su un confronto tra lo spettro MS/MS della struttura padre e lo spettro MS/MS dei metaboliti. I frammenti di metabolita vengono quindi confrontati con quelli del padre per identificare frammenti spostati e non spostati. Anche altri attributi, quali l'intensità frammento e l'unicità di una proposta, sono considerati nella strategia di classifica generale. La classifica generale finale indica la probabilità che una biotrasformazione o una scissione abbia luogo a un particolare indice atomico.</p> <p>Questa colonna consente inoltre all'utente di passare da una struttura all'altra. Fare riferimento alla sezione: <a href="#">Passaggio da una struttura all'altra</a>.</p>
<b>Apply to Results</b>	Una casella di controllo selezionata indica che la struttura corrispondente verrà salvata per il file Results.

Il numero totale di candidati è mostrato nella tabella istogramma, immediatamente sopra la colonna **Apply to Results**.

Le strutture generate automaticamente non possono essere modificate. Gli utenti possono caricare una struttura, apportare le modifiche necessarie e quindi selezionare la casella di controllo **Apply to Results** per includere le strutture nel file Results. Fare riferimento ai passaggi 7 e 8 delle sezioni: [Caricamento di una struttura](#) e [Modifica di un struttura](#).

### Passaggio da una struttura all'altra

Fare clic su una barra blu nell'istogramma.  
La struttura corrispondente viene visualizzata nel riquadro Structure.

### Selezione di un riquadro vuoto

Fare clic sulla prima linea nell'istogramma.  
La prima linea nell'istogramma contiene le parole `No structure`. Il riquadro Structure si aggiorna con la frase `No structure` visualizzata.

### Aggiunta di una struttura

**Nota:** è possibile aggiungere una sola struttura all'elenco di strutture generate automaticamente. Se viene aggiunta un'ulteriore struttura, la struttura aggiunta dall'utente precedente viene sovrascritta.

1. Nel riquadro Structure fare clic su **Load** e selezionare l'opzione **Load Structure**. Viene visualizzata la finestra di dialogo Open Structure File.
2. Spostarsi su un file mol o sdf e selezionarlo.
3. Fare clic su **Open**.

La struttura selezionata viene mostrata nel riquadro Structure e una riga viene aggiunta alla tabella dell'istogramma, immediatamente sopra la prima struttura generata

## Caratterizzazione dei dati MS/MS

---

automaticamente. La tonalità di blu della riga della struttura caricata sarà leggermente diversa dal blu delle righe che contengono le strutture generate automaticamente. La posizione in classifica viene impostata a 0.

La struttura aggiunta dall'utente può essere modificata. Qualsiasi modifica apportata alla struttura verrà memorizzata quando l'utente esce dal riquadro Structure.

### Selezione di una struttura da visualizzare

1. Fare clic su una barra blu nell'istogramma.  
La struttura corrispondente viene visualizzata nel riquadro Structure. Per impostazione predefinita alla prima struttura nell'istogramma è assegnata la tabella Fragments.
2. Per assegnare la tabella Fragments per una struttura diversa, fare clic sulla barra blu nell'istogramma, quindi fare clic su **Assign**.

### Eliminazione di una struttura

1. Fare clic su una barra blu nell'istogramma.  
La struttura corrispondente viene visualizzata nel riquadro Structure.
2. Nel riquadro Structure fare clic su **Delete**.  
La struttura viene rimossa dal riquadro Structure, la linea blu selezionata viene rimossa dall'istogramma e la tabella Fragments viene rimossa. La struttura della linea successiva nell'istogramma viene visualizzata nel riquadro Structure.

## Associazione di strutture Markush

Dopo aver assegnato le strutture dei frammenti, utilizzare le strutture Markush per mostrare le posizioni approssimative per le modificazioni chimiche.

---

**Nota:** le strutture dei frammenti non possono essere assegnate a un metabolita che contenga una struttura Markush.

---

1. Selezionare una porzione della struttura.
2. Fare clic con il pulsante destro del mouse sopra o sotto la struttura e quindi fare clic su **Attach Markush**.
3. Selezionare **Single Bond** o **Double Bond**.
4. Nella finestra di dialogo Select Symbol immettere il simbolo o la formula richiesta.
5. Fare clic su **OK**.

La struttura Markush viene visualizzata con una linea tratteggiata che la collega alla parte selezionata della struttura.

---

**Nota:** le modifiche apportate alla struttura possono essere apportate dopo l'assegnazione dei dati di interpretazione, se è associata una struttura Markush. Se la struttura Markush viene rimossa, le eventuali modifiche elimineranno tutti i dati di interpretazione per il metabolita.

---

## Informazioni sulle etichette dei picchi

Un picco può essere etichettato con:

- una formula ione o tipo di ione (per un peptide)
- una formula ione o tipo di ione (per un peptide) ed errore ppm
- una formula ione o tipo di ione (per un peptide) ed errore mDa

### Aggiunta di un'etichetta di picco allo spettro MS/MS

1. Nella vista Interpretation fare clic su **Options**.  
Viene visualizzata la finestra di dialogo Options.
2. Nel campo **Label peaks with** selezionare il tipo di etichetta.
3. Fare clic su **OK**.
4. Nella tabella Fragments selezionare la riga che contiene il picco da etichettare.
5. Fare clic su .

**Suggerimento!** Per rimuovere tutte le etichette dallo spettro MS/MS fare clic su .

## Informazioni sui filtri di interpretazione per le molecole piccole

Applicare i filtri per affinare i dati visualizzati nella tabella Fragments. Per accedere alla finestra di dialogo Interpretation Filters, fare clic sull'icona  nella tabella Fragments.

Filtro	Descrizione
<b>Rings and Double Bonds</b>	
<b>RDB</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Integer value (even-electron):</b> mostra solo i frammenti che hanno un valore intero per anelli e legami doppi.</li> <li>• <b>Non-integer value (odd-electron):</b> mostra solo i frammenti che hanno un valore non intero per anelli e legami doppi.</li> </ul>
<b>Mass Range</b>	
<b>m/z from __ to __</b>	Mostra solo i frammenti con un valore <i>m/z</i> compreso nell'intervallo specificato.
<b>Mass Accuracy</b>	
<b>Accuracy within</b>	<p>Mostra solo i frammenti con un'accuratezza della massa compresa nell'intervallo specificato.</p> <p><b>Nota:</b> la misurazione dell'accuratezza della massa in mDa oppure in ppm dipende dalla selezione effettuata nella finestra di dialogo Options.</p>
<b>Intensity</b>	

## Caratterizzazione dei dati MS/MS

---

Filtro	Descrizione
Intensity above __ cps	Mostra solo i frammenti con un valore di intensità superiore al valore specificato.
<b>Score</b>	
Score above	Mostra solo i frammenti con un punteggio superiore al valore specificato.
<b>Structures</b>	
Fragments with assigned structures	Mostra solo i frammenti associati a strutture.

## Flussi di lavoro dei peptidi

[Caricamento di una sequenza](#)

[Modifica di una sequenza](#)

[Impostazione delle opzioni](#)

[Assegnazione di sequenze dei frammenti](#)

[Informazioni sulle etichette dei picchi](#)



[Aggiunta di un'etichetta di picco allo spettro MS/MS](#)

[Informazioni sui filtri di interpretazione per i peptidi](#)

## Caricamento di una sequenza

1. Nel pannello Workspace fare clic su **Results**.
2. Fare clic su **Open**.  
Viene visualizzata la finestra di dialogo Open Results.
3. Spostarsi su un file Results e selezionarlo.
4. Fare clic su **OK**.
5. Nel campo **Show**, selezionare **Interpretation**.
6. Selezionare una riga nella tabella Potential Metabolites.
7. Eseguire una delle seguenti operazioni:
  - Se il riquadro Sequence è vuoto, fare clic su **Load Parent**.
  - Se nel riquadro Sequence è già presente una sequenza ed è necessario aggiungere una nuova sequenza, fare clic su **Enter Sequence** per cancellare il riquadro, quindi fare clic su **Load Parent**.

La sequenza padre viene visualizzata nel riquadro Sequence. L'etichetta seguente viene aggiunta sopra il riquadro: **AA Index:** [ ], **Mono. Mass:** [ ], **m/z:** [ ], **Composition:** [ ], dove:

- **AA Index:** (Indice aminoacido) Gli indici degli aminoacidi indicano la posizione del primo e dell'ultimo residuo della sequenza nella sequenza padre. Se la sequenza dei cataboliti non è un sottoinsieme della sequenza padre, l'indice AA non viene visualizzato.
  - **Mono. Mass:** massa monoisotopica del componente neutro.
  - **m/z:** valore massa-carica. La carica è riportata tra parentesi.
  - **Composition:** composizione elementale senza carica della sequenza.
8. Se sono necessarie modifiche, modificare la sequenza. Fare riferimento alla sezione: [Modifica di una sequenza](#).

## Modifica di una sequenza

Dopo che una sequenza per uno specifico metabolita viene creata o caricata, può essere modificata.

1. Fare clic nella sequenza in cui sono richieste le modifiche.
2. Apportare tutte le modifiche necessarie. Fare riferimento alla sezione: [Convenzioni di denominazione delle sequenze peptidiche](#).

## Impostazione delle opzioni

1. Nella vista Interpretation fare clic su **Options**. Viene visualizzata la finestra di dialogo Options.
2. Modificare i parametri di frammentazione ed etichettatura. Fare riferimento alla tabella: [Tabella 8-16](#).

**Tabella 8-16: Finestra di dialogo Options**

Opzione	Descrizione
<b>Minimum signal-to-noise ratio</b>	Utilizzare questo campo per specificare la soglia utilizzata per assegnare i picchi dei frammenti. I picchi sotto questa soglia non verranno assegnati. Il rumore è definito come il picco con l'intensità più bassa nello spettro MS/MS.
<b>MS/MS m/z tolerance (ppm or mDa)</b>	Utilizzare questo campo per specificare la tolleranza <i>m/z</i> MS/MS. Per un picco di frammento a cui deve essere assegnato un tipo di ione e una sequenza, l'accuratezza della massa deve rientrare nella tolleranza <i>m/z</i> MS/MS specificata.
<b>Fragmentation Settings</b>	

Tabella 8-16: Finestra di dialogo Options (continua)

Opzione	Descrizione
<b>Fragment Types</b>	<p>Selezionare il tipo di frammento appropriato. È possibile selezionare più tipi. Le opzioni includono:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• a</li> <li>• b</li> <li>• y</li> </ul>
<b>Maximum number of bonds to break</b>	<p>Utilizzare questo campo per specificare il numero massimo di legami da spezzare. Le opzioni includono:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• 1</li> <li>• 2</li> <li>• 3</li> </ul> <hr/> <p><b>Suggerimento!</b> per i peptidi più complessi, la selezione di 3 come numero massimo di legami da spezzare causa un aumento del tempo di elaborazione richiesto.</p>
<b>Break linkages</b>	<p>Se vi sono collegamenti nella sequenza peptidica, selezionare questa casella di controllo per consentire che vengano spezzati i collegamenti tra i singoli aminoacidi.</p>
<b>Label Settings</b>	
<b>Label peaks with</b>	<p>Utilizzare questo campo per specificare le informazioni che devono essere mostrate nelle etichette dei picchi. Le opzioni includono:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Ion</li> <li>• Ion with ppm Error</li> <li>• Ion with mDa Error</li> <li>• Ion with Charge</li> </ul>
<b>Apply options to all potential metabolites</b>	<p>Selezionare questa casella di controllo per applicare le opzioni correnti a tutti i metaboliti non assegnati.</p>

## Assegnazione di sequenze dei frammenti

**Nota:** le regole di frammentazione sono integrate nel software e non possono essere modificate.

1. Nel pannello Workspace fare clic su **Results**. Viene visualizzata l'area di lavoro Results.

2. Fare clic su **Open**.  
Viene visualizzata la finestra di dialogo Open Results.
3. Spostarsi sul file appropriato e selezionarlo.
4. Fare clic su **OK**.  
Viene visualizzata la vista Results.
5. Nel campo **Show**, selezionare **Interpretation**.
6. Caricare una sequenza Fare riferimento alla sezione: [Caricamento di una sequenza](#).
7. Nel riquadro Sequence fare clic su **Assign**.  
La tabella Fragments viene compilata con i risultati di interpretazione per la sequenza caricata, utilizzando le opzioni selezionate. Fare riferimento alla sezione: [Impostazione delle opzioni](#). Al riquadro MS/MS vengono aggiunte linee verticali verdi che identificano gli ioni che hanno una corrispondenza nella tabella Fragments. L'etichetta sopra la tabella viene aggiornata per indicare:
  - **Assigned: x of y peaks**. Indica il numero di picchi che sono stati assegnati.
  - **MSMS Peak Area Assigned: x%**. Indica la percentuale dell'area del picco MS/MS che è stata assegnata.
  - **Sequence Coverage: x of y consecutive amino acids**. Indica il numero di aminoacidi consecutivi coperti dalla sequenza.

## Informazioni sulla scheda Sequence Candidates

Quando viene utilizzata la generazione automatica della sequenza, la scheda Sequence Candidates nel riquadro Sequence charts viene compilata con un elenco di sequenze per il catabolita o il metabolita che soddisfa le condizioni impostate nella finestra di dialogo Options. Fare riferimento alla sezione: [Opzioni di elaborazione del lotto](#). Il software genera sequenze per i seguenti tipi di metaboliti o cataboliti:

- Scissioni *n*: fino a quattro modificazioni sulle scissioni
- Padre: dove *n* fa riferimento a qualsiasi numero di scissioni

L'elenco di sequenze (indicato come l'istogramma) contiene le seguenti colonne di informazioni:

Colonna	Descrizione
<b>Rank</b>	Indica la classifica relativa di tutte le sequenze di isomeriche trovate per il metabolita specificato. La classifica si basa sull'area del picco MS/MS assegnata.
<b>View sequence fragments</b>	I valori percentuali indicano il punteggio della sequenza proposta. Questa colonna consente inoltre all'utente di passare da una sequenza all'altra. Fare riferimento alla sezione: <a href="#">Passaggio da una sequenza all'altra</a> .
<b>AA Index</b>	Indica gli aminoacidi iniziale e finale della sequenza.

## Caratterizzazione dei dati MS/MS

---

Colonna	Descrizione
<b>Apply to Results</b>	Una casella di controllo selezionata indica che la sequenza corrispondente verrà salvata per il file Results.

Il numero totale di candidati è mostrato nella tabella istogramma, immediatamente sopra la colonna **Apply to Results**.

Le sequenze generate automaticamente non possono essere modificate. Gli utenti possono caricare una sequenza, apportare le modifiche necessarie e quindi selezionare la casella di controllo **Apply to Results** per includere le sequenze nel file Results. Fare riferimento al passaggio 7 delle sezioni: [Caricamento di una sequenza](#) e [Modifica di una sequenza](#).

### Informazioni sulle etichette dei picchi

Un picco può essere etichettato con:

- Una formula ione o tipo di ione (per un peptide)
- Una formula ione o tipo di ione (per un peptide) ed errore ppm
- Una formula ione o tipo di ione (per un peptide) ed errore mDa
- Una formula ione o tipo di ione (per un peptide) con carica

### Aggiunta di un'etichetta di picco allo spettro MS/MS

1. Nella vista Interpretation fare clic su **Options**. Viene visualizzata la finestra di dialogo Options.
2. Nel campo **Label peaks with** selezionare il tipo di etichetta.
3. Fare clic su **OK**.
4. Eseguire una delle seguenti operazioni:

**Tabella 8-17: Aggiunta di etichette dei picchi**

Per etichettare un picco	Per etichettare tutti i picchi
Nella tabella Fragments selezionare la riga che contiene il picco da etichettare.	Fare clic su 
Fare clic su  .	—

---

**Suggerimento!** Per rimuovere tutte le etichette dallo spettro MS/MS fare clic su .

---

### Informazioni sui filtri di interpretazione per i peptidi

Applicare i filtri per affinare i dati visualizzati nella tabella Fragments. Per accedere alla finestra di dialogo Interpretation Filters, fare clic sull'icona  nella tabella Fragments.

Filtro	Descrizione
<b>Mass Range</b>	
m/z from ___ to ___	Mostra solo i frammenti con un valore <i>m/z</i> compreso nell'intervallo specificato.
<b>Charge Range</b>	
Charge from ___ to ___	Mostra solo i frammenti con una carica compresa nell'intervallo selezionato. Le opzioni includono: <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>From range:</b> da 1 a 10, compresi</li> <li>• <b>To range:</b> da 1 a 10, compresi</li> </ul> <p><b>Nota:</b> il valore To range deve essere maggiore o uguale al valore From range.</p>
<b>Ion Type</b>	
Fragment type	Selezionare il tipo di frammento appropriato. È possibile selezionare più tipi. Sono disponibili le opzioni seguenti: <ul style="list-style-type: none"> <li>• a</li> <li>• b</li> <li>• y</li> </ul>
<b>Mass Accuracy</b>	
Accuracy within	Mostra solo i frammenti con un'accuratezza della massa compresa nell'intervallo specificato. <p><b>Nota:</b> la misurazione dell'accuratezza della massa in mDa oppure in ppm dipende dalla selezione effettuata nella finestra di dialogo Options.</p>
<b>Intensity</b>	
Intensity above ___ cps	Mostra solo i frammenti con un valore di intensità superiore al valore specificato.

## Flussi di lavoro degli oligonucleotidi

[Caricamento di una sequenza](#)

[Modifica di una sequenza](#)

[Impostazione delle opzioni](#)

[Assegnazione di sequenze dei frammenti](#)

[Informazioni sulle etichette dei picchi](#)



[Aggiunta di un'etichetta di picco allo spettro MS/MS](#)

[Informazioni sui filtri di interpretazione per i oligonucleotidi](#)

### Caricamento di una sequenza

1. Nel pannello Workspace fare clic su **Results**.
2. Fare clic su **Open**.  
Viene visualizzata la finestra di dialogo Open Results.
3. Spostarsi su un file Results e selezionarlo.
4. Fare clic su **OK**.
5. Nel campo **Show**, selezionare **Interpretation**.
6. Selezionare una riga nella tabella Potential Metabolites.
7. Se il riquadro Sequence è vuoto, effettuare una delle seguenti operazioni:
  - Fare clic su **Load Parent**.
  - Digitare o incollare una sequenza nel riquadro.

L'etichetta seguente viene aggiunta sopra il riquadro: **Mono. Mass: [ ], m/z: [ ], Composition: [ ]**, dove:

- **Mono. Mass**: massa monoisotopica del componente neutro.
  - **m/z**: valore massa-carica. La carica è riportata tra parentesi.
  - **Composition**: composizione elementale senza carica della sequenza.
8. Se sono necessarie modifiche, modificare la sequenza. Fare riferimento alla sezione: [Modifica di una sequenza](#).

### Modifica di una sequenza

Dopo che una sequenza per uno specifico metabolita viene creata o caricata, può essere modificata.

1. Fare clic nella sequenza in cui sono richieste le modifiche.
2. Apportare tutte le modifiche necessarie. Fare riferimento alla sezione: [Convenzioni di denominazione delle sequenze oligonucleotidiche](#).

### Impostazione delle opzioni

1. Nella vista Interpretation fare clic su **Options**.  
Viene visualizzata la finestra di dialogo Options.
2. Modificare i parametri di frammentazione ed etichettatura. Fare riferimento alla tabella: [Tabella 8-18](#).

Tabella 8-18: Finestra di dialogo Options

Opzione	Descrizione
<b>Minimum signal-to-noise ratio</b>	Utilizzare questo campo per specificare la soglia utilizzata per assegnare i picchi dei frammenti. I picchi sotto questa soglia non vengono assegnati. Il rumore è definito come il picco con l'intensità più bassa nello spettro MS/MS.
<b>MS/MS m/z tolerance (ppm or mDa)</b>	Utilizzare questo campo per specificare la tolleranza <i>m/z</i> MS/MS. Per un picco di frammento a cui deve essere assegnato un tipo di ione e una sequenza, l'accuratezza della massa deve rientrare nella tolleranza <i>m/z</i> MS/MS specificata.
<b>Fragmentation Settings</b>	
<b>Fragment Types</b>	<p>Selezionare il tipo di frammento appropriato. È possibile selezionare più tipi. Le opzioni includono:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• a</li> <li>• b</li> <li>• c</li> <li>• d</li> <li>• y</li> <li>• Other</li> <li>• wb-H20</li> <li>• x</li> <li>• y</li> </ul> <p>Fare riferimento alla sezione: <a href="#">Esempio di oligonucleotide personalizzato</a>.</p>
<b>Maximum number of bonds to break</b>	<p>Utilizzare questo campo per specificare il numero massimo di legami da spezzare. Le opzioni includono:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• 1</li> <li>• 2</li> </ul> <p>Si consiglia un valore di 2.</p> <hr/> <p><b>Suggerimento!</b> Per gli oligonucleotidi più complessi, la selezione di 3 come numero massimo di legami da spezzare causa un aumento del tempo di elaborazione richiesto.</p> <hr/>
<b>Maximum water and Base losses</b>	Specifica le perdite di acqua massime che possono verificarsi durante la frammentazione. Si consiglia un valore di 1.
<b>Label Settings</b>	

Tabella 8-18: Finestra di dialogo Options (continua)

Opzione	Descrizione
<b>Label peaks with</b>	Utilizzare questo campo per specificare le informazioni che devono essere mostrate nelle etichette dei picchi. Le opzioni includono: <ul style="list-style-type: none"><li>• <b>Ion</b></li><li>• <b>Ion with ppm Error</b></li><li>• <b>Ion with mDa Error</b></li><li>• <b>Ion with Charge</b></li></ul>
<b>Apply options to all potential metabolites</b>	Selezionare questa casella di controllo per applicare le opzioni correnti a tutti i metaboliti non assegnati.

## Assegnazione di sequenze dei frammenti

---

**Nota:** le regole di frammentazione sono integrate nel software e non possono essere modificate.

---

1. Nel pannello Workspace fare clic su **Results**.  
Viene visualizzata l'area di lavoro Results.
2. Fare clic su **Open**.  
Viene visualizzata la finestra di dialogo Open Results.
3. Spostarsi sul file appropriato e selezionarlo.
4. Fare clic su **OK**.  
Viene visualizzata la vista Results.
5. Nel campo **Show**, selezionare **Interpretation**.
6. Caricare una sequenza Fare riferimento alla sezione: [Caricamento di una sequenza](#).
7. Nel riquadro Sequence fare clic su **Assign**.  
La tabella Fragments viene compilata con i risultati di interpretazione per la sequenza caricata, utilizzando le opzioni selezionate. Fare riferimento alla sezione: [Impostazione delle opzioni](#). Al riquadro MS/MS vengono aggiunte linee verticali ciano che identificano gli ioni che hanno una corrispondenza nella tabella Fragments. L'etichetta sopra la tabella viene aggiornata per indicare:
  - **Assigned: x of y peaks**. Indica il numero di picchi che sono stati assegnati.
  - **MSMS Peak Area Assigned: x%**. Indica la percentuale dell'area del picco MS/MS che è stata assegnata.
  - **Sequence Coverage: x of y consecutive nucleotides**. Indica il numero di nucleotidi consecutivi coperti dalla sequenza.

## Informazioni sulle etichette dei picchi

Un picco può essere etichettato con:

- Una formula ione o tipo di ione (per un oligonucleotide)
- Una formula ione o tipo di ione (per un oligonucleotide) ed errore ppm
- Una formula ione o tipo di ione (per un oligonucleotide) ed errore mDa
- Una formula ione o tipo di ione (per un oligonucleotide) con carica

### Aggiunta di un'etichetta di picco allo spettro MS/MS

1. Nella vista Interpretation fare clic su **Options**. Viene visualizzata la finestra di dialogo Options.
2. Nel campo **Label peaks with** selezionare il tipo di etichetta.
3. Fare clic su **OK**.
4. Eseguire una delle seguenti operazioni:

**Tabella 8-19: Aggiunta di etichette dei picchi**

Per etichettare un picco	Per etichettare tutti i picchi
Nella tabella Fragments selezionare la riga che contiene il picco da etichettare.	Fare clic su 
Fare clic su  .	—

**Suggerimento!** Per rimuovere tutte le etichette dallo spettro MS/MS fare clic su .

## Informazioni sui filtri di interpretazione per i oligonucleotidi

Applicare i filtri per affinare i dati visualizzati nella tabella Fragments. Per accedere alla finestra di dialogo Interpretation Filters, fare clic sull'icona  nella tabella Fragments.

Filtro	Descrizione
<b>Mass Range</b>	
m/z from __ to __	Mostra solo i frammenti con un valore <i>m/z</i> compreso nell'intervallo specificato.
<b>Charge Range</b>	
Charge from __ to __	Mostra solo i frammenti con una carica superiore al valore selezionato. I valori validi vanno da 1 a 10.
<b>Ion Type</b>	

## Caratterizzazione dei dati MS/MS

---

Filtro	Descrizione
<b>Fragment type</b>	Selezionare il tipo di frammento appropriato. È possibile selezionare più tipi. Sono disponibili le opzioni seguenti: <ul style="list-style-type: none"><li>• <b>a</b></li><li>• <b>b</b></li><li>• <b>c</b></li><li>• <b>d</b></li><li>• <b>w</b></li><li>• <b>wb-H2O</b></li><li>• <b>x</b></li><li>• <b>y</b></li><li>• <b>Other</b></li><li>• <b>Base loss</b></li><li>• <b>Water loss</b></li><li>• <b>Internals</b></li></ul>
<b>Mass Accuracy</b>	
<b>Accuracy within</b>	Mostra solo i frammenti con un'accuratezza della massa compresa nell'intervallo specificato. <hr/> <b>Nota:</b> la misurazione dell'accuratezza della massa in mDa oppure in ppm dipende dalla selezione effettuata nella finestra di dialogo Options. <hr/>
<b>Intensity</b>	
<b>Intensity above __ cps</b>	Mostra solo i frammenti con un valore di intensità superiore al valore specificato.

## Flusso di lavoro degli ADC

[Caricamento di una struttura](#)

[Modifica di un struttura](#)

[Caricamento di una sequenza](#)

[Modifica di una sequenza](#)

[Impostazione delle opzioni](#)

[Assegnazione di ioni frammento per struttura e sequenza](#)

[Informazioni sulle etichette dei picchi](#)



[Aggiunta di un'etichetta di picco allo spettro MS/MS](#)

[Informazioni sui filtri interpretazione per ADC](#)

## Caricamento di una struttura

Prima di avviare l'elucidazione strutturale di un metabolita, il caricamento di una struttura consente al software di determinare le strutture dei frammenti potenziali.

**Nota:** se non si carica una struttura, possono comunque essere assegnate formule potenziali ai frammenti.

1. Nel pannello Workspace fare clic su **Results**.
2. Fare clic su **Open**.  
Viene visualizzata la finestra di dialogo Open Results.
3. Spostarsi su un file Results e selezionarlo.
4. Fare clic su **OK**.
5. Nel campo **Show**, selezionare **Interpretation**.
6. Selezionare una riga nella tabella Potential Metabolites.
7. Nel riquadro Structure fare clic su **Load** e selezionare l'opzione **Load Parent Structure**.  
Il riquadro viene compilato con la struttura padre del metabolita selezionato. Il sito di legame contrassegnato (come risulta dal file dei parametri di elaborazione incorporato) o gli atomi vengono visualizzati in viola.
8. Se sono necessari piccoli cambiamenti, modificare la struttura. Fare riferimento alla sezione: [Modifica di un struttura](#).

## Modifica di un struttura

Dopo aver caricato una struttura per uno specifico metabolita, utilizzare gli strumenti di modifica per apportare piccoli cambiamenti.

**Suggerimento!** Utilizzare gli strumenti di modifica per apportare piccoli cambiamenti a una struttura, ad esempio diverse posizioni di collegamento per una trasformazione metabolica. Gli strumenti di modifica non devono essere utilizzati per creare nuove strutture o per apportare grandi modifiche alle strutture esistenti.

**Tabella 8-20: Modifica di un struttura**

Per eseguire questa operazione	Procedere come segue
Aggiungere un atomo a una struttura	Trascinare un simbolo specifico sulla palette in una nuova posizione. L'atomo aggiunto forma un legame singolo con l'atomo esistente più vicino.

Tabella 8-20: Modifica di un struttura (continua)

Per eseguire questa operazione	Procedere come segue
Creare nuovi atomi sulla palette	Fare clic su un quadrato vuoto, digitare il simbolo nella finestra di dialogo Specify Symbol, quindi fare clic su <b>OK</b> .  <b>Suggerimento!</b> Fare clic sul quadrato aggiunto e digitare un nuovo simbolo per creare atomi diversi.
Evidenziare una porzione della struttura	Trascinare un cerchio attorno agli atomi e legami richiesti.
Spostare uno o più atomi	Trascinare una porzione evidenziata della struttura nella nuova posizione. Se la porzione è legata a un altro atomo, il legame si sposta nella nuova posizione. Se la porzione è collegata a due o più atomi, la porzione si sposta ma i legami esistenti restano invariati.
Inserire una struttura in una struttura esistente	Fare clic con il pulsante destro del mouse, quindi fare clic su una delle seguenti opzioni: <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Insert .mol File</b> per aggiungere un'altra struttura.</li> <li>• <b>Insert Conjugate</b> per aggiungere una struttura coniugata specifica.</li> </ul>
Eliminare uno o più atomi	Fare clic con il pulsante destro del mouse su una porzione evidenziata della struttura, quindi fare clic su <b>Remove Selected Atoms</b> .
Creare un legame	Selezionare due atomi non legati, fare clic con il pulsante destro del mouse sulla selezione, fare clic su <b>New Bond</b> e selezionare il tipo di legame.
Modificare un legame	Fare clic con il pulsante destro del mouse su un legame, fare clic su <b>Set Bond Type</b> e selezionare il tipo di legame.
Eliminare un legame	Fare clic con il pulsante destro del mouse su un legame, quindi fare clic su <b>Remove Bond</b> .
Modificare lo stato di carica di un atomo esistente	Fare clic con il pulsante destro del mouse sull'atomo, fare clic su <b>Atom Charge State</b> e selezionare lo stato.

**Suggerimento!** Per salvare la struttura modificata come file separato, fare clic su **Save As**.

**Suggerimento!** Le strutture possono essere salvate come file mol o sdf. Immettere l'estensione appropriata nella finestra di dialogo Save As.

## Caricamento di una sequenza

1. Nel pannello Workspace fare clic su **Results**.
2. Fare clic su **Open**.  
Viene visualizzata la finestra di dialogo Open Results.
3. Spostarsi su un file Results di un peptide e selezionarlo.
4. Fare clic su **OK**.
5. Nel campo **Show**, selezionare **Interpretation**.
6. Selezionare una riga nella tabella Potential Metabolites.
7. Nel riquadro Structure fare clic su **Load** e selezionare l'opzione **Load Sequence**.  
Il riquadro Sequence viene compilato con la sequenza padre del metabolita selezionato.
8. Selezionare il residuo da coniugare, fare clic con il pulsante destro del mouse e selezionare **Mark Residue to Conjugate**.  
Il residuo selezionato viene visualizzato in viola.
9. Se sono necessarie modifiche, modificare la sequenza. Fare riferimento alla sezione: [Modifica di una sequenza](#).

## Modifica di una sequenza

Dopo che una sequenza per uno specifico metabolita viene creata o caricata, può essere modificata.

1. Fare clic nella sequenza in cui sono richieste le modifiche.
2. Apportare tutte le modifiche necessarie. Fare riferimento alla sezione: [Convenzioni di denominazione delle sequenze peptidiche](#).

## Impostazione delle opzioni

1. Nella vista Interpretation fare clic su **Options**.  
Viene visualizzata la finestra di dialogo Options.
2. Modificare i parametri di frammentazione e di etichettatura come descritto nella tabella: [Tabella 8-21](#).

**Tabella 8-21: Finestra di dialogo Options**

Opzione	Descrizione
<b>Number of fragment peaks selected for structure assignment</b>	Utilizzare questo campo per specificare il numero di picchi di frammenti che verrà assegnato per la porzione di struttura dell'ADC. Se si tratta di un sottoinsieme del numero totale di picchi, i picchi vengono scelti nell'ordine delle loro intensità.
<b>Minimum signal-to-noise ratio</b>	Utilizzare questo campo per specificare la soglia utilizzata per assegnare i picchi dei frammenti. I picchi sotto questa soglia non verranno assegnati.

Tabella 8-21: Finestra di dialogo Options (continua)

Opzione	Descrizione
<b>MS/MS m/z tolerance (ppm or mDa)</b>	Utilizzare questo campo per specificare la tolleranza MS/MS <i>m/z</i> , in ppm o mDa. Per un picco di frammento a cui deve essere assegnato una formula e potenzialmente una struttura, l'accuratezza della massa deve rientrare nella tolleranza <i>m/z</i> MS/MS specificata.
<b>Structure Fragmentation Settings</b>	
<b>Break aromatic rings</b>	Selezionare questa casella di controllo per spezzare l'anello aromatico.
<b>Maximum number of bonds to break</b>	Utilizzare questo campo per specificare il numero massimo di legami da spezzare. Le opzioni includono: <ul style="list-style-type: none"> <li>• 1</li> <li>• 2</li> <li>• 3</li> <li>• 4</li> </ul>
<b>Maximum number of C-C bonds to break</b>	Utilizzare questo campo per specificare il numero massimo di legami C-C da spezzare. Le opzioni includono: <ul style="list-style-type: none"> <li>• 0</li> <li>• 1</li> <li>• 2</li> <li>• 3</li> <li>• 4</li> </ul>
<b>Sequence Fragmentation Settings</b>	
<b>Fragment Types</b>	Selezionare il tipo di frammento appropriato. È possibile selezionare più tipi. Le opzioni includono: <ul style="list-style-type: none"> <li>• a</li> <li>• b</li> <li>• y</li> </ul>

Tabella 8-21: Finestra di dialogo Options (continua)

Opzione	Descrizione
<b>Maximum number of bonds to break</b>	Utilizzare questo campo per specificare il numero massimo di legami da spezzare. Le opzioni includono: <ul style="list-style-type: none"> <li>• 1</li> <li>• 2</li> <li>• 3</li> </ul> <hr/> <p><b>Nota:</b> per i peptidi più complessi, la selezione di 3 come numero massimo di legami da spezzare causa un aumento del tempo di elaborazione richiesto.</p> <hr/>
<b>Break linkages</b>	Se vi sono collegamenti nella sequenza peptidica, selezionare questa casella di controllo per consentire che vengano spezzati i collegamenti tra i singoli aminoacidi.
<b>Label Settings</b>	
<b>Label peaks with</b>	Utilizzare questo campo per specificare le informazioni che devono essere mostrate nelle etichette dei picchi. Le opzioni includono: <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Ion</b></li> <li>• <b>Ion with ppm Error</b></li> <li>• <b>Ion with mDa Error</b></li> <li>• <b>Ion with Charge</b></li> </ul>
<b>Apply options to all potential metabolites</b>	Selezionare questa casella di controllo per applicare le opzioni correnti a tutti i metaboliti non assegnati.

## Assegnazione di ioni frammento per struttura e sequenza

**Nota:** le regole di frammentazione sono integrate nel software e non possono essere modificate.

1. Nel pannello Workspace fare clic su **Results**.  
Viene visualizzata l'area di lavoro Results.
2. Fare clic su **Open**.  
Viene visualizzata la finestra di dialogo Open Results.
3. Spostarsi sul file appropriato e selezionarlo.
4. Fare clic su **OK**.  
Viene visualizzata la vista Results.
5. Nel campo **Show**, selezionare **Interpretation**.

## Caratterizzazione dei dati MS/MS

---

6. Caricare una struttura e una sequenza. Fare riferimento alla sezione: [Caricamento di una struttura](#) e [Caricamento di una sequenza](#).

---

**Nota:** deve essere caricata una sola struttura o sequenza. Questa procedura presuppone che siano state caricate entrambe.

---

7. Nel riquadro Structure fare clic su **Assign**.

Vengono compilate entrambe le viste Structure e Sequence negli spettri TOF MS/MS, con la vista Structure visualizzata per impostazione predefinita.

---

**Nota:** se è stata caricata solo la struttura padre, viene visualizzata la vista Structures della tabella Fragments. Se è stata caricata solo la sequenza padre, viene visualizzata la vista Sequences della tabella Fragments.

---

Nella vista Structure, la tabella Fragments è compilata con i frammenti identificati, la tabella Structure Details è compilata con le strutture potenziali e la tabella Contained Neutral Losses è compilata con le perdite neutre contenute. I risultati si basano sulle opzioni selezionate. Fare riferimento alla sezione: [Impostazione delle opzioni](#). Al riquadro MS/MS vengono aggiunte linee verticali azzurre che identificano gli ioni che hanno una corrispondenza nella tabella Fragments.

---

**Nota:** se la struttura non presenta risultati di interpretazione, nella tabella Fragments viene visualizzato `No structures assigned`.

---

L'etichetta sopra la tabella Fragments indica:

- **Assigned:**  $a$  of  $b$  peaks (Structure:  $x$ , Sequence:  $y$ ), dove  $a$  è la somma di  $x$  e  $y$  e indica il numero di picchi assegnati,  $b$  indica il numero totale di picchi,  $x$  indica il numero di righe nella vista Structures e  $y$  indica il numero di righe nella vista Sequences.
- **MSMS Peak Area Assigned:**  $w\%$ , dove  $w$  indica l'area percentuale dei picchi assegnati dai dati spettrali.

La tabella Fragments contiene una colonna **Use as Conjugate**. Questa colonna contiene una casella di controllo per ogni riga nella tabella. Se la casella di controllo è disponibile per la selezione, è disponibile un sito di legame sulla struttura proposta per il frammento. Se la casella di controllo non è disponibile per la selezione, non è presente un sito di legame. Se la casella di controllo è selezionata, il frammento è utilizzato per la coniugazione con la sequenza. Se la casella di controllo non è selezionata, il frammento non è utilizzato. Per impostazione predefinita, viene selezionato un massimo di tre frammenti che contengono un sito di legame, in base ad accuratezza e abbondanza. La prima riga nella tabella è selezionata per impostazione predefinita.

8. Assicurarsi che sia selezionata la vista Structures.
9. Se appropriato, fare clic con il pulsante destro del mouse su ognuna delle tabelle Fragments, Structure Details e Contained Neutral Losses, quindi fare clic su **Show Hidden Rows**.

**Nota:** nella tabella Fragments, è selezionata la casella di controllo **Use** della riga che contiene il punteggio più elevato per il valore  $m/z$ . Nella tabella Structure Details, è selezionata la casella di controllo **Use** della riga con il punteggio più elevato. Nella tabella Contained Neutral Losses, è selezionata la casella di controllo **Use** di tutte le righe.

---

10. Nella tabella Fragments, selezionare la casella di controllo **Use** per identificare la riga che contiene la formula più accurata per ogni valore  $m/z$ .
- 

**Suggerimento!** Selezionare la casella di controllo **Use** in più righe per selezionare più formule potenziali per ogni frammento.

---

Il valore  $m/z$  assegnato è indicato con un carattere in grassetto e corsivo.

11. Nella tabella Structure Details, selezionare la casella di controllo **Use** per identificare le porzioni della struttura che corrispondono in modo più accurato alla formula selezionata.
  12. Nella tabella Contained Neutral Losses, selezionare la casella di controllo **Use** per identificare la riga che riflette in modo più accurato le perdite neutre contenute.
- 

**Suggerimento!** Nelle tabelle Structure Details e Contained Neutral Losses, selezionare la casella di controllo **Use** in più righe per un particolare frammento.

---

13. Selezionare la vista Sequences.

Nella vista Sequence, la tabella Fragments è compilata con i risultati dell'interpretazione, in base alle opzioni selezionate (fare riferimento alla sezione: [Impostazione delle opzioni](#)), ai coniugati selezionati nella vista Structures, alle selezioni effettuate nella scheda Product Ions and Neutral Losses dei parametri specifici del composto (fare riferimento alla sezione: [Scheda Product Ions and Neutral Losses](#)) e alla sequenza. Al riquadro MS/MS vengono aggiunte linee verticali verdi che identificano gli ioni che hanno una corrispondenza nella tabella Fragments.

---

**Nota:** se la sequenza non presenta risultati di interpretazione, nella tabella Fragments viene visualizzato `No sequences assigned`.

---

L'etichetta sopra la tabella indica:

- Assigned: a of b peaks (Structure: x, Sequence: y), dove a è la somma di x e y e indica il numero di picchi assegnati, b indica il numero totale di picchi, x indica il numero di righe nella scheda **Structures** e y indica il numero di righe nella scheda **Sequences**.
  - **MSMS Peak Area Assigned: w%**, dove w indica l'area percentuale dei picchi assegnati dai dati spettrali.
14. Se appropriato, fare clic con il pulsante destro del mouse sulla tabella Fragments, quindi fare clic su **Show Hidden Rows**.
- 

**Nota:** nella tabella Fragments, è selezionata la casella di controllo **Use** della riga che contiene il punteggio più elevato per il valore  $m/z$ .

---

## Caratterizzazione dei dati MS/MS

---

15. Nella tabella Fragments, selezionare la casella di controllo **Use** per identificare la riga che contiene la formula più accurata per ogni valore  $m/z$ .

---

**Suggerimento!** Selezionare la casella di controllo **Use** in più righe per selezionare più formule potenziali per ogni frammento.

---

Il valore  $m/z$  assegnato è indicato con un carattere in grassetto e corsivo.

16. Dopo aver apportato tutte le modifiche, fare clic su **Apply**.  
I dati di interpretazione vengono salvati per il metabolita selezionato.
17. Fare clic su **Save**.

---

**Suggerimento!** Per eliminare tutti i dati di interpretazione per uno specifico metabolita, fare clic su **Remove**.

---

## Informazioni sulle etichette dei picchi

Un picco può essere etichettato con:

- Una formula ione o tipo di ione (per un peptide)
- Una formula ione o tipo di ione (per un peptide) ed errore ppm
- Una formula ione o tipo di ione (per un peptide) ed errore mDa
- Una formula ione o tipo di ione (per un peptide) con carica

### Aggiunta di un'etichetta di picco allo spettro MS/MS

1. Nella vista Interpretation fare clic su **Options**.  
Viene visualizzata la finestra di dialogo Options.
2. Nel campo **Label peaks with** selezionare il tipo di etichetta.
3. Fare clic su **OK**.
4. Eseguire una delle seguenti operazioni:

**Tabella 8-22: Aggiunta di etichette dei picchi**

Per etichettare un picco	Per etichettare tutti i picchi
Nella tabella Fragments selezionare la riga che contiene il picco da etichettare.	Fare clic su 
Fare clic su  .	—

---

**Suggerimento!** Per rimuovere tutte le etichette dallo spettro MS/MS fare clic su .

---

## Informazioni sui filtri interpretazione per ADC

Applicare i filtri per affinare i dati visualizzati nella tabella Fragments. Per accedere alla finestra di dialogo Interpretation Filters, fare clic sull'icona  nella tabella Fragments.

Filtro	Descrizione
<b>Rings and Double Bonds</b>	
<b>RDB</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Integer value (even-electron):</b> mostra solo i frammenti che hanno un valore intero per anelli e legami doppi.</li> <li>• <b>Non-integer value (odd-electron):</b> mostra solo i frammenti che hanno un valore non intero per anelli e legami doppi.</li> </ul>
<b>Mass Range</b>	
<b>m/z from __ to __</b>	Mostra solo i frammenti con un valore <i>m/z</i> compreso nell'intervallo specificato.
<b>Charge Range</b>	
<b>Charge from __ to __</b>	<p>Mostra solo i frammenti con una carica compresa nell'intervallo selezionato. Le opzioni includono:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>From range:</b> da 1 a 10, compresi</li> <li>• <b>To range:</b> da 1 a 10, compresi</li> </ul> <hr/> <p><b>Nota:</b> il valore To range deve essere maggiore o uguale al valore From range.</p> <hr/>
<b>Ion Type</b>	
<b>Fragment type</b>	<p>Selezionare il tipo di frammento appropriato. È possibile selezionare più tipi. Le opzioni includono:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>a</b></li> <li>• <b>b</b></li> <li>• <b>y</b></li> </ul>
<b>Mass Accuracy</b>	
<b>Accuracy within</b>	<p>Mostra solo i frammenti con un'accuratezza della massa compresa nell'intervallo specificato.</p> <hr/> <p><b>Nota:</b> la misurazione dell'accuratezza della massa in mDa oppure in ppm dipende dalla selezione effettuata nella finestra di dialogo Options.</p> <hr/>
<b>Intensity</b>	

## Caratterizzazione dei dati MS/MS

---

Filtro	Descrizione
Intensity above __ cps	Mostra solo i frammenti con un valore di intensità superiore al valore specificato.
<b>Score</b>	
Score above	Mostra solo i frammenti con un punteggio superiore al valore specificato.
<b>Structures</b>	
Fragments with assigned structures	Mostra solo i frammenti associati a strutture.

## Interpretazione automatica

### Interpretazione automatica



[Flusso di lavoro delle molecole piccole](#)



[Flussi di lavoro dei peptidi](#)

## Flusso di lavoro delle molecole piccole

È possibile avviare la generazione automatica delle strutture nei seguenti modi:

- Nell'area di lavoro Batch selezionare la casella di controllo **Apply Options** per applicare tutte le opzioni Auto Assign selezionate nella finestra di dialogo Batch Processing Options ai campioni e ai campioni di controllo nel lotto. Come minimo, deve essere selezionata l'opzione Assign Structures or Sequences. Fare riferimento alla sezione: [Opzioni di elaborazione del lotto](#).
- Nella vista Interpretation dell'area di lavoro Results fare clic su **Generate** nel riquadro MS/MS.

## Flussi di lavoro dei peptidi

È possibile avviare la generazione automatica delle sequenze nei seguenti modi:

- Nell'area di lavoro Batch selezionare la casella di controllo **Options** per applicare tutte le opzioni **Auto Assign** selezionate nella finestra di dialogo Batch Processing Options ai campioni e ai campioni di controllo nel lotto. Come minimo, deve essere selezionata l'opzione **Assign Structures or Sequences**. Fare riferimento alla sezione: [Opzioni di elaborazione del lotto](#).
- Nella vista Interpretation dell'area di lavoro Results fare clic su **Generate** nel riquadro MS/MS.

## Passaggio da una sequenza all'altra

Fare clic su una barra blu nell'istogramma.

La sequenza corrispondente viene visualizzata nel riquadro Sequence e la tabella Fragments viene aggiornata con le informazioni relative alla sequenza selezionata. L'etichetta sopra il riquadro Sequence viene aggiornata per indicare il numero di sequenza e la posizione in classifica assegnata. Ad esempio, Sequence x of y, rank = z.

### Selezione di un riquadro vuoto

Fare clic sulla prima linea nell'istogramma.

La prima linea nell'istogramma contiene le parole `No sequence`. Il riquadro Sequence viene cancellato e la tabella Fragments si aggiorna e mostra le parole `No sequences assigned`.

### Aggiunta di una sequenza

---

**Nota:** è possibile aggiungere una sola sequenza all'elenco di sequenze generate automaticamente. Se viene aggiunta un'ulteriore sequenza, la precedente sequenza aggiunta dall'utente viene sovrascritta.

---

1. Nel riquadro Sequence fare clic su **Enter Sequence**.  
Il riquadro Sequence viene cancellato e la tabella Fragments si aggiorna e mostra le parole `No sequence assigned`.
2. Fare clic su **Load Parent**.  
La sequenza padre viene mostrata nel riquadro Sequence e nella scheda **Parent Sequence** del riquadro Sequence charts.
3. Premere **Tab** per convalidare la sequenza padre.

Una sottolineatura viene aggiunta alla sequenza per indicare che è valida. Viene creato un nuovo istogramma nella scheda Sequence Candidates che mostra la sequenza aggiunta dall'utente nella riga immediatamente superiore alla prima sequenza generata automaticamente. La posizione in classifica della sequenza aggiunta dall'utente sarà 0. La barra blu si estenderà per l'intera larghezza della tabella. Tuttavia, la percentuale non verrà mostrata sulla barra. La tonalità di blu della riga della sequenza caricata sarà leggermente diversa dal blu delle righe che contengono le sequenze generate automaticamente. Il numero di sequenze proposte aumenterà di uno.

La sequenza aggiunta dall'utente può essere modificata. Qualsiasi modifica apportata alla sequenza viene memorizzata quando l'utente esce dal riquadro Sequence.

### Selezione di una sequenza da visualizzare

Fare clic su una barra blu nell'istogramma.

La sequenza corrispondente viene visualizzata nel riquadro Sequence. La tabella Fragments viene aggiornata con le informazioni relative alla sequenza selezionata. L'etichetta sopra il riquadro Sequence viene aggiornata per indicare il numero di sequenza e la posizione in classifica assegnata. Ad esempio, Sequence x of y, rank = z.

### Eliminazione di una sequenza

1. Fare clic su una barra blu nell'istogramma.  
La sequenza corrispondente viene visualizzata nel riquadro Sequence.

## Caratterizzazione dei dati MS/MS

---

2. Nel riquadro Sequence fare clic su **Delete**.  
La sequenza viene rimossa dal riquadro Sequence e la riga viene rimossa dall'istogramma. La sequenza della linea successiva nell'istogramma viene visualizzata nel riquadro Sequence e la tabella Fragments viene aggiornata con le informazioni relative alla sequenza selezionata.

Quando vengono trovati metaboliti potenziali in più campioni di interesse, è possibile confrontare i risultati di ogni campione. Ciò consente all'utente di vedere le differenze e le similitudini tra i metaboliti potenziali generati da diversi file Results. I metaboliti risultanti da file Results diversi sono considerati identici se corrispondono al rapporto massa-carica e alle tolleranze del tempo di ritenzione impostati nella finestra di dialogo Correlate Results.

Per i flussi di lavoro degli oligonucleotidi, il software può raggruppare metaboliti a carica multipla con la stessa massa neutra ed entro la tolleranza del tempo di ritenzione in una sola voce nell'area di lavoro Correlation. Questa funzionalità è denominata raggruppamento. Per abilitare questa funzionalità, selezionare **Group results by analyte** quando si correlano i risultati. Quando la funzionalità è abilitata, le specie a carica multipla vengono unite, facilitando il confronto tra file Results.

---

**Nota:** abilitare la funzionalità di raggruppamento prima di correlare i file Results.

---

## Preparazione della correlazione

1. Fare clic su **File > New > Correlation**.  
Viene visualizzata la finestra di dialogo Correlate Results.
2. Fare clic su **Add Results**.  
Viene visualizzata la finestra di dialogo Open Results.
3. Spostarsi sui file appropriati e selezionarli.

---

**Nota:** i file selezionati possono contenere composti diversi. Per la correlazione non sono necessari dati analogici.

---

4. Completare i campi **X-axis title** e **X-axis units**.  
In questo modo viene assegnata un'etichetta per l'asse X dei grafici nell'area di lavoro Correlation.
5. Immettere un valore univoco accanto a ogni file Results nel campo corrispondente all'etichetta dell'asse X. Ad esempio, se l'etichetta assegnata nel passaggio 4 è **Time**, immettere il tempo per ogni file Results nel campo **Time**.
6. Selezionare **Include RRF in % area determination**, se appropriato.

---

**Nota:** non selezionare sia **Include RRF in % area determination** che **Group results by analyte**.

---

Se questa opzione è selezionata, l'area MS verrà moltiplicata per il [fattore di risposta relativo](#). La modifica dell'area viene mostrata nelle viste di grafico a linee, grafico a barre e tabella del riquadro Correlations Details. La modifica non viene mostrata nella tabella Potential Metabolites.

## Correlazione dei risultati

---

7. (Flussi di lavoro per oligonucleotidi) Se richiesto, selezionare **Group results by analyte** per raggruppare i picchi in base alla massa neutra.
8. Personalizzare la correlazione. Fare riferimento alla sezione: [Personalizzazione della correlazione](#).
9. Nel campo **Correlation file name**, immettere un nome per il file.

---

**Nota:** non includere spazi nel nome del file.

---

10. Per selezionare una posizione specifica in cui salvare il file di correlazione, fare clic su **Browse** e selezionare la cartella appropriata.
11. Fare clic su **OK**.  
Il software confronta i metaboliti trovati nei file selezionati e mostra i risultati nell'area di lavoro Correlation.

---

**Suggerimento!** La stessa correlazione può essere elaborata utilizzando impostazioni diverse. Nell'area di lavoro Correlation fare clic su **Correlate Results**.

---

## Personalizzazione della correlazione

Dopo aver selezionato i file da correlare, modificare i valori dei parametri nella finestra di dialogo Correlation Results per migliorare i risultati.

### Miglioramento dell'allineamento dei picchi

I tempi di ritenzione dei singoli file Results possono essere spostati per una migliore correlazione dei file selezionati.

1. Prima di correlare i risultati, effettuare la seguente procedura:
  - a. Aprire ogni file Results appropriato nell'area di lavoro Results.
  - b. Rivedere il tempo di ritenzione di uno specifico metabolita presente in tutti i file.
2. In base allo spostamento riportato nel file Results, nella finestra di dialogo Correlate Results immettere un valore nel campo **R.T. Shift (min)** accanto al file specifico.

---

**Nota:** il campo **R.T. Shift (min)** accetta valori da -2,00 a 2,00 minuti.

---

### Definizione dell'unione dei picchi

Le tolleranze specifiche consentono ai picchi con valori simili di essere considerati come un unico picco.

1. Aprire i file Results nell'area di lavoro Results.
2. Identificare il tempo di ritenzione e la tolleranza di massa di uno specifico metabolita presente in tutti i file.
3. Nella finestra di dialogo Correlate Results, nel gruppo Tolerances, immettere un valore nel campo **Retention time**.

**Nota:** il campo **Retention time** accetta i valori compresi tra 0,01 e 0,25 minuti.

4. Immettere un valore nel campo **MS m/z**, quindi selezionare **ppm** o **mDa** come unità di misura.

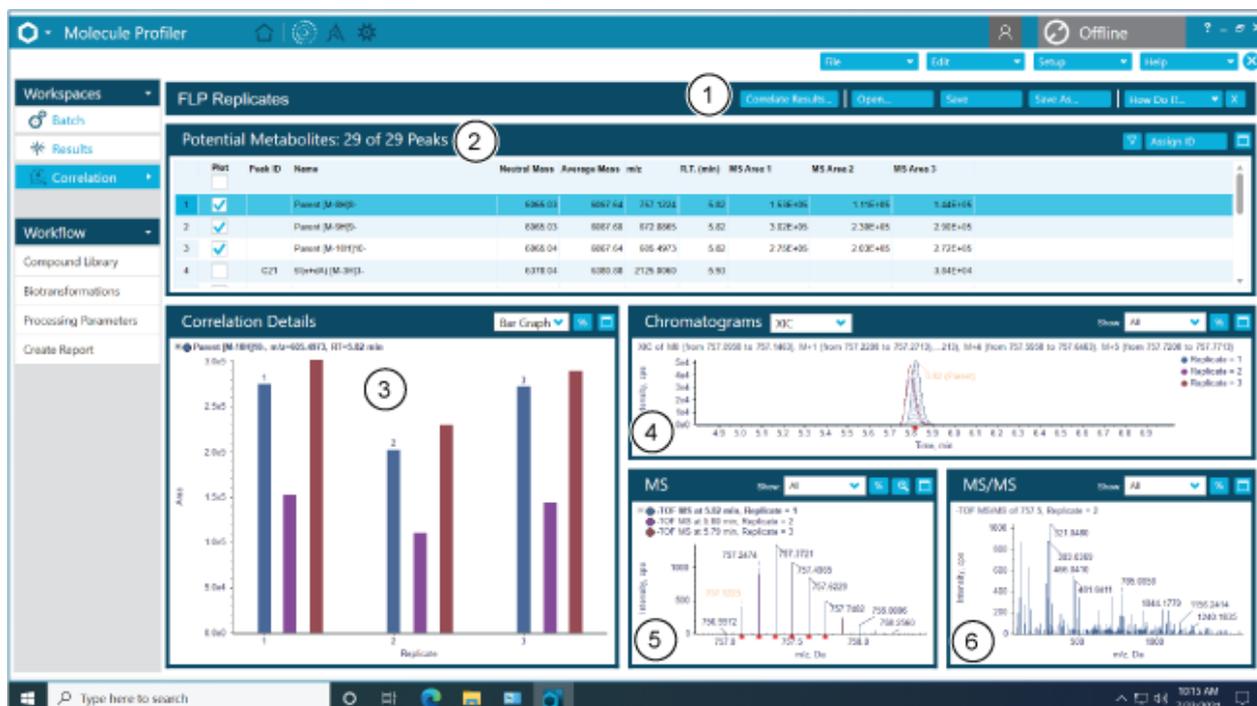
**Nota:** nei flussi di lavoro degli oligonucleotidi, se l'opzione **Group results by analyte** è selezionata, è disponibile solo **ppm**.

**Nota:** il campo **MS m/z** accetta valori compresi tra 0,1 e 250,0.

## Informazioni sull'area di lavoro Correlation

L'area di lavoro Correlation mostra il confronto dei metaboliti potenziali trovati nei file Results selezionati.

Figura 9-1: Area di lavoro Correlation



## Correlazione dei risultati

Elemento	Descrizione
1	<p>Barra dei menu. La barra dei menu contiene i seguenti pulsanti:</p> <ul style="list-style-type: none"><li>• <b>Correlate Results</b>: apre la finestra di dialogo Correlate Results. Fare riferimento alla sezione: <a href="#">Preparazione della correlazione</a>.</li><li>• <b>Open</b>: apre la finestra di dialogo Open Correlation in cui gli utenti possono spostarsi sui file di correlazione appropriati.</li><li>• <b>Save</b>: salva il file di correlazione attualmente aperto. Sostituisce automaticamente la versione esistente.</li><li>• <b>Save As</b> : salva il file di correlazione attualmente aperto. Facoltativamente, selezionare la cartella di destinazione e assegnare un nuovo nome al file di correlazione.</li></ul>
2	<p>Riquadro Potential Metabolites. Elenca tutti i picchi correlati in base alle tolleranze impostate. Ogni riga elenca un metabolita potenziale correlato, <b>MS Area</b> e <b>Analog Area</b>, se applicabile, dal file Results. Una cella <b>MS Area</b> vuota indica che il metabolita non è stato trovato nel file Results specifico. Una cella <b>Analog Area</b> vuota indica che il metabolita non è stato trovato nel file Results o che la riposta analogica era zero.</p> <p>Questo riquadro contiene i seguenti pulsanti:</p> <ul style="list-style-type: none"><li>• <b>Select values to filter peaks from the results.</b> (Informazioni sui filtri di correlazione.</li><li>• <b>Assign ID</b>: assegna un identificatore univoco a ogni picco nella tabella Potential Metabolites, in base al tempo di ritenzione e al valore <i>m/z</i>.</li></ul>
3	<p>Riquadro Correlation Details. Consente di confrontare i metaboliti correlati. Fare riferimento alla sezione: <a href="#">Confronto dei metaboliti correlati</a>. È possibile selezionare diversi metaboliti e file Results. Dati MS e analogici possono essere presentati nei formati seguenti:</p> <ul style="list-style-type: none"><li>• <b>Linear Graph</b> o <b>Bar Graph</b>: confronta l'intensità di ogni metabolita in ogni file Results in cui è stato trovato.</li><li>• <b>Table</b>: identifica il file Results in cui ogni metabolita è stato trovato. Gli utenti possono anche selezionare di visualizzare l'occorrenza, l'ID picco o l'area del picco nella tabella.</li></ul> <hr/> <p><b>Nota:</b> se viene applicato un fattore di risposta relativo durante la preparazione per la correlazione, i dati MS qualitativi vengono visualizzati nei grafici a linee e nei grafici a barre.</p> <hr/>

---

Elemento	Descrizione
4	Riquadro Chromatograms: mostra un cromatogramma ioni estratti (XIC) o un cromatogramma analogico per il metabolita selezionato. I cromatogrammi possono includere dati da uno o da tutti i file Results contenenti il metabolita.
5	Riquadro MS: mostra lo spettro MS del campione di interesse da uno o da tutti i file Results contenenti il metabolita selezionato.
6	Riquadro MS/MS: mostra lo spettro MS/MS del metabolita selezionato da uno o da tutti i file Results contenenti il metabolita.

---

**Nota:** se i risultati di correlazione sono raggruppati, gli spettri cromatografico, MS e MS/MS non vengono visualizzati.

---

## Modifica del nome di un metabolita correlato

1. Nel pannello Workspace fare clic su **Correlation**.  
Viene visualizzata l'area di lavoro Correlation.
2. Fare clic su **Open**.  
Viene visualizzata la finestra di dialogo Open Correlation.
3. Spostarsi sul file di correlazione appropriato e selezionarlo.
4. Selezionare una riga nella tabella Potential Metabolites.
5. Fare clic su **Edit > Edit Name**.  
Viene visualizzata la finestra di dialogo Edit Name .
6. Digitare un nuovo nome di metabolita.
7. Fare clic su **OK**.  
Il nome del metabolita cambia nel nuovo valore.

## Confronto dei metaboliti correlati

Dopo aver correlato i metaboliti contenuti in più file Results, gli utenti possono confrontare più dettagliatamente specifici metaboliti selezionati.

1. Nel pannello Workspace fare clic su **Correlation**.  
Viene visualizzata l'area di lavoro Correlation.
2. Fare clic su **Open**.  
Viene visualizzata la finestra di dialogo Open Correlation.
3. Spostarsi sul file appropriato e selezionarlo.
4. Nella tabella Potential Metabolites selezionare la casella di controllo **Plot** accanto ai metaboliti potenziali da confrontare.  
I metaboliti sono visualizzati nel riquadro Correlation Details.

## Correlazione dei risultati

---

5. Per modificare il fattore di risposta relativo di uno specifico metabolita, inserire un valore nel campo **RRF**.

Nel grafico a linee e nel il grafico a barre, l'area MS e l'area analogica, se applicabile, sono moltiplicate per il valore RRF.

---

**Nota:** questo campo viene visualizzato solo se è stato utilizzato un fattore di risposta relativo durante la preparazione della correlazione.

---

6. Per mostrare i dati analogici nel riquadro Correlation Details, fare clic su **Analog data**.
7. Per identificare i file che contengono i metaboliti selezionati, selezionare **Table** nel riquadro Correlation Details.
8. Per mostrare i dati normalizzati, fare clic su .

---

**Suggerimento!** I dati normalizzati possono essere mostrarti nel grafico a linee, nel grafico a barre, nel cromatogramma XIC, nel cromatogramma analogico, nello spettro MS e nello spettro MS/MS.

---

9. Per riassegnare gli ID picco dei metaboliti potenziali nei file correlati in base al tempo di ritenzione e al valore  $m/z$ , fare clic su **Assign ID**.

## Informazioni sui filtri di correlazione

Applicare i filtri di correlazione per affinare ulteriormente i dati visualizzati nella tabella

Correlation. Fare clic sull'icona  per accedere alla finestra di dialogo Correlation Filters oppure fare clic su **Setup > Filters > Correlation**.

Filtro	Descrizione
<b>Mass Range</b>	
<b>m/z from __ to __</b>	Mostra solo i picchi con un valore $m/z$ compreso nell'intervallo specificato.
<b>Retention Time</b>	
<b>R.T. from __ to __</b>	Mostra solo i picchi con un tempo di ritenzione compreso nell'intervallo specificato.
<b>Occurrence</b>	
<b>Peaks in __ or more results files</b>	Mostra solo i picchi visualizzati nel numero specificato di file Results. <b>Nota:</b> il valore massimo dipende dal numero di file selezionati per la correlazione. Ad esempio, se sono selezionati cinque file Results per la correlazione, è possibile selezionare un massimo di cinque occorrenze di un picco.

Per generare report con il software, è necessario che sia installato sul computer Microsoft Word 2010 o versione successiva.

Gli utenti possono creare report in Adobe PDF, Microsoft Word e HTML. È anche possibile inviare un report direttamente a una stampante.

I seguenti modelli di report vengono installati con il software nella cartella C:\ProgramData\SCIEX\Molecule Profiler\Report Templates:

- Cartella Correlation
  - Correlation Detailed Report
  - Correlation Summary Report
  - Correlation Group Report
- ResultsAndInterpret folder
  - Interpretation Detailed Report
  - Interpretation Summary Report
  - Results Detailed Report
  - Results Summary Report
- Cartella ResultsAndInterpret\_ADC
  - Interpretation Detailed Report
  - Interpretation Summary Report
  - Results Detailed Report
  - Results Summary Report
- Cartella ResultsAndInterpret\_Peptides
  - Interpretation Detailed Report
  - Interpretation Summary Report
  - Results Detailed Report
  - Results Summary Report
- Cartella ResultsAndInterpret\_Oligo
  - Interpretation Detailed Report
  - Interpretation Summary Report
  - Results Detailed Report
  - Results Summary Report

## Report

---

Sebbene ogni report possa contenere molte informazioni, il report mostra solo il contenuto del file Results utilizzato per la generazione del report. Se il file Results non contiene una specifica informazione, ad esempio l'arricchimento isotopico, il report generato non conterrà tale informazione e, nella maggior parte dei casi, non conterrà un'etichetta o un'intestazione per tale contenuto. Tutti i filtri applicati alla tabella Potential Metabolites o alla tabella Fragments vengono applicati anche al report. Ad esempio, se la tabella Potential Metabolites è filtrata per mostrare solo i primi 5 di 23 picchi, solo quei 5 picchi saranno inclusi nel report.

Tutti i grafici o gli spettri inclusi nel report vengono visualizzati al livello di zoom predefinito, indipendentemente dal livello di zoom selezionato nell'interfaccia utente. Tutti i grafici di correlazione vengono inseriti nel report con dati non normalizzati.

---

**Nota:** quando si creano modelli di report di correlazione personalizzati per l'uso con dati raggruppati, assicurarsi di includere "grouped" nel nome del file.

---

## Creazione di un report nell'area di lavoro Results

È possibile creare un report per ognuno dei risultati di molecole piccole, peptidi e ADC.

1. Nel pannello Workspace fare clic su **Results**.  
Viene visualizzata l'area di lavoro Results.
2. Fare clic su **Open**.  
Viene visualizzata la finestra di dialogo Open Results.
3. Spostarsi sul file appropriato e selezionarlo.
4. Fare clic su **OK**.  
Viene visualizzata la vista Results.
5. Nella colonna **Report**, selezionare la casella di controllo corrispondente per ogni metabolita da includere nel report.  
I metaboliti non selezionati non vengono inclusi nel report generato.
6. Nel pannello Workflow fare clic su **Create Report**.  
Viene visualizzata la finestra di dialogo Create Report.
7. Selezionare un modello per il report dal campo **Available templates**.  
  
Per un elenco dei modelli, fare riferimento alla sezione: [Report](#).
8. Selezionare le caselle di controllo **Formats** appropriate per creare le versioni richieste dei file dei report o per stampare il report.

---

**Nota:** è possibile selezionare più formati.

---

9. Per ogni versione di formato selezionata fare clic su **Browse**, quindi nella finestra di dialogo Browse For Folder spostarsi su una posizione di archiviazione specifica per il file del report e selezionarla.
10. Fare clic su **OK**.  
La finestra di dialogo Browse For Folder viene chiusa.

11. Per ogni versione di formato selezionata, immettere un nome per il report nel campo fornito.
12. (Flusso di lavoro degli oligonucleotidi) Selezionare o deselezionare la casella di controllo **Report grouping table for Results** come richiesto.
13. Fare clic su **Generate Report**.
14. Se l'opzione **Print report** è stata selezionata, selezionare le opzioni di stampa richieste nella finestra di dialogo Print e fare clic su **OK**.  
Il software genera il report.

## Creazione di un report nell'area di lavoro Correlation

È possibile creare un report di correlazione per ognuno dei risultati di molecole piccole, peptidi e ADC.

1. Nel pannello Workspace fare clic su **Correlation**.  
Viene visualizzata l'area di lavoro Correlation.
2. Fare clic su **Open**.  
Viene visualizzata la finestra di dialogo Open Correlation.
3. Spostarsi sul file appropriato e selezionarlo.
4. Fare clic su **Open**.  
Viene visualizzata la vista Correlation Results.
5. Per includere dettagli di correlazione per il metabolita di interesse nel report, selezionare la casella di controllo **Plot**.
6. Nel pannello Workflow fare clic su **Create Report**.  
Viene visualizzata la finestra di dialogo Create Report.
7. Selezionare un modello per il report dal campo **Available templates**.

Per un elenco dei modelli, fare riferimento alla sezione: [Report](#).

---

**Nota:** se il file di correlazione non contiene dati raggruppati, sono disponibili solo modelli di report non raggruppati. Se il file di correlazione contiene dati raggruppati, vengono visualizzati solo i modelli di report con "grouped" nel nome file.

---

8. Selezionare le caselle di controllo **Formats** appropriate per creare le versioni richieste dei file dei report o per stampare il report.

---

**Nota:** è possibile selezionare più formati.

---

9. Per ogni versione di formato selezionata fare clic su **Browse**, quindi nella finestra di dialogo Browse For Folder spostarsi su una posizione di archiviazione specifica per il file del report e selezionarla.
10. Fare clic su **OK**.  
La finestra di dialogo Browse For Folder viene chiusa.

## Report

---

11. Per ogni versione di formato selezionata, immettere un nome per il report nel campo fornito.
12. Fare clic su **Generate Report**.
13. Se l'opzione **Print report** è selezionata, selezionare le opzioni di stampa richieste nella finestra di dialogo Print e fare clic su **OK**.  
Il software genera il report.

## Copiare e incollare un grafico

I grafici possono essere copiati dall'area di lavoro Results e dalle finestre di dialogo Compound Library e Processing Parameters.

1. Fare clic con il pulsante destro del mouse sul grafico da copiare e selezionare **Copy Selected Graph**.  
Il grafico verrà copiato negli appunti.
2. Incollare il grafico in un'altra applicazione quale Microsoft Word.

## Copiare e incollare la tabella Potential Metabolites

1. Fare clic con il pulsante destro del mouse sulla tabella, quindi fare clic su **Copy Table** nell'area di lavoro Results.  
La tabella viene copiata negli appunti.
2. Incollare la tabella in Excel.

I dati analogici vengono utilizzati per confermare che i metaboliti trovati mediante lo spettrometro di massa siano metaboliti effettivi e non falsi positivi. Gli utenti che usano i dati analogici in linea con lo spettrometro di massa utilizzeranno questa funzione per ottimizzare l'integrazione dell'area analogica e visualizzare meglio l'associazione di picchi MS con i picchi analogici.

Se si apre un file Results che contiene dati analogici, il pulsante **Analog Integration** nella tabella Potential Metabolites viene abilitato.

Facendo clic su **Analog Integration**, viene visualizzata la finestra di dialogo Analog Integration.

Viene mostrata la tabella Potential Metabolites originale dell'area di lavoro Results con le seguenti eccezioni:

- Vengono mostrati gli eventuali picchi analogici che non hanno picchi di massa associati, ma le colonne relative a MS sono vuote.
- Una colonna aggiuntiva, **Analog Signal in Control**, viene visualizzata immediatamente dopo la colonna **Analog - R.T. (min)** se sono presenti dati di controllo analogici. Se non vi sono dati di controllo analogici, questa colonna non viene visualizzata.

La colonna **Analog Signal in Control** fornisce le informazioni seguenti:

- Se il rapporto campione-controllo del picco analogico è maggiore del valore specificato nei parametri di elaborazione, nella colonna viene visualizzata una x.
- Se il rapporto campione-controllo del picco analogico è minore del valore specificato nei parametri di elaborazione, nella colonna viene visualizzato un segno di spunta.

## Integrazione manuale dei dati analogici

### Prerequisiti:

- I risultati sono stati elaborati con dati analogici.

1. Nel pannello Workspace fare clic su **Results**.  
Viene visualizzata l'area di lavoro Results.
2. Fare clic su **Open**.  
Viene visualizzata la finestra di dialogo Open Results.
3. Spostarsi sul file appropriato e selezionarlo.

---

**Nota:** il file Results deve contenere un cromatogramma analogico.

---

4. Fare clic su **OK**.

## Integrazione analogica

---

Viene visualizzata la vista Results. Se il file Results contiene dati analogici, il pulsante **Analog Integration** nella tabella Potential Metabolites è abilitato. Se il file Results non contiene dati analogici, il pulsante non è disponibile.

5. Fare clic su **Analog Integration**.

Viene visualizzata la finestra di dialogo Analog Integration.

Oltre alla tabella Potential Metabolites sono visualizzati due cromatogrammi. Il primo cromatogramma, il cromatogramma Analog Sample, mostra tutti i picchi analogici entro l'intervallo di tempo di ritenzione specificato nella scheda Chromatographic Data dei parametri di elaborazione generici. Fare riferimento alla sezione: [Scheda Chromatographic Data](#). Il secondo cromatogramma, il cromatogramma ioni estratti (XIC) dell'MS Sample, mostra tutti i picchi della riga estratta. L'XIC viene aggiornato ogni volta che viene selezionata una riga diversa nella tabella Potential Metabolites.

6. Selezionare il cromatogramma Analog Sample, quindi completare le attività seguenti, se richiesto, per integrare i dati:

- integrare manualmente i picchi
- modificare l'integrazione esistente dei picchi
- rimuovere i picchi

Via via che vengono apportate modifiche, il software aggiorna automaticamente il cromatogramma Analog Sample.

7. (Facoltativo) Selezionare la casella di controllo **Show Controls**.

Sotto il titolo del cromatogramma Analog Sample è visualizzato un massimo di cinque campioni di controllo. Fare riferimento alla sezione: [Visualizzazione dei controlli](#).

8. (Opzionale) Fare clic su **Baseline Subtract**.

La sottrazione linea di base viene applicata sia al campione analogico che a eventuali controlli. La dicitura "baseline subtracted" viene aggiunta al titolo di qualsiasi cromatogramma Analog Sample e agli eventuali controlli. Fare riferimento alla sezione: [Esecuzione di una sottrazione della linea di base](#).

9. (Facoltativo) Modificare **R.T. Offset**. Fare riferimento alla sezione: [Modifica dell'offset del tempo di ritenzione](#).

L'offset del tempo di ritenzione si applica sia al campione analogico che alle tracce di controllo.

10. (Facoltativo) Applicare le opzioni di integrazione analogica (**Options**). Fare riferimento alla sezione: [Impostazione delle opzioni di integrazione analogica](#).

11. Eseguire una delle seguenti operazioni:

- Fare clic su **Update Table**. Fare riferimento alla sezione: [Aggiornamento della tabella](#).
- Fare clic su **Update Results and Close**. Fare riferimento alla sezione: [Aggiornamento dei risultati e chiusura](#).

12. Eseguire una delle seguenti operazioni:

- Fare clic su **Save** per salvare il file Results e sovrascrivere la versione esistente.

- Fare clic su **Save As** per salvare il file Results attualmente aperto con un nuovo nome. Il file Results esistente non viene aggiornato.

## Visualizzazione dei controlli

1. Nel riquadro Chromatograms della finestra di dialogo Analog Integration selezionare la casella di controllo **Show controls**.  
Se applicabile, sotto il titolo del campione analogico nel riquadro Chromatograms viene visualizzato un massimo di cinque controlli. Se applicabile, sotto il titolo del campione MS nel riquadro XIC viene visualizzato un massimo di cinque controlli.
2. Fare clic sull'icona  per espandere l'elenco e mostrare sia il campione analogico che il controllo analogico oppure il campione MS e il controllo MS.
3. Fare clic sull'icona  per comprimere l'elenco e mostrare solo il campione analogico o il campione MS.
4. Selezionare nuovamente la casella di controllo **Show controls** per rimuovere i controlli dalla vista.

## Esecuzione di una sottrazione della linea di base

1. Nel riquadro Chromatograms della finestra di dialogo Analog Integration fare clic su **Baseline Subtract**.  
Dal cromatogramma Analog Sample viene sottratta la linea di base. La sottrazione della linea di base viene applicata al campione analogico e alle tracce di controllo. La dicitura "baseline subtracted" viene aggiunta al nome del cromatogramma Analog Sample.
2. Fare clic nuovamente su **Baseline Subtract** per rimuovere la sottrazione della linea di base.  
La dicitura "baseline subtracted" viene rimossa dal nome del cromatogramma Analog Sample.

## Modifica dell'offset del tempo di ritenzione

Nel riquadro Chromatograms della finestra di dialogo Analog Integration utilizzare le frecce su e giù nel campo **R.T. Offset** per modificare l'offset del tempo di ritenzione.

I picchi nel cromatogramma del campione analogico vengono spostati dell'offset del tempo di ritenzione specificato. Quando si aggiorna la tabella Potential Metabolites o si aggiornano i risultati, i valori nella colonna **Analog R.T. (min)** vengono aggiornati per riflettere lo spostamento nell'offset del tempo di ritenzione specificato. L'offset si applica sia al campione analogico che ai campioni di controllo.

## Impostazione delle opzioni di integrazione analogica

1. Nel riquadro Chromatograms della finestra di dialogo Analog Integration fare clic su **Options**.

## Integrazione analogica

---

Viene visualizzata la finestra di dialogo Analog Integration Options.

2. Selezionare la casella di controllo per ogni opzione da applicare.

Opzione	Descrizione
<b>Overlay XIC for peaks at the same analog retention time</b>	Sovrappone i cromatogrammi XIC dei campioni MS per le tracce con tempi di ritenzione analogici identici.
<b>Link x-axis</b>	Collega l'asse X al cromatogramma Analog Sample e al cromatogramma XIC.

3. Fare clic su **OK**.

## Aggiornamento della tabella

Quando si apportano modifiche nella finestra di dialogo Analog Integration, l'opzione **Update Table** viene abilitata.

Fare clic su **Update Table**.

Le informazioni nelle colonne seguenti della tabella Potential Metabolites vengono aggiornate per riflettere le modifiche apportate all'integrazione picchi analogica, al tempo di ritenzione analogico e alla sottrazione della linea di base:

- Il valore **Peak ID** assegnato per il cromatogramma Analog Sample può essere aggiornato per riflettere l'integrazione manuale. Il picco analogico è considerato una corrispondenza a un picco MS se il tempo di ritenzione del picco analogico corrisponde al tempo di ritenzione del picco MS, entro una tolleranza specificata.
- Il valore **Analog - Peak Area** viene aggiornato per riflettere le eventuali nuove aree integrate.
- Il valore **Analog - % Area** viene aggiornato per riflettere le eventuali modifiche dell'algoritmo. Il valore **Analog - % Area** viene calcolato in base a tutti i picchi analogici, sia quelli associati a picchi MS che quelli non associati a picchi MS, entro l'intervallo di tempo specificato nei parametri di elaborazione. Se un picco analogico è associato a più picchi MS, l'area del picco analogico elencata per un M# specifico viene calcolata proporzionalmente in base all'area MS XIC di tale M#, utilizzando le aree del picco di tutti i picchi MS associati come totale.
- Il valore **Analog - R.T. (min)** viene aggiornato per riflettere le eventuali modifiche apportate all'offset del tempo di ritenzione.

---

**Nota:** queste modifiche non vengono salvate nel file Results e possono essere annullate facendo clic su **Cancel**.

---

## Aggiornamento dei risultati e chiusura

Quando si apportano modifiche nella finestra di dialogo Analog Integration, l'opzione **Update Results and Close** viene abilitata.

1. Fare clic su **Update Results and Close**.  
Viene visualizzato un messaggio che chiede all'utente di confermare che le informazioni analogiche devono essere aggiornate in base alle modifiche apportate.
2. Fare clic su **Yes**.  
La finestra di dialogo Analog Integration viene chiusa. Le informazioni nelle colonne seguenti della tabella Potential Metabolites vengono aggiornate per riflettere le modifiche apportate all'integrazione picchi analogica, al tempo di ritenzione analogico e alla sottrazione della linea di base:
  - Il valore **Peak ID** assegnato per il cromatogramma Analog Sample può essere aggiornato per riflettere l'integrazione manuale. Il picco analogico è considerato una corrispondenza a un picco MS se il tempo di ritenzione del picco analogico corrisponde al tempo di ritenzione del picco MS, entro una tolleranza specificata.
  - Il valore **Analog - Peak Area** viene aggiornato per riflettere le eventuali nuove aree integrate.
  - Il valore **Analog - % Area** viene aggiornato per riflettere le eventuali modifiche dell'algoritmo. Il valore **Analog - % Area** viene calcolato in base a tutti i picchi analogici, sia quelli associati a picchi MS che quelli non associati a picchi MS, entro l'intervallo di tempo specificato nei parametri di elaborazione. Se un picco analogico è associato a più picchi MS, l'area del picco analogico elencata per un M# specifico viene calcolata proporzionalmente in base all'area MS XIC di tale M# (utilizzando le aree del picco di tutti i picchi MS associati come totale).
  - Il valore **Analog - R.T. (min)** viene aggiornato per riflettere le eventuali modifiche apportate all'offset del tempo di ritenzione.

Per assistenza per un problema specifico, selezionare il collegamento relativo:

- [Impossibile aprire un file della struttura](#)
- [Modifica delle autorizzazioni utente](#)
- [Nessun metabolita potenziale trovato](#)
- [Troppi metaboliti potenziali trovati](#)
- [Tempi di elaborazione prolungati](#)
- [Visualizzazione della cartella ProgramData](#)
- [Limitazioni e problemi noti](#)

## Impossibile aprire un file della struttura

Assicurarsi che il file della struttura rispetti le seguenti convenzioni:

- Formato: mol
- Versione: v2000 o v3000
- Contenuto: non contiene testo

## Modifica delle autorizzazioni utente

Quando il software Molecule Profiler viene installato, a tutti gli utenti vengono fornite autorizzazioni di lettura, scrittura ed eliminazione di file nella cartella dei dati utente installata. Se le autorizzazioni vengono modificate, il software potrebbe non funzionare correttamente.

---

**Nota:** la posizione predefinita della cartella dell'utente installata è

C:\ProgramData\SCIEX\Molecule Profiler Data.

---

## Nessun metabolita potenziale trovato

Per trovare più metaboliti nel campione di interesse:

- Selezionare una strategia di ricerca picco diversa. Fare riferimento alla sezione: [Informazioni sulle strategie di ricerca picchi](#).
- Ridurre l'intensità cromatografica minima nella scheda Chromatographic Data. Fare riferimento alla sezione: [Scheda Chromatographic Data](#).
- Aumentare **MS m/z tolerance** nel gruppo m/z Tolerance nella scheda MS Parameters. Fare riferimento alla sezione: [Scheda MS Parameters](#).
- Ridurre **Minimum MS peak intensity** nel gruppo m/z Tolerance nella scheda MS Parameters. Fare riferimento alla sezione: [Scheda MS Parameters](#).

- (Flussi di lavoro per oligonucleotidi) Aumentare **Intensity tolerance** nel gruppo Isotope Pattern Tolerances nella scheda MS Parameters.

## Troppi metaboliti potenziali trovati

Per ridurre il numero di metaboliti potenziali trovati:

- Selezionare una strategia di ricerca picco diversa. Fare riferimento alla sezione: [Informazioni sulle strategie di ricerca picchi](#).
- Aumentare l'intensità cromatografica minima nella scheda Chromatographic Data. Fare riferimento alla sezione: [Scheda Chromatographic Data](#).
- Ridurre la finestra del tempo di ritenzione nella scheda Chromatographic Data. Fare riferimento alla sezione: [Scheda Chromatographic Data](#).
- Ridurre la finestra dell'intervallo di massa nella scheda MS Parameters. Fare riferimento alla sezione: [Scheda MS Parameters](#).
- Aumentare **Minimum MS peak intensity** nel gruppo Isotope Pattern Tolerances nella scheda MS Parameters. Fare riferimento alla sezione: [Scheda MS Parameters](#).

## Tempi di elaborazione prolungati

Il tempo di elaborazione dipende da molti fattori, tra cui la complessità dei dati, i parametri di elaborazione, la workstation e il sistema operativo.

Per ridurre il tempo necessario per l'elaborazione:

1. Chiudere qualsiasi altra applicazione in esecuzione sulla workstation.
2. Modificare i valori dei parametri di elaborazione. Ad esempio:
  - Ridurre il numero di algoritmi selezionati.
  - Aumentare l'intensità cromatografica minima nella scheda Chromatographic Data.
  - Ridurre la finestra del tempo di ritenzione nella scheda Chromatographic Data.
  - Aumentare l'intensità di picco MS minima nella scheda MS Parameters.
  - Ridurre la finestra dell'intervallo di massa nella scheda MS Parameters.
  - Ridurre il numero di filtri di difetto di massa (solo per le molecole piccole).
  - Ridurre il numero di biotrasformazioni.
  - (Flussi di lavoro per peptidi, oligonucleotidi e ADC) Ridurre il numero di cataboliti generati regolando i parametri specifici del composto.

## Visualizzazione della cartella ProgramData

Il sistema operativo Microsoft Windows potrebbe nascondere la cartella `C:\ProgramData`. Dopo l'installazione del software Molecule Profiler, assicurarsi che tutti gli utenti possano visualizzare la cartella `C:\ProgramData\SCIEX\Molecule Profiler Data`. Se la cartella non è visibile, completare la procedura seguente:

## Risoluzione dei problemi

---

1. In File Explorer, fare clic su **View > Options**.  
Viene visualizzata la finestra di dialogo Folder Options.
2. Selezionare la scheda View.
3. Fare clic su **Hidden files and folder > Show hidden files, folders, or drives**.
4. Fare clic su **Apply**.
5. Fare clic su **OK**.

## Limitazioni e problemi noti

### Dati dei risultati

- Quando si determina l'area del picco MS, viene ora applicato ai calcoli un fattore di conversione del tempo di 60.

### Interpretazione

- Quando si prepara l'assegnazione strutturale, fare sempre clic su **Find** dopo aver apportato modifiche nella finestra di dialogo Interpret Data. Il software ricalcola l'elenco di formule disponibili in base alle impostazioni selezionate.

### Correlazione

- Quando viene modificato il fattore di risposta relativo (RRF) di uno specifico metabolita, l'area MS viene moltiplicata per il valore RRF. L'area MS aggiornata del metabolita selezionato viene visualizzata nel riquadro Correlation details, in ciascuno dei grafici a linee, dei grafici a barre e delle tabelle.

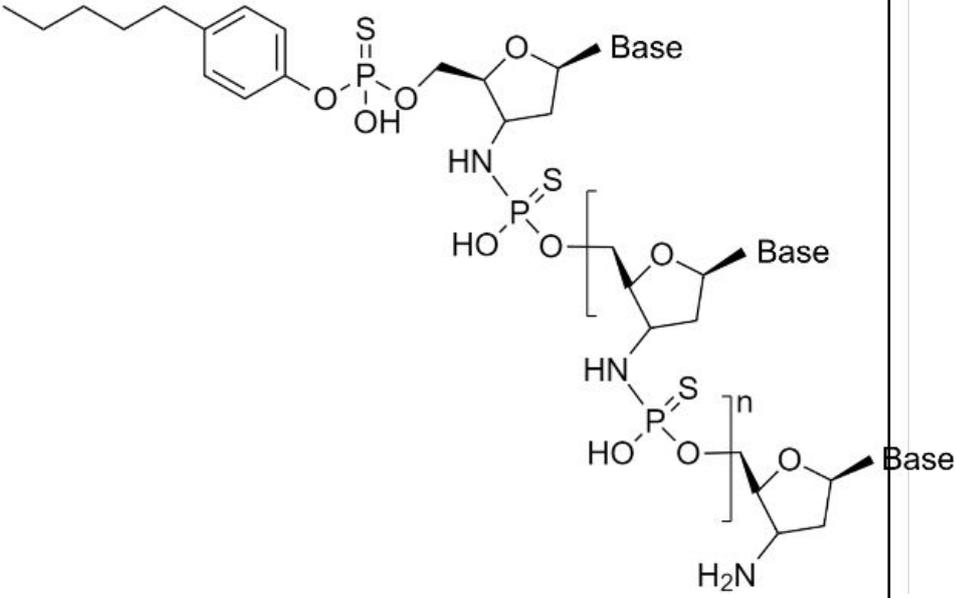
### Reporting

- Se al momento della creazione dei report si verificano conflitti con i modelli di report di Microsoft Word, assicurarsi che tutte le applicazioni di Microsoft Office siano chiuse e riprovare.

# Esempio di oligonucleotide personalizzato

# A

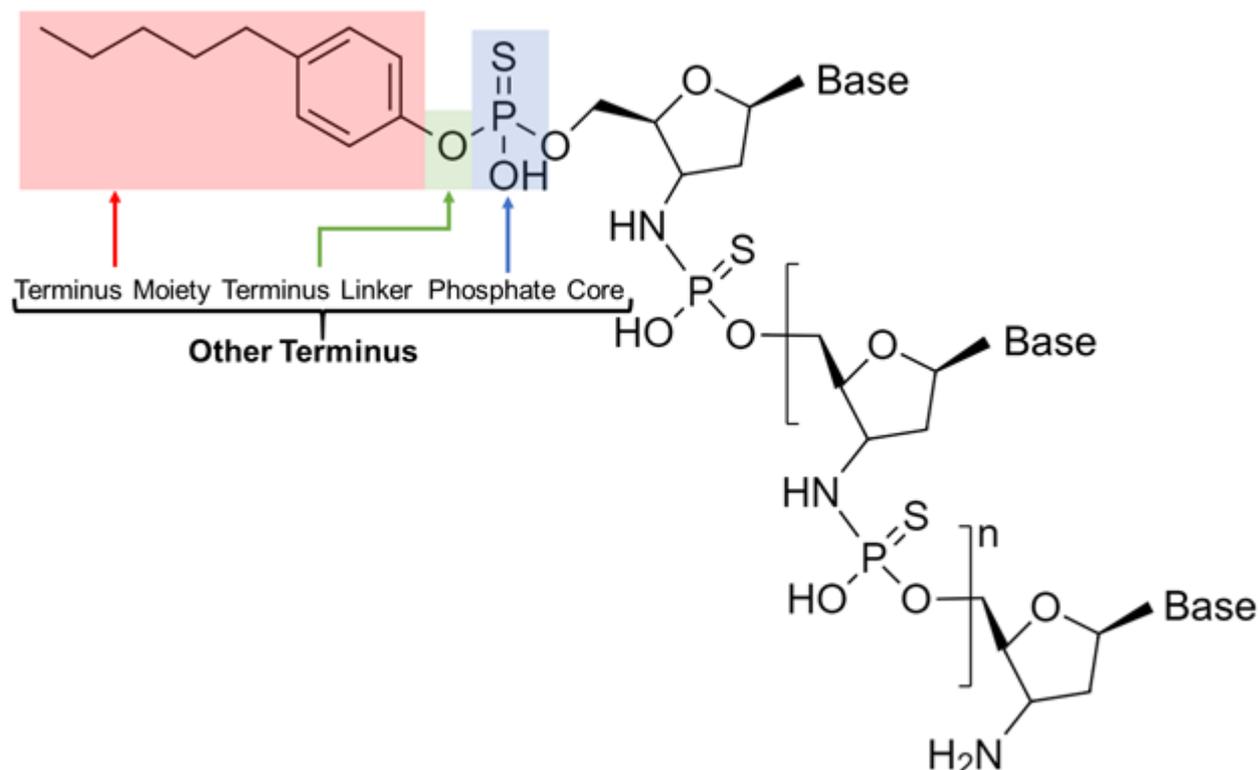
Un oligonucleotide tio-fosforamidato coniugato con un linker benzil-pentano legato all'estremità 5'-tio-fosfato.

Sequenza	Struttura chimica, formula e massa monoisotopica
5'- ATCGATCGTTTAAA- 3'	<p data-bbox="539 685 1197 719"><b>Figura A-1: C<sub>149</sub>H<sub>203</sub>No<sub>65</sub>O<sub>57</sub>P<sub>14</sub>S<sub>14</sub> (4695.7400)</b></p> 

## Creazione di altra terminazione

Seguire lo schema generale per identificare le sottostrutture che costituiscono la porzione 5' linker.

Figura A-2: Other Terminus



1. Fare clic su **Edit > Custom Elements**.
2. Nella scheda Oligo List fare clic su **New**. Viene visualizzata la finestra di dialogo New Oligo Residue or Terminus.
3. Nel campo **Name** immettere un nome, ad esempio 5' benzyl-pentane terminus.
4. Nel campo **Symbol** immettere un simbolo, ad esempio /CustomBP/.
5. Nel campo **Composition Type**, selezionare **Other Terminus**.
6. Compilare i campi per l'altra terminazione.

Tabella A-1: Campi altra terminazione

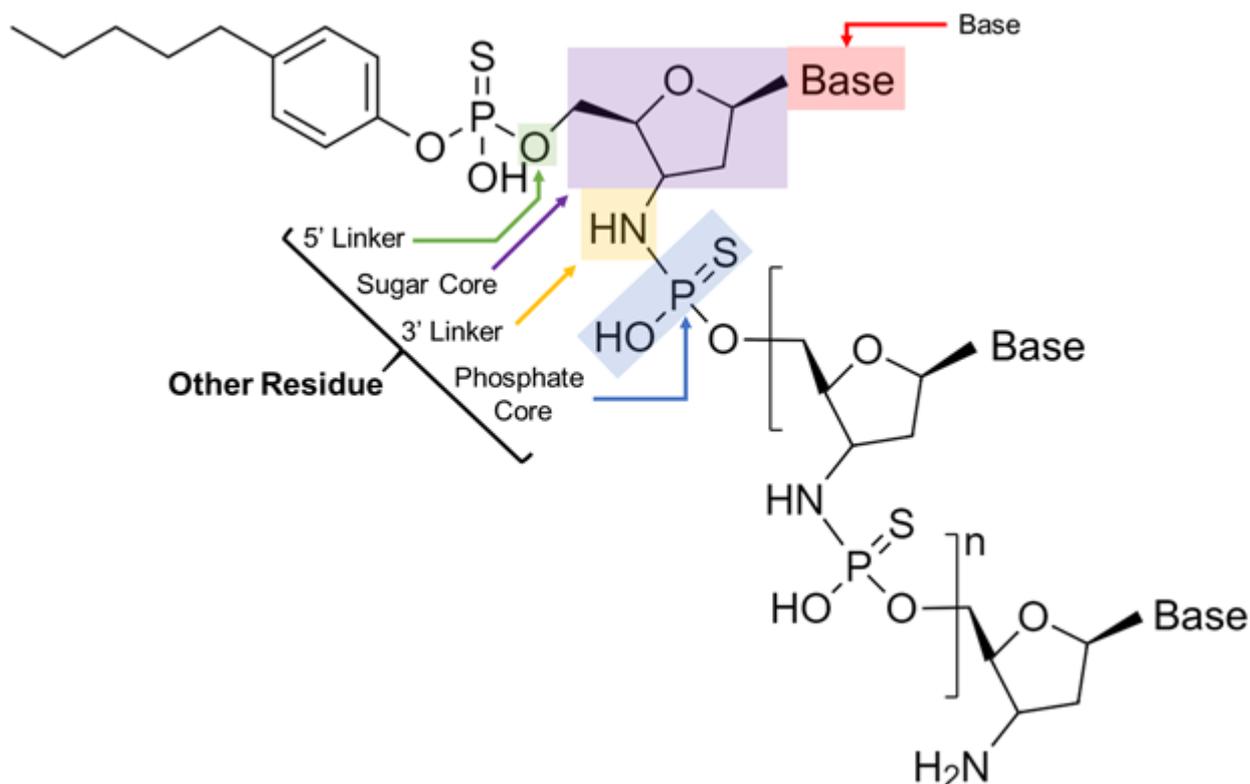
Campo	Valore
Terminus Moiety	C11H15
Terminus Linker	O
Phosphate Core	HOPS

7. Fare clic su **OK**. Viene visualizzata una finestra di dialogo Warning con il messaggio: The "Terminus Moiety" field is usually odd electron. Do you want to continue?
8. Fare clic su **OK**.

## Creazione di residui interni come altri residui

Seguire lo schema generale per identificare le sottostrutture che costituiscono le basi personalizzate.

Figura A-3: Other Residue



1. Fare clic su **Edit > Custom Elements**.
2. Nella scheda Oligo List fare clic su **New**.

---

**Suggerimento!** Quando si creano residui personalizzati, definire tutti e quattro i nucleotidi. Si consiglia di creare un singolo nucleotide e quindi di fare clic su **New From** per creare i tre nucleotidi rimanenti.

---

Viene visualizzata la finestra di dialogo New Oligo Residue or Terminus.

3. Per il nucleotide Adenina, attenersi alla procedura seguente:
  - a. Nel campo **Name** immettere Custom dA.
  - b. Nel campo **Symbol** immettere /CustomdA/.
  - c. Nel campo **Composition Type**, selezionare **Other Residue**.
  - d. Compilare i campi per l'altro residuo.

## Esempio di oligonucleotide personalizzato

---

**Tabella A-2: Campi altro residuo**

Campo	Valore
Base	C5H4N5
5' Linker	O
Sugar Core	C5H7O
3' Linker	NH
Phosphate Core	HPOS

- e. Fare clic su **OK**.  
Viene visualizzata una finestra di dialogo Warning con il messaggio: The "Sugar Core" field is usually odd electron. Do you want to continue?
  - f. Fare clic su **OK**.
4. Per ognuno dei tre nucleotidi rimanenti, attenersi alla procedura seguente:
- a. Selezionare **/CustomdA/** e quindi fare clic su **New From**.  
Viene visualizzata la finestra di dialogo New Oligo Residue or Terminus.
  - b. Digitare **Name**, **Symbol** e **Base**. Per le formule di base, fare riferimento alla tabella seguente.

**Tabella A-3: Formule di base**

Nucleotide	Nome	Simbolo	Base
Timina	Custom dT	/CustomdT/	C5H5N2O2
Guanina	Custom dG	/CustomdG/	C5H4N5O
Citosina	Custom dC	/CustomdC/	C4H4N3O

- c. Fare clic su **OK**.

## Scrittura di una sequenza personalizzata

1. Fare clic su **New > Oligonucleotide**.
2. Nel riquadro Sequence, immettere:  
`/CustomBP/ /CustomdA//CustomdT//CustomdC/ /CustomdG//CustomdA//CustomdT/ /  
CustomdC//CustomdG//CustomdT/ /CustomdT//CustomdT//CustomdA/ /CustomdA//  
CustomdA/`
3. Fare clic nel campo **Chemical formula**.  
`C149H203N65O57P14S14` viene visualizzato nel campo.

## Come vengono denominati i metaboliti dal software

I nomi dei metaboliti potenziali vengono assegnati in due modi. Se un picco è un metabolita previsto, il nome si basa sulla biotrasformazione corrispondente, sul metabolita di scissione o su una combinazione dei due. Se il picco è un metabolita imprevisto, è denominato Loss of Gain of.

Il software assegna inoltre una formula potenziale a ogni metabolita. Gli utenti possono modificare la formula selezionando una formula diversa da un elenco di formule suggerite dal software o digitando una formula manualmente.

## IDA

Metodo IDA che identifica gli ioni in spettri a scansione completa durante l'acquisizione, quindi decide in tempo reale quali ioni analizzare tramite MS/MS.

## ID picco

Il software etichetta i metaboliti potenziali utilizzando M1, M2, M3 e così via, in base al tempo di ritenzione e al valore  $m/z$ .

## fattore di risposta relativo

Il fattore di risposta relativo (RRF) è un valore per cui viene moltiplicata l'area del picco, per aumentarla o ridurla artificialmente. Modifica la tracciatura dell'area del picco nel grafico dei dettagli di correlazione.

## spettro di riferimento

Lo spettro MS/MS di uno specifico composto utilizzato durante l'identificazione dei metaboliti potenziali.

# Contatti

---

## Formazione dei clienti

- In Nord America: [NA.CustomerTraining@sciex.com](mailto:NA.CustomerTraining@sciex.com)
- In Europa: [Europe.CustomerTraining@sciex.com](mailto:Europe.CustomerTraining@sciex.com)
- Al di fuori dell'Unione Europea e del Nord America, visitare [sciex.com/education](http://sciex.com/education) per trovare le informazioni di contatto.

## Centro di istruzione online

- [SCIEX Now Learning Hub](#)

## Assistenza SCIEX

SCIEX e i suoi rappresentanti si affidano a uno staff di tecnici di manutenzione e assistenza formati e qualificati, presenti in tutto il mondo. Saranno felici di rispondere a domande sul sistema o su eventuali problemi tecnici che potrebbero sorgere. Per ulteriori informazioni, visitare il sito web SCIEX all'indirizzo [sciex.com](http://sciex.com) oppure è possibile contattarci in uno dei seguenti modi:

- [sciex.com/contact-us](http://sciex.com/contact-us)
- [sciex.com/request-support](http://sciex.com/request-support)

## Sicurezza informatica

Per le ultime indicazioni sulla sicurezza informatica per i prodotti SCIEX, visitare il sito [sciex.com/productsecurity](http://sciex.com/productsecurity).

## Documentazione

Questa versione sostituisce tutte le versioni precedenti del documento.

Per visualizzare il documento in formato elettronico, è necessario che sia installato Adobe Acrobat Reader. Per scaricare la versione più recente, visitare il sito Web <https://get.adobe.com/reader>.

Le versioni più recenti della documentazione sono disponibili sul sito Web SCIEX, all'indirizzo [sciex.com/customer-documents](http://sciex.com/customer-documents).

---

**Nota:** Per richiedere una versione stampata gratuita del presente documento, contattare [sciex.com/contact-us](http://sciex.com/contact-us).

---