

---

# Software Molecule Profiler

Guia do usuário do software



---

Este documento é fornecido aos clientes que compraram um equipamento SCIEX para uso na operação de tal equipamento. Este documento é protegido por direitos autorais e qualquer reprodução deste documento ou de qualquer parte do mesmo é estritamente proibida, exceto quando houver autorização por escrito da SCIEX.

O software que pode ser descrito neste documento é fornecido sob um contrato de licença. É contra a lei copiar, modificar ou distribuir o software em qualquer meio de comunicação, exceto se permitido especificamente no contrato de licença. Além disso, o contrato de licença pode proibir que o software seja desmontado, passe por engenharia reversa ou descompilado para qualquer finalidade. As garantias são conforme definidas em tal documento.

Partes deste documento podem fazer referência a outros fabricantes e/ou a seus produtos, podendo conter peças cujos nomes estejam registrados como marcas registradas e/ou funcionem como marcas registradas dos seus respectivos proprietários. Qualquer uso é destinado apenas para designar estes produtos do fabricante como fornecidos pela SCIEX para incorporação em seu equipamento e não implica em qualquer direito e/ou licença para usar ou permitir que outros usem tais nomes de produto, seus e/ou do fabricante como marcas registradas.

As garantias da SCIEX estão limitadas a estas garantias expressas fornecidas no momento da venda ou da licença de seus produtos e são representações, garantias e obrigações únicas e exclusivas da SCIEX. A Sciex não oferece nenhuma outra garantia de nenhum tipo, expressa ou implícita, incluindo, entre outras, garantias de comercialização ou adequação para um propósito particular, decorrentes de um estatuto ou da lei, ou de uma negociação ou utilização comercial expressamente divulgada, e não assume nenhuma responsabilidade ou obrigação contingente, incluindo danos indiretos ou consequentes, para qualquer uso pelo comprador ou por quaisquer circunstâncias adversas decorrentes.

**Produto destinado apenas para pesquisa científica.** Não destinado ao uso em procedimentos diagnósticos.

As marcas comerciais e/ou marcas registradas mencionadas neste documento, incluindo as logos associadas, são de propriedade da AB Sciex Pte. Ltd., ou de seus respectivos proprietários, nos Estados Unidos e/ou em outros países.

AB Sciex™ está sendo usada sob licença.

© 2021 DH Tech. Dev. Pte. Ltd.



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

# Índice

---

<b>Capítulo 1: Introdução</b> .....	<b>7</b>
Como as moléculas potenciais e seus derivados são encontrados.....	8
Abrir o espaço de trabalho Molecule Profiler.....	8
Janela Molecule Profiler.....	9
Criar pastas.....	12
<b>Capítulo 2: Custom Elements</b> .....	<b>13</b>
Aminoácidos personalizados.....	13
Criar um aminoácido personalizado.....	13
Editar um aminoácido personalizado.....	14
Excluir um aminoácido personalizado.....	15
Modificações de aminoácido personalizadas.....	15
Criar uma modificação do aminoácido personalizada.....	15
Editar uma modificação do aminoácido personalizada.....	16
Excluir uma modificação do aminoácido personalizada.....	17
Grupos personalizados de terminais ou resíduos de oligonucleotídeos.....	17
Criar um grupo personalizado de terminais ou resíduos de oligonucleotídeos.....	19
Editar um grupo personalizado de terminais ou resíduos de oligonucleotídeos.....	20
Excluir um grupo personalizado de terminais ou resíduos de oligonucleotídeos.....	20
Importar grupos de terminais e resíduos de oligonucleotídeos.....	20
Exportar grupos de terminais e resíduos de oligonucleotídeos.....	21
<b>Capítulo 3: Biblioteca de compostos</b> .....	<b>22</b>
Como as estruturas e as sequências são usadas.....	22
Adicionar uma estrutura.....	22
Adicionar uma sequência de peptídeos.....	23
Convenções de nomenclatura de sequência de peptídeos.....	24
Adicionar uma sequência de oligonucleotídeos.....	25
Convenções de nomenclatura de sequência de oligonucleotídeos.....	26
Adicionar um espectro MS/MS de referência de um arquivo wiff.....	27
Adicionar um espectro MS/MS de referência de um arquivo txt.....	30
Adicionar informações à biblioteca de compostos de uma tabela Results.....	31
<b>Capítulo 4: Conjuntos de biotransformações</b> .....	<b>32</b>
Sobre as biotransformações.....	32
Criar um conjunto de biotransformações.....	32
Editar um conjunto de biotransformações.....	33
Excluir um conjunto de biotransformações.....	34
<b>Capítulo 5: Criar métodos de processamento</b> .....	<b>35</b>

## Índice

---

Parâmetros de processamento .....	35
Selecionar o tipo de método .....	36
Selecionar valores de parâmetro .....	36
Selecionar um composto de uma biblioteca .....	37
Sobre estratégias de busca de pico .....	37
Parâmetros de processamento genéricos .....	41
Parâmetros de processamento específicos do composto .....	53
Editar o enriquecimento isotópico para fórmulas de peptídeos e oligonucleotídeos .....	58
<b>Capítulo 6: Procurar moléculas potenciais .....</b>	<b>59</b>
Sobre o espaço de trabalho Batch .....	59
Especificar opções de lote .....	61
Opções de processamento de lote .....	62
Criar um lote .....	63
Copiar e colar uma linha do lote .....	64
Limpar uma linha do lote .....	64
Abrir um lote .....	65
Importar um lote .....	65
Salvar um lote .....	67
Enviar um lote .....	67
<b>Capítulo 7: Exibir resultados .....</b>	<b>69</b>
Sobre o espaço de trabalho Results .....	69
Mostrar somente espectro filtrado .....	75
Sobre filtros de resultados .....	76
Editar resultados .....	78
Excluir linhas .....	78
Editar o nome e a fórmula de um metabólito potencial .....	78
Agrupar por picos .....	79
Atribuir IDs de pico .....	80
Espectros MS/MS .....	80
<b>Capítulo 8: Caracterizar dados MS/MS .....</b>	<b>84</b>
Sobre a exibição Interpretation .....	84
Exibição Interpretation de moléculas pequenas .....	84
Exibição de interpretação de peptídeos .....	87
Exibição de interpretação de oligonucleotídeos .....	90
Exibição de interpretação de ADC .....	92
Interpretação manual .....	94
Fluxo de trabalho de moléculas pequenas .....	95
Fluxos de trabalho de peptídeos .....	106
Fluxos de trabalho de oligonucleotídeos .....	112
Fluxo de trabalho ADC .....	117
Interpretação automática .....	126
Fluxo de trabalho de moléculas pequenas .....	126
Fluxos de trabalho de peptídeos .....	126

---

<b>Capítulo 9: Correlacionar resultados</b> .....	<b>129</b>
Preparar a correlação .....	129
Personalizar a correlação .....	130
Melhorar o alinhamento de picos .....	130
Definir mesclagem de picos .....	130
Sobre o espaço de trabalho Correlation .....	131
Editar o nome de um metabólito correlacionado .....	133
Comparar metabólitos correlacionados .....	134
Sobre os filtros de correlação .....	134
<b>Capítulo 10: Relatórios</b> .....	<b>136</b>
Criar um relatório no espaço de trabalho Results .....	137
Criar um relatório no espaço de trabalho Correlation .....	138
Copiar e colar um gráfico .....	139
Copiar e colar a tabela Potential Metabolites .....	139
<b>Capítulo 11: Integração de análogos</b> .....	<b>140</b>
Integrar dados de análogos manualmente .....	140
Mostrar controles .....	142
Realizar uma subtração de linha de base .....	142
Alterar o desvio do tempo de retenção .....	142
Definir opções de integração de análogos .....	142
Atualizar tabela .....	143
Atualizar resultados e fechar .....	143
<b>Capítulo 12: Resolução de problemas</b> .....	<b>145</b>
Não é possível abrir um arquivo de estrutura .....	145
Alterar permissões do usuário .....	145
Nenhum metabólito potencial encontrado .....	145
Excesso de metabólitos potenciais encontrados .....	146
Tempos longos de processamento .....	146
Mostrar a pasta ProgramData .....	147
Limitações e problemas conhecidos .....	147
<b>Apêndice A: Exemplo de oligonucleotídeo personalizado</b> .....	<b>148</b>
Criar o outro terminal .....	148
Criar os resíduos internos como outros resíduos .....	150
Escrever uma sequência personalizada .....	151
<b>Apêndice B: Glossário</b> .....	<b>152</b>
Como os metabólitos são nomeados pelo software .....	152
IDA .....	152
IDs de pico .....	152
Fator de resposta relativa .....	152
Espectro de referência .....	152

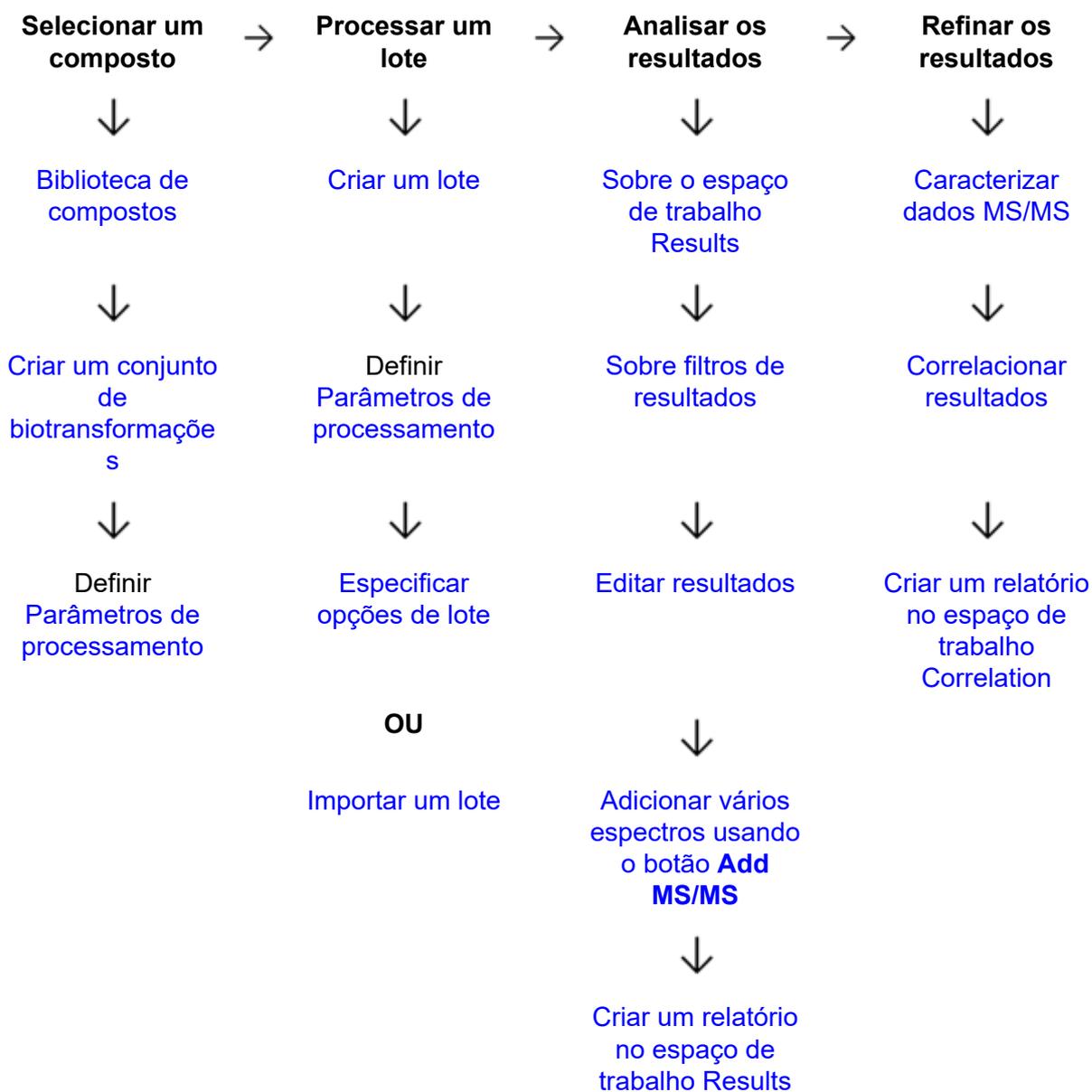
## Índice

---

<b>Entre em contato conosco.....</b>	<b>153</b>
Treinamento do consumidor.....	153
Centro de aprendizagem online.....	153
Suporte da SCIEX.....	153
Segurança cibernética.....	153
Documentação.....	153

Use o software Molecule Profiler para buscar e relatar moléculas e seus derivados, incluindo impurezas e metabólitos potenciais, em dados obtidos usando o software Analyst TF e o SCIEX OS.

O software Molecule Profiler oferece suporte à identificação de moléculas pequenas, peptídeos, conjugados anticorpo-fármaco e oligonucleotídeos abaixo de 10 kDa.



# Como as moléculas potenciais e seus derivados são encontrados

O software tem uma série de estratégias de busca de picos, ou algoritmos, para encontrar moléculas potenciais em uma amostra de interesse. Consulte a seção: [Sobre estratégias de busca de pico](#).

Se um pico encontrado for uma molécula prevista, o software atribuirá um nome específico derivado do precursor ou uma combinação de uma ou mais transformações. Com base no fluxo de trabalho, as transformações podem incluir um conjunto de biotransformações selecionado, metabólitos de clivagem potenciais ou clivagens hidrolíticas potenciais, ou fragmentos de sequência potenciais de um anticorpo.

Na análise de dados de moléculas pequenas, as transformações incluem um conjunto de biotransformações selecionado e metabólitos de clivagem potenciais.

Na análise de dados de peptídeos, as transformações incluem um conjunto de biotransformações selecionado e clivagens hidrolíticas potenciais.

Na análise de dados do conjugado anticorpo-fármaco (ADC), as transformações incluem um conjunto de biotransformações selecionado, metabólitos de clivagem potenciais e fragmentos de sequência potenciais de uma proteína de anticorpo digerido.

Na análise de oligonucleotídeos, as transformações incluem uma seleção de conjuntos de biotransformações adequados para metabólitos e para impurezas, bem como metabólitos de clivagem potenciais e sequências n-1 interno e terminal n+1.

Se a estratégia de busca de picos genéricos for usada e o pico for uma molécula imprevista, será atribuído a ele um nome genérico de Loss of ou Gain of e o aduto protonado na carga do íon molecular.

Se os arquivos de controle forem selecionados com a amostra, o software fará uma comparação entre os dados da amostra e os dados de controle. Se os arquivos de análogos também forem selecionados com a amostra, o software fará uma comparação entre os dados MS e de análogos.

Os usuários podem alterar os parâmetros que controlam cada algoritmo. Consulte a seção: [Selecionar valores de parâmetro](#).

## Abrir o espaço de trabalho Molecule Profiler

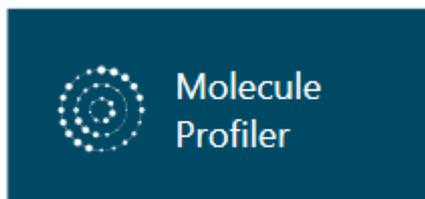
A versão 2.1.5 ou posterior do software SCIEX OS precisa ser instalada e uma licença válida do software Molecule Profiler precisa ser ativada.

1. Selecione o software no menu Start: **Start > SCIEX OS > SCIEX OS**.

Se o software estiver configurado para o modo Integrated, a página inicial será aberta.

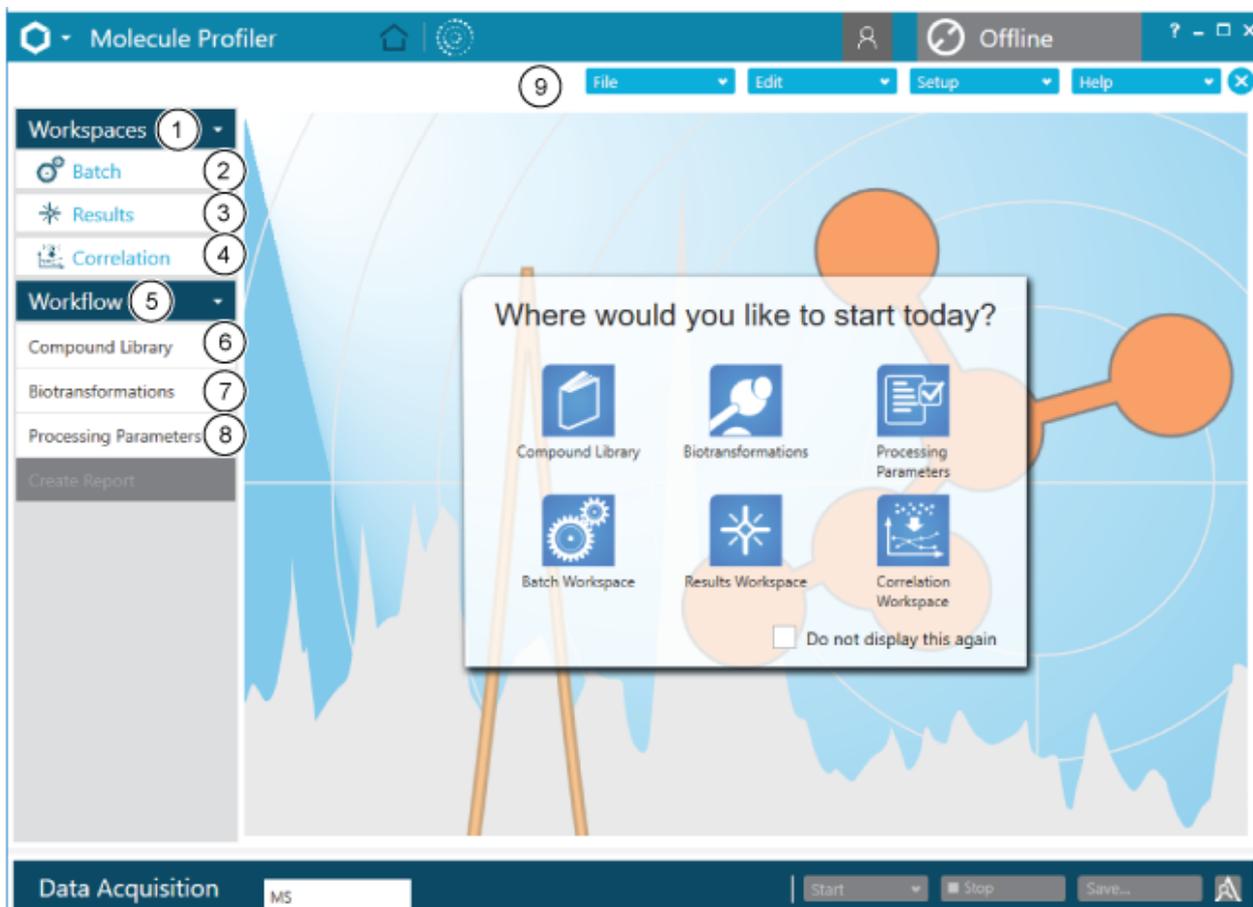
Se o software estiver configurado para o modo Mixed, a caixa de diálogo Logon será aberta. Continue com a etapa a seguir.

2. Se a caixa de diálogo Logon estiver aberta, digite o nome de usuário e a senha de um usuário que esteja autorizada a usar o software, em seguida clique em **OK**. A página inicial é aberta.
3. Clique no bloco Molecule Profiler.

**Figura 1-1: Bloco Molecule Profiler**

É aberto o espaço de trabalho Molecular Profiler.

## Janela Molecule Profiler

**Figura 1-2: Janela Molecule Profiler**

## Introdução

---

Item	Descrição
1	Lista de espaços de trabalho
2	Espaço de trabalho Batch. Use este espaço de trabalho para procurar metabólitos potenciais. Consulte a seção: <a href="#">Sobre o espaço de trabalho Batch</a> .
3	Espaço de trabalho Results. Use este espaço de trabalho para exibir os metabólitos potenciais após o processamento. Consulte a seção: <a href="#">Sobre o espaço de trabalho Results</a> .
4	Espaço de trabalho Correlation. Use este espaço de trabalho para comparar metabólitos encontrados nos diversos arquivos Results. Consulte a seção: <a href="#">Sobre o espaço de trabalho Correlation</a> .
5	Lista de fluxos de trabalho
6	Biblioteca de compostos. Crie e mantenha uma biblioteca de compostos. Consulte a seção: <a href="#">Biblioteca de compostos</a> .
7	Biotransformações. Crie e mantenha listas de transformações comuns. Consulte a seção: <a href="#">Conjuntos de biotransformações</a> .
8	Parâmetros de processamento. Crie e mantenha métodos de processamento que podem ser usados no espaço de trabalho de lote. Consulte a seção: <a href="#">Criar métodos de processamento</a> .
9	Barra de menus. Consulte a tabela: <a href="#">Tabela 1-1</a> .

**Tabela 1-1: Comandos de menu**

Item	Descrição
<b>Menu File</b>	
<b>New</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>• <b>Batch</b>: cria um novo lote. Consulte a seção: <a href="#">Criar um lote</a>.</li><li>• <b>Correlation</b>: cria uma nova correlação. Consulte a seção: <a href="#">Preparar a correlação</a>.</li></ul>
<b>Open</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>• <b>Batch</b>: abre um lote.</li><li>• <b>Correlation</b>: abre um arquivo de correlação.</li><li>• <b>Results</b>: abre um arquivo de resultados.</li></ul>
<b>Save Batch</b>	Salva o lote no espaço de trabalho Batch.
<b>Save Batch As</b>	Salva o lote no espaço de trabalho Batch com outro nome.
<b>Create Report</b>	Cria um relatório. Consulte a seção: <a href="#">Relatórios</a> .
<b>Recent reports</b>	Abre um relatório recente.
<b>Menu Edit</b>	

Tabela 1-1: Comandos de menu (continuação)

Item	Descrição
<b>Edit Name</b>	Edita o nome e a fórmula de um composto.
<b>Copy Selected Table</b>	Copia a tabela selecionada.
<b>Copy Selected Graph</b>	Copia o gráfico selecionado.
<b>Copy Batch Row</b>	Copia a linha do lote selecionada.
<b>Paste Batch Row</b>	Cola a linha do lote copiada no local selecionado.
<b>Clear Batch Row</b>	Exclui o conteúdo da linha do lote selecionada.
<b>Delete Selected Row</b>	Exclui a linha selecionada na tabela Results. O software recalcula os resultados.
<b>Undo Delete</b>	Restaura a última linha excluída. O software recalcula os resultados.
<b>Hide Unchecked Rows</b>	Ocultas as linhas que não foram selecionadas.
<b>Show Hidden Rows</b>	Mostra as linhas que não foram selecionadas.
<b>Custom Elements</b>	Abre a caixa de diálogo Custom Elements. Use esta caixa de diálogo para definir aminoácidos e resíduos de oligonucleotídeos. Consulte a seção: <a href="#">Custom Elements</a> .
<b>Menu Setup</b>	
<b>Compound Library</b>	Abre a biblioteca de compostos. Consulte a seção: <a href="#">Biblioteca de compostos</a> .
<b>Biotransformations</b>	Abre a lista de conjuntos de biotransformações. Consulte a seção: <a href="#">Conjuntos de biotransformações</a> .
<b>Processing Parameters</b>	Abre a janela de métodos de processamento. Consulte a seção: <a href="#">Criar métodos de processamento</a> .
<b>Filters</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Results:</b> defina filtros para o espaço de trabalho Results. Consulte a seção: <a href="#">Sobre filtros de resultados</a>.</li> <li>• <b>Correlation:</b> defina filtros para o espaço de trabalho Correlation. Consulte a seção: <a href="#">Sobre os filtros de correlação</a>.</li> <li>• <b>Interpretation:</b> defina filtros para o espaço de trabalho de interpretação.</li> </ul>

**Tabela 1-1: Comandos de menu (continuação)**

Item	Descrição
<b>Create New Folder</b>	Cria uma pasta. Consulte a seção: <a href="#">Criar pastas</a> .

## Criar pastas

As pastas armazenam os arquivos necessários para o software encontrar moléculas potenciais em uma amostra de interesse, bem como os arquivos Results.

Também é possível criar pastas personalizadas para organizar os resultados.

1. Clique em **Setup > Create New Folder**.  
É aberta a caixa de diálogo Create New Folder.
2. Digite um **Name** para a pasta.  
O campo **Location** exibe o local de instalação do diretório de dados (C:\ProgramData\SCIEX\Molecule Profiler\Data). Todas as pastas criadas são armazenadas nesse diretório.
3. Clique em **OK**.  
Quando uma pasta é criada, duas subpastas são criadas automaticamente, `Processing Parameters` e `Results`.

A caixa de diálogo Custom Elements contém estas guias:

- A guia AA List contém informações de uma lista de aminoácidos padrão. Essas informações não podem ser editadas nem excluídas. Os usuários podem adicionar aminoácidos personalizados a essa lista e depois modificar ou excluir os itens adicionados, conforme necessário. Os aminoácidos adicionados são automaticamente incluídos no final da lista. No entanto, a lista pode ser ordenada clicando em um dos cabeçalhos de coluna.
- A guia AA Modifications contém as informações sobre alteração de massa das várias modificações que foram aplicadas aos grupos de terminais de peptídeos e grupos laterais de resíduos de aminoácidos. Essas informações não podem ser editadas nem excluídas. Os usuários podem adicionar modificações de aminoácidos personalizadas à lista e depois modificar ou excluir os itens adicionados, conforme necessário. As modificações de aminoácidos adicionadas são automaticamente incluídas no final da lista. No entanto, a lista pode ser ordenada clicando em um dos cabeçalhos de coluna.
- A guia Oligo List contém os grupos predefinidos de terminais e resíduos de oligonucleotídeos. Essas informações não podem ser editadas nem excluídas. Os usuários podem adicionar novos grupos de terminais e resíduos de oligonucleotídeos a essa lista e depois modificar ou excluir os itens adicionados, conforme necessário. Os resíduos adicionados são automaticamente incluídos no final da lista. No entanto, a lista pode ser ordenada clicando em um dos cabeçalhos de coluna.

## Aminoácidos personalizados

### Criar um aminoácido personalizado

1. Clique em **Edit > Custom Elements**.  
É aberta a caixa de diálogo Custom Elements.
2. Certifique-se de que a guia AA List esteja selecionada.
3. Clique em **New**.  
É aberta a caixa de diálogo New Custom Amino Acid Residue.
4. Preencha os campos descritos na tabela a seguir e clique em **OK**.

**Tabela 2-1: Campos da caixa de diálogo New Custom Amino Acid Residue**

Campo	Descrição	Valor aceitável
<b>Name</b>	Nome do aminoácido	Alfanumérico
<b>Symbol</b>	Símbolo do aminoácido	<ul style="list-style-type: none"><li>• Alfanumérico</li><li>• A primeira letra deve ser maiúscula</li></ul>

**Tabela 2-1: Campos da caixa de diálogo New Custom Amino Acid Residue (continuação)**

Campo	Descrição	Valor aceitável
<b>Residue Formula</b>	Fórmula do aminoácido	Fórmula empírica, usando elementos periódicos. Um isótopo enriquecido pode também ser usado como parte da fórmula. Por exemplo, <sup>13</sup> C, que indica isótopo de carbono-13.

O aminoácido personalizado é adicionado ao final da tabela de aminoácidos, exibindo o nome, o símbolo e a massa.

## Editar um aminoácido personalizado

1. Clique em **Edit > Custom Elements**.  
É aberta a caixa de diálogo Custom Elements.
2. Certifique-se de que a guia AA List esteja selecionada.
3. Selecione o aminoácido a ser editado.

---

**Nota:** apenas os aminoácidos personalizados que foram adicionados pelo usuário podem ser editados. Os aminoácidos distribuídos com o software não podem ser editados.

---

4. Clique em **Edit**.  
É aberta a caixa de diálogo Edit Custom Amino Acid Residue.
5. Edite os campos descritos na seguinte tabela:

**Tabela 2-2: Campos da caixa de diálogo Edit Custom Amino Acid Residue**

Campo	Descrição	Valor aceitável
<b>Name</b>	Nome do aminoácido	Alfanumérico
<b>Symbol</b>	Símbolo do aminoácido	<ul style="list-style-type: none"><li>• Alfanumérico</li><li>• A primeira letra deve ser maiúscula</li></ul>
<b>Residue Formula</b>	Fórmula do aminoácido	Fórmula empírica, usando elementos periódicos

6. Clique em **OK**.  
O nome, o símbolo e a massa do aminoácido personalizado selecionado são atualizados, se aplicável, na tabela de aminoácidos.

## Excluir um aminoácido personalizado

**Nota:** a exclusão de um aminoácido personalizado que é usado em um resultado ou método de processamento pode gerar comportamentos inesperados.

1. Clique em **Edit > Custom Elements**.  
É aberta a caixa de diálogo Custom Elements.
2. Certifique-se de que a guia AA List esteja selecionada.
3. Selecione o aminoácido a ser excluído.

**Nota:** apenas os aminoácidos personalizados que foram adicionados pelo usuário podem ser excluídos. Os aminoácidos distribuídos com o software não podem ser excluídos.

4. Clique em **Delete**.  
O aminoácido personalizado é removido da tabela de aminoácidos.

## Modificações de aminoácido personalizadas

### Criar uma modificação do aminoácido personalizada

**Nota:** as modificações de aminoácido personalizadas só podem ser aplicadas a aminoácidos padrão.

1. Clique em **Edit > Custom Elements**.  
É aberta a caixa de diálogo Custom Elements.
2. Certifique-se de que a guia AA Modifications esteja selecionada.
3. Clique em **New**.  
A caixa de diálogo New Custom Modification é aberta.
4. Preencha os campos descritos na tabela a seguir e clique em **OK**.

**Tabela 2-3: Campos da caixa de diálogo New Custom Modification**

Campo	Descrição	Valor aceitável
<b>Name</b>	Nome do resíduo	Alfanumérico
<b>Symbol</b>	Símbolo do resíduo	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Deve começar com _</li> <li>• Alfanumérico</li> <li>• A primeira letra deve ser maiúscula</li> </ul>
<b>Formula Gain</b>	Fórmula obtida pelo resíduo	Fórmula empírica, usando elementos periódicos
<b>Formula Lost</b>	Fórmula perdida pelo resíduo	Fórmula empírica, usando elementos periódicos

**Tabela 2-3: Campos da caixa de diálogo New Custom Modification (continuação)**

Campo	Descrição	Valor aceitável
<b>Mod Type</b>	Posição da modificação	Aminoácido, N-Terminal, C-Terminal, N-Terminal da proteína e C-Terminal da proteína
<b>Applies to AA</b>	Nome do aminoácido relacionado	Uma representação de letra única do aminoácido padrão ao qual a modificação personalizada será aplicada, por exemplo, P para prolina. Deixe este campo em branco para aplicar a modificação personalizada a todos os aminoácidos padrão.

A modificação de aminoácido personalizada é adicionada ao final da tabela de modificações de aminoácidos, exibindo o símbolo, a mudança de massa e o nome.

## Editar uma modificação do aminoácido personalizada

1. Clique em **Edit > Custom Elements**.  
É aberta a caixa de diálogo Custom Elements.
2. Certifique-se de que a guia AA Modifications esteja selecionada.
3. Selecione a modificação a ser editada.

**Nota:** apenas as modificações personalizadas que foram adicionadas pelo usuário podem ser editadas. As modificações distribuídas com o software não podem ser editadas.

4. Clique em **Edit**.  
A caixa de diálogo Edit Custom Modification é aberta.
5. Edite os campos apropriados descritos na seguinte tabela:

**Tabela 2-4: Campos da caixa de diálogo Edit Custom Modification**

Campo	Descrição	Valor aceitável
<b>Name</b>	Nome do resíduo	Alfanumérico
<b>Symbol</b>	Símbolo do resíduo	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Deve começar com _</li> <li>• Alfanumérico</li> <li>• A primeira letra deve ser maiúscula</li> </ul>
<b>Formula Gain</b>	Fórmula obtida pelo resíduo	Fórmula empírica, usando elementos periódicos

Tabela 2-4: Campos da caixa de diálogo Edit Custom Modification (continuação)

Campo	Descrição	Valor aceitável
<b>Formula Lost</b>	Fórmula perdida pelo resíduo	Fórmula empírica, usando elementos periódicos
<b>Mod Type</b>	Posição da modificação	Aminoácido, N-Terminal, C-Terminal, N-Terminal da proteína e C-Terminal da proteína
<b>Applies to AA</b>	Nome do aminoácido relacionado	Uma representação de letra única do aminoácido padrão ao qual a modificação personalizada será aplicada, por exemplo, P para prolina. Deixe este campo em branco para aplicar a modificação personalizada a todos os aminoácidos padrão.

- Clique em **OK**.  
O nome, o símbolo e a mudança de massa da modificação personalizada selecionada são atualizados, se aplicável, na tabela de modificações.

## Excluir uma modificação do aminoácido personalizada

**Nota:** a exclusão de uma modificação de aminoácido personalizada que é usada em um resultado ou método de processamento pode gerar comportamentos inesperados.

- Clique em **Edit > Custom Elements**.  
É aberta a caixa de diálogo Custom Elements.
- Certifique-se de que a guia AA Modifications esteja selecionada.
- Selecione a modificação a ser excluída.

**Nota:** apenas as modificações personalizadas que foram adicionadas pelo usuário podem ser excluídas. As modificações distribuídas com o software não podem ser excluídas.

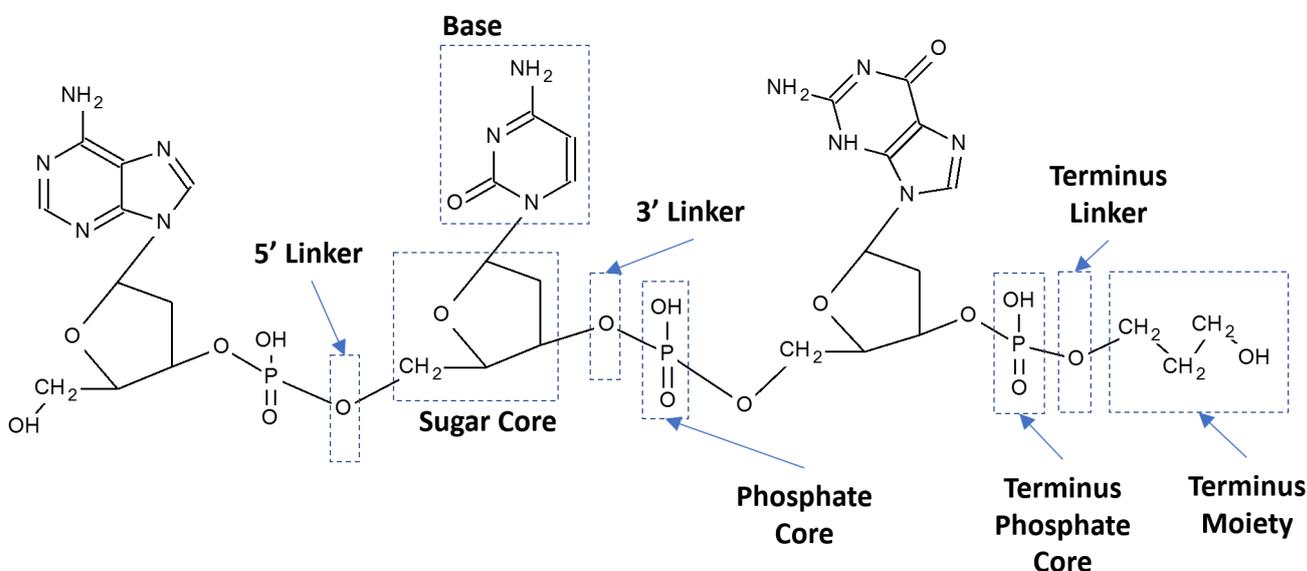
- Clique em **Delete**.  
A modificação personalizada é removida da tabela de modificações.

## Grupos personalizados de terminais ou resíduos de oligonucleotídeos

Use elementos personalizados para criar sequências que contenham grupos funcionais personalizados que possam ser adicionados à estrutura principal de um oligonucleotídeo. Essas modificações podem ser inseridas em uma sequência e depois pesquisadas e identificadas pelo software Molecule Profiler.

Um oligonucleotídeo pode ser dividido em várias subestruturas.

Figura 2-1: Subestruturas do oligonucleotídeo



Os usuários podem alterar as subestruturas de base de um oligonucleotídeo ou definir uma nova cadeia de base, terminal e de fosfato. Ao criar uma sequência modificada personalizada, use esta estrutura generalizada:

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'

Na caixa de diálogo New Oligo Residue or Terminus, o campo **Type** contém vários tipos predefinidos de resíduos ou terminais. Esses tipos predefinidos restringem a edição a determinadas subestruturas do oligonucleotídeo para simplificar a criação de modificações que são específicas ao tipo em questão. Para entender como cada tipo se encaixa na estrutura geral descrita acima, consulte a seguinte tabela:

Tabela 2-5: Tipos

Tipo	Categoria	Subestrutura editável
DNA	Tipo de resíduo	Base
DNA*	Tipo de resíduo	Base
RNA	Tipo de resíduo	Base
RNA*	Tipo de resíduo	Base
2'-O-metil RNA	Tipo de resíduo	Base
2'-O-metil RNA*	Tipo de resíduo	Base
Locked (LNA)	Tipo de resíduo	Base
Locked (LNA)*	Tipo de resíduo	Base

Tabela 2-5: Tipos (continuação)

Tipo	Categoria	Subestrutura editável
Other Residue	Tipo de resíduo	Base Ligante 5' Base açúcar Ligante 3' Base fosfato
Phospho Terminus*	Fração terminal	Fração terminal
Phospho Terminus	Fração terminal	Fração terminal
Other Terminus	Fração terminal Ligante terminal Base fosfato terminal	Fração terminal Ligante terminal Base fosfato

\* Cadeia de tiofosfato

O tipo mais flexível para adicionar e editar fórmulas químicas é "Other Residue". Ele pode ser alterado para acomodar várias subestruturas personalizadas diferentes, permitindo que o usuário defina oligonucleotídeos altamente personalizados. Da mesma maneira, o tipo Other Terminus permite que o usuário defina um 5' ou 3'-terminal, ligante e base personalizados.

Para ver um exemplo, consulte a seção: [Exemplo de oligonucleotídeo personalizado](#).

## Criar um grupo personalizado de terminais ou resíduos de oligonucleotídeos

**Dica!** Para criar um grupo de terminais ou resíduos de oligonucleotídeos copiando um que já existe, selecione o item na guia Oligo List e clique em **New From**.

1. Clique em **Edit > Custom Elements**.  
É aberta a caixa de diálogo Custom Elements.
2. Certifique-se de que a guia Oligo List esteja selecionada.  
A lista contém todos os grupos predefinidos de terminais e resíduos de oligonucleotídeos.
3. Clique em **New**.  
É aberta a caixa de diálogo New Oligo Residue or Terminus.
4. Preencha os campos na caixa de diálogo. Para ver os exemplos, consulte a seção: [Exemplo de oligonucleotídeo personalizado](#).
5. Clique em **OK**.

O grupo personalizado de terminais e resíduos é adicionado ao final da tabela.

### Editar um grupo personalizado de terminais ou resíduos de oligonucleotídeos

1. Clique em **Edit > Custom Elements**.  
É aberta a caixa de diálogo Custom Elements.
2. Certifique-se de que a guia Oligo List esteja selecionada.
3. Selecione o grupo de resíduos ou terminais a ser editado.

---

**Nota:** apenas os grupos de resíduos e terminais que foram adicionados pelo usuário podem ser editados. Os grupos de resíduos e terminais distribuídos com o software não podem ser editados.

---

4. Clique em **Edit**.  
É aberta a caixa de diálogo Edit Custom Amino Acid Residue.
5. Edite as propriedades do grupo de resíduos ou terminais.
6. Clique em **OK**.

### Excluir um grupo personalizado de terminais ou resíduos de oligonucleotídeos

---

**Nota:** a exclusão de um grupo personalizado de terminais ou resíduos de oligonucleotídeos que é usado em um resultado ou método de processamento pode gerar comportamentos inesperados.

---

1. Clique em **Edit > Custom Elements**.  
É aberta a caixa de diálogo Custom Elements.
2. Certifique-se de que a guia Oligo List esteja selecionada.
3. Selecione o grupo de resíduos ou terminais a ser excluído.

---

**Nota:** apenas os grupos de resíduos e terminais que foram adicionados pelo usuário podem ser excluídos. Os grupos de resíduos e terminais distribuídos com o software não podem ser excluídos.

---

4. Clique em **Delete**.  
O grupo personalizado de terminais e resíduos é removido da tabela.

### Importar grupos de terminais e resíduos de oligonucleotídeos

Os grupos de terminais e resíduos de oligonucleotídeos podem ser importados de um arquivo de texto.

1. Clique em **Edit > Custom Elements**.  
É aberta a caixa de diálogo Custom Elements.

2. Certifique-se de que a guia Oligo List esteja selecionada.  
A lista contém todos os grupos predefinidos de terminais e resíduos de oligonucleotídeos.
3. Clique em **Import**.  
É aberta a caixa de diálogo Import Text File.
4. Navegue até o arquivo de texto, selecione-o e clique em **Open**.

## Exportar grupos de terminais e resíduos de oligonucleotídeos

Os grupos de terminais e resíduos de oligonucleotídeos podem ser exportados para um arquivo de texto.

1. Clique em **Edit > Custom Elements**.  
É aberta a caixa de diálogo Custom Elements.
2. Certifique-se de que a guia Oligo List esteja selecionada.  
A lista contém todos os grupos predefinidos de terminais e resíduos de oligonucleotídeos.
3. Selecione os grupos de resíduos e terminais de oligonucleotídeos a serem exportados.

---

**Dica!** Pressione **Ctrl+A** para selecionar todos os grupos de resíduos e terminais na lista.

---

4. Clique em **Export**.  
É aberta a caixa de diálogo Save As.
5. Digite o nome do arquivo de texto no qual os grupos de resíduos e terminais de oligonucleotídeos exportados serão salvos.



- b. Digite um **Name** para o composto e clique em **OK**.

O software preenche automaticamente o campo **Compound name** na caixa de diálogo Compound Library com o nome fornecido.

- Selecione um composto na lista fornecida no campo **Compound name**.

A caixa de diálogo Compound Library é atualizada com as informações correspondentes ao composto selecionado.

3. Clique em **Open Structure**.  
É aberta a caixa de diálogo Open Structure File.
4. Navegue até um arquivo mol válido e o selecione.
5. Clique em **Open**.

O software preenche os seguintes campos na caixa de diálogo Compound Library:

- Estrutura
- Fórmula química
- Polaridade
- Padrão isotópico

Por padrão, o campo **Adduct** é preenchido com um aduto protonado de carga simples  $[M+H]^+$  ou  $[M-H]^-$ . O software também atualiza o campo **m/z** com a informação apropriada.

6. Selecione a **Polarity** da aquisição.  
O **Isotope Pattern** e os valores de **m/z** e **Adduct** na guia Compound Details são atualizados com base na polaridade selecionada.
7. Preencha os seguintes campos com as informações apropriadas:
- Classe do composto
  - Número CAS
  - Comentários (por exemplo, as informações sobre classes de metabólitos podem ser adicionadas a este campo).
8. Abra a guia Experimental Data.
9. Escolha uma das seguintes opções:
- Para adicionar um espectro MS/MS de referência de um arquivo wiff, continue na seção: [Adicionar um espectro MS/MS de referência de um arquivo wiff](#).
  - Para adicionar um espectro MS/MS de referência de um arquivo txt, continue na seção: [Adicionar um espectro MS/MS de referência de um arquivo txt](#).

## Adicionar uma sequência de peptídeos

Use arquivos wiff e txt para adicionar um espectro de referência a entradas individuais na biblioteca de compostos.

## Biblioteca de compostos

---

1. No painel Workflow, clique em **Compound Library**.  
É aberta a caixa de diálogo Compound Library.
2. Clique em **New** e selecione **Sequence** na lista de opções.  
É aberta a caixa de diálogo New Entry.
3. Digite um **Name** para o composto e clique em **OK**.  
O software preenche automaticamente o campo **Compound name** na caixa de diálogo Compound Library com o nome fornecido.
4. Digite a sequência apropriada de peptídeos no campo **Sequence**.

---

**Nota:** a sequência pode conter elementos personalizados. Consulte a seção: [Custom Elements](#).

---

5. Clique no campo **Chemical formula**.

O software preenche os seguintes campos na caixa de diálogo Compound Library:

- Fórmula química
- Polaridade
- Padrão isotópico

Por padrão, o campo **Adduct** é preenchido com um aduto protonado duplamente carregado  $[M+2H]^{2+}$  ou  $[M-2H]^{2-}$ . O software também atualiza o campo **m/z** com a informação apropriada.

6. Selecione a **Polarity** da aquisição.  
O **Isotope Pattern** e os valores de **m/z** e **Adduct** na guia Compound Details são atualizados com base na polaridade selecionada.
7. Clique na guia Experimental Data.
8. Escolha uma das seguintes opções:
  - Para adicionar um espectro MS/MS de referência de um arquivo wiff, continue na seção: [Adicionar um espectro MS/MS de referência de um arquivo wiff](#).
  - Para adicionar um espectro MS/MS de referência de um arquivo txt, continue na seção: [Adicionar um espectro MS/MS de referência de um arquivo txt](#).

## Convenções de nomenclatura de sequência de peptídeos

Tabela 3-1: Sequências de peptídeos

Característica	Convenção de entrada	Exemplo
Várias cadeias	/	LIGHTCHAIN / HEAVYCHAIN
Modificação no aminoácido: grupo lateral	[Símbolo]	M[Oxi]

Tabela 3-1: Sequências de peptídeos (continuação)

Característica	Convenção de entrada	Exemplo
Modificação no aminoácido: C-Terminal	-[Símbolo]	Y-[Ami]
Modificação no aminoácido: N-Terminal	[Símbolo]-	[1Me]-Y
Ligações	<ul style="list-style-type: none"> <li>[*#] em cada resíduo ligado</li> <li>O número em cada resíduo ligado</li> </ul>	Ponte S-S: MYC[*1]PEPC[*1]TIDE

Tabela 3-2: Ligações

Tipo de ligação	Convenção	Exemplo
Ponte S-S	Adicionar [*#] a ambos os resíduos na ponte	Cadeia única: MYC[*1]PEPC[*1]TIDE  Várias cadeias: LIGHTC[*1]HAIN / MC[*2]HEAVYC[*1]HAINC[*2] ]AD
Ponte éster/amido	Adicionar '[O-1]' a um dos resíduos de ligação	MYR[*1]PEPD[*1][O-1]TIDE
Cíclico	Adicionar '[H]' em C-Term	M[*1]YCPEPCTIDE[*1]-[H]
Loops: resíduo ligado no primeiro ou último índice e os grupos de terminais não fazem parte da ligação em ponte	Adicionar explicitamente os grupos de terminais	[H]-C[*1]YCPEPCTIDC[*1]-[OH]

## Adicionar uma sequência de oligonucleotídeos

Opcionalmente, adicione informações sobre o composto de oligonucleotídeo à biblioteca de compostos. Os compostos da biblioteca têm um espectro MS/MS que será usado durante o processamento.

**Nota:** se um composto não estiver na biblioteca, o usuário poderá adicioná-lo manualmente a um método de processamento.

As sequências são adicionadas em formato de texto. Para capturar o conjunto diversificado de modificações de oligonucleotídeos terapêuticos e elementos personalizados, obedeça

às regras de entrada de sequências. Consulte a seção: [Convenções de nomenclatura de sequência de oligonucleotídeos](#). Para obter uma lista mais detalhada de modificações e elementos personalizados, consulte a seção: [Custom Elements](#).

1. No painel Workflow, clique em **Compound Library**.
2. Clique em **New > Oligonucleoide Sequence**. É aberta a caixa de diálogo New Entry.
3. Digite o **Name** da sequência de oligonucleotídeos e clique em **OK**.
4. Digite a sequência na tabela **Sequence**.

---

**Nota:** a sequência pode conter elementos personalizados. Consulte a seção: [Custom Elements](#).

---

5. Clique no campo **Chemical formula** para atualizar automaticamente a fórmula química.
6. (Opcional) Digite as informações nos campos da guia Compound Details.
7. Clique na guia Experimental Data.
8. Escolha uma das seguintes opções:
  - Para adicionar um espectro MS/MS de referência de um arquivo wiff, continue na seção: [Adicionar um espectro MS/MS de referência de um arquivo wiff](#).
  - Para adicionar um espectro MS/MS de referência de um arquivo txt, continue na seção: [Adicionar um espectro MS/MS de referência de um arquivo txt](#).

## Convenções de nomenclatura de sequência de oligonucleotídeos

As sequências de oligonucleotídeos podem ser especificadas usando identificadores de uma letra característica das bases:

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

Os tipos de oligonucleotídeo, como ácido desoxirribonucleico (DNA, d) e ácido ribonucleico (RNA, r), podem ser identificados acrescentando a letra única no início da sequência ou, para os tipos de oligonucleotídeo mistos, intercalando-a entre bases.

Para os oligonucleotídeos que contêm nucleotídeos sintéticos, como ácido nucleico bloqueado (LNA), use o símbolo completo de cada resíduo ao definir a sequência. Por exemplo, IA para LNA-A ou moA para 2'-Mehtoxymethyl-A.

As modificações de cadeia, como tiofosfato (HPSO, \*), são adicionadas ao final de cada base.

Átomos pesados, como o Carbono-13(/13Cn/), são adicionados após o resíduo de oligonucleotídeo específico, em que *n* indica o número de átomos pesados.

**Nota:** no exemplo anterior, a notação "/13Cn/" adiciona átomos pesados à fórmula existentes. Isso não substitui os átomos na nucleobase com um rótulo de pesado. Para definir uma nucleobase marcada isotopicamente, é necessária uma modificação personalizada.

Use uma barra (/) como o primeiro e o último caracteres para identificar uma modificação personalizada definida pelo usuário. Para adicionar modificações personalizadas e para ver os exemplos de casos de uso adicionais das modificações e as convenções de nomenclatura associadas, consulte a seção: [Custom Elements](#).

**Tabela 3-3: Convenções de oligonucleotídeos**

Característica	Convenção de entrada	Exemplo
DNA	d	dACG T
RNA	r	rACG U
DNA e LNA combinados	d, l	dACG lT
Cadeia de tiofosfato	*	dA*C*G* T*
Modificação de açúcar 2'Methoxymethyl (2'MOE)	mo	moAmoCmoG moT
Carbono-13	/13Cn/	dACG T/13C2/
Resíduo personalizado	//	dACG /Outro resíduo/

## Adicionar um espectro MS/MS de referência de um arquivo wiff

1. Clique em **Open wiff File**.  
É aberta a caixa de diálogo Select Data.
2. Navegue até o local apropriado, selecione um arquivo wiff que contém um espectro para o composto que está sendo adicionado e clique em **OK**.

**Nota:** o arquivo wiff precisa conter o composto como um íon precursor.

Tabela 3-4: Adicionar um espectro de referência

O arquivo contém vários precursores	O arquivo contém um precursor
<p>Se houver vários precursores no arquivo wiff selecionado, será aberta a caixa de diálogo Select a Spectrum com as seguintes informações exibidas na tabela Precursors para cada precursor disponível:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• m/z</li> <li>• Tempo (mín.)</li> <li>• Qualidade</li> <li>• Carga</li> </ul>	<p>Se o arquivo wiff contiver apenas um precursor, a janela MS/MS Spectrum será atualizada com o espectro.</p>
<p>Marque a caixa de seleção dos filtros a serem aplicados.</p> <p>Selecione uma ou ambas as opções de filtro, conforme aplicável. A tabela <b>Precursors</b> é atualizada para exibir somente as linhas que atendem aos critérios especificados.</p>	<p>O software usa a <b>m/z</b> e a <b>Charge</b> do precursor selecionado e a energia de colisão do experimento para criar uma única linha de informações no campo <b>Spectra</b> da caixa de diálogo Compound Library. Por exemplo, Prec (m/z), CE (energia de colisão do experimento), Charge (carga) são exibidos no campo.</p> <p>O título do espectro contém a <b>Polarity</b> e o <b>Compound name</b> do grupo Compound Information, seguido da informação do campo <b>Spectra</b>.</p> <p>Os <b>Spectrum Details</b> contêm o tipo de instrumento, o tempo de retenção, a carga e a energia de colisão correspondentes ao espectro MS/MS selecionado. Essas informações são somente leitura.</p>
<p>Selecione uma linha na tabela Precursors.</p> <p>A janela MS/MS Spectrum é atualizada com o espectro do precursor selecionado.</p> <hr/> <p><b>Dica!</b> Use <b>Ctrl</b>+clique para selecionar várias linhas. Se várias linhas forem selecionadas, o <b>MS/MS Spectrum</b> do primeiro precursor será exibido.</p> <hr/>	<p>—</p>

Tabela 3-4: Adicionar um espectro de referência (continuação)

O arquivo contém vários precursores	O arquivo contém um precursor
Se a caixa de seleção <b>Charge state from</b> for marcada, selecione os valores <b>from</b> e <b>to</b> nas opções fornecidas. O valor <b>from</b> é equivalente ao estado de carga mínimo disponível na tabela Precursors. O valor <b>to</b> é equivalente ao estado de carga máximo disponível na tabela Precursors.	—
Se a caixa de seleção <b>Quality above</b> for marcada, digite o valor apropriado no campo fornecido.	—
Clique em <b>OK</b> .	—
<p>Para cada linha selecionada na tabela Precursors, o software usa a <b>m/z</b> e a <b>Charge</b> do precursor selecionado e a energia de colisão do experimento para criar uma única linha de informações no campo <b>Spectra</b> da caixa de diálogo Compound Library. Por exemplo, Prec (m/z), CE (colisão de energia do experimento), Charge (carga) são exibidos no campo.</p> <p>A informação exibida no campo <b>Spectra</b> e o espectro exibido no campo <b>MS/MS Spectrum</b> correspondem à primeira linha selecionada na tabela Precursors.</p> <p>O título do espectro contém a <b>Polarity</b> e o <b>Compound name</b> do grupo Compound Information, seguido da informação do campo <b>Spectra</b>.</p> <p>Os <b>Spectrum Details</b> contêm o tipo de instrumento, o tempo de retenção, a carga e a energia de colisão correspondentes ao espectro MS/MS selecionado. Essas informações são somente leitura.</p>	—

- (Opcional) Selecione outro **Spectra** na lista fornecida. O **MS/MS Spectrum** e os **Spectrum Details** são atualizados para mostrar as informações relacionadas à seleção.
- Para salvar um espectro como espectro predefinido para o composto, selecione o **Spectra** apropriado na lista fornecida e clique em **Set as Reference**.

- **Reference** é adicionada à informação exibida no campo **Spectra**. Por exemplo, Prec (xx.xx), CE (xx), Charge (xx) - Reference é exibido no campo.

5. Clique em **Save**.
6. Clique em **OK**.  
O novo composto é salvo na biblioteca e a caixa de diálogo Compound Library é fechada.

## Adicionar um espectro MS/MS de referência de um arquivo txt

1. Clique em **Open txt File**.  
É aberta a caixa de diálogo Open txt File.
2. Navegue até o local apropriado, selecione um arquivo txt MS/MS e clique em **OK**.  
É aberta a caixa de diálogo Spectrum Details.
3. Digite as informações apropriadas relativas ao espectro selecionado e clique em **OK**.

O software usa as informações dos campos **Precursor mass (m/z)**, **Collision energy** e **Charge** para gerar as informações do campo **Spectra** da caixa de diálogo Compound Library. Por exemplo, Prec (Precursor mass (m/z)), CE (Collision energy), Charge (Charge) são exibidos no campo.

A informação exibida no campo **Spectra** e o espectro exibido no campo **MS/MS Spectrum** correspondem ao arquivo txt selecionado.

O título do espectro contém a **Polarity** e o **Compound name** do grupo Compound Information, seguido da informação do campo **Spectra**.

Os **Spectrum Details** contêm o tipo de instrumento, o tempo de retenção, a carga e a energia de colisão correspondentes ao espectro MS/MS selecionado. Essas informações são somente leitura.

4. (Opcional) Selecione outro **Spectra** na lista fornecida.  
O **MS/MS Spectrum** e os **Spectrum Details** são atualizados para mostrar as informações relacionadas à seleção.
5. Para salvar um espectro como espectro predefinido para o composto, selecione o **Spectra** apropriado na lista fornecida e clique em **Set as Reference**.  
- **Reference** é adicionada à informação exibida no campo **Spectra**. Por exemplo, Prec (xx.xx), CE (xx), Charge (xx) - Reference é exibido no campo.
6. Clique em **Save**.
7. Clique em **OK**.  
O novo composto é salvo na biblioteca e a caixa de diálogo Compound Library é fechada.

## Adicionar informações à biblioteca de compostos de uma tabela Results

---

**Nota:** esta funcionalidade está disponível apenas para arquivos Results de moléculas pequenas e peptídeos. A funcionalidade não está disponível para arquivos Results de ADC e de oligonucleotídeos.

---

1. No painel Workspace, clique em **Results**.  
É aberto o espaço de trabalho Results.
  2. Clique em **Open**.  
É aberta a caixa de diálogo Open Results.
  3. Navegue até o arquivo apropriado e o selecione.
  4. Clique em **OK**.  
É aberta a exibição Results.
  5. Selecione uma linha na tabela Potential Metabolites, clique com o botão direito e selecione **Add to Compound Library**.
- 

**Nota:** se a linha selecionada não contiver um espectro MS/MS, a opção **Add to Compound Library** não estará disponível.

---

6. Clique em **OK** como resposta à mensagem de confirmação.
7. No painel Workflow, clique em **Compound Library**.  
É aberta a caixa de diálogo Compound Library. O metabólito selecionado é adicionado à lista **Compound name**.

Conjuntos de biotransformações são listas de transformações comuns.

## Sobre as biotransformações

Os usuários podem pesquisar metabólitos previstos usando conjuntos de biotransformações predefinidos instalados com o software, ou podem criar novos conjuntos de biotransformações. Por exemplo, os usuários podem criar um conjunto diferente para cada composto que está sendo analisado. As biotransformações instaladas contêm informações incorporadas usadas durante a sequência automática ou proposta estrutural.

Os conjuntos de biotransformações específicos do método são usados como padrões para cada tipo de método. Por exemplo, o método de peptídeos usa o conjunto de biotransformações de produtos biológicos como padrão. Esse conjunto de biotransformações contém as mais relevantes para as reações metabólicas in vivo de peptídeos.

Para os oligonucleotídeos, selecione um dos três conjuntos de transformações predefinidos:

- **Oligonucleotide Basic:** fornece uma lista concisa de modificações e está restrito àquelas que afetam somente a base ou a cadeia principal.
- **Oligonucleotide Comprehensive:** fornece uma ampla cobertura de todas as transformações que podem ocorrer durante a síntese, in vivo e armazenagem.
- **Oligonucleotide Metabolites:** contém um subconjunto do conjunto abrangente que enfoca as in vivo apenas.

Considere cuidadosamente a origem da amostra e escolha o conjunto mais representativo. Os usuários podem criar seu próprio conjunto de biotransformações personalizado usando as entradas padrão, ou adicionando novas entradas. Consulte as seções [Criar um conjunto de biotransformações](#) e [Editar um conjunto de biotransformações](#).

Crie biotransformações personalizadas identificando uma mudança na fórmula química ou combinando duas biotransformações existentes.

As biotransformações personalizadas ou as de conjuntos existentes podem ser incluídas em qualquer conjunto novo criado.

---

**Dica!** Na avaliação de dados de produtos biológicos, selecione biotransformações de alta probabilidade para criar um pequeno conjunto e fazer uma análise mais rápida dos dados.

---

## Criar um conjunto de biotransformações

1. No painel Workflow, clique em **Biotransformations**.  
É aberta a caixa de diálogo Biotransformations.
2. Clique em **New**.

- É aberta a caixa de diálogo New Biotransformation Set.
3. Digite um nome para o conjunto no campo **Working biotransformation set**.
  4. Clique em **New Biotransformation**.  
É aberta a caixa de diálogo New Biotransformation.
  5. Digite um nome para a biotransformação no campo **Name**.
  6. (Opcional) Digite os detalhes apropriados relacionados à biotransformação nos campos **Description** e **Comments**.
  7. Escolha uma das seguintes opções:

**Tabela 4-1: Criar conjuntos de biotransformações**

Para criar uma biotransformação simples	Para criar uma biotransformação combinada
Clique em <b>Single biotransformation</b> .	Clique em <b>Combined biotransformation</b> .
Identifique a parte da estrutura que está sendo perdida no campo <b>Formula from</b> .	Selecione uma biotransformação em cada um dos campos <b>Biotransformation 1</b> e <b>Biotransformation 2</b> .
Digite a fórmula da biotransformação no campo <b>Formula to</b> .	—

**Nota:** as biotransformações disponíveis são as existentes no conjunto de trabalho.

**Nota:** o software calcula automaticamente a alteração resultante da biotransformação e preenche o campo **Mass shift** com esse valor.

8. Clique em **OK**.  
A nova biotransformação é exibida no conjunto de biotransformações de trabalho e nas tabelas de conjunto de biotransformações de origem.
9. Clique em **OK** para salvar o novo conjunto de biotransformações.  
A caixa de diálogo New Biotransformation Set é fechada.
10. Clique em **OK**.  
A caixa de diálogo Biotransformations é fechada.

## Editar um conjunto de biotransformações

1. No painel Workflow, clique em **Biotransformations**.  
É aberta a caixa de diálogo Biotransformations.
2. Selecione o **Set** apropriado na lista fornecida.
3. Clique em **Edit**.  
É aberta a caixa de diálogo Edit Biotransformation Set exibindo o nome do conjunto selecionado no campo **Working biotransformation set**.
4. Digite um nome para o conjunto apropriado no campo **Working biotransformation set**.

## Conjuntos de biotransformações

---

5. Selecione uma linha na tabela de conjunto de biotransformações de trabalho.
6. Clique em **Edit Biotransformation**.  
É aberta a caixa de diálogo Edit Biotransformation.
7. (Opcional) Faça as alterações necessárias nos campos **Name**, **Description** e **Comments**.
8. (Opcional) Escolha uma das seguintes opções:

**Tabela 4-2: Editar conjuntos de biotransformações**

Para criar uma biotransformação simples	Para criar uma biotransformação combinada
Clique em <b>Single biotransformation</b> .	Clique em <b>Combined biotransformation</b> .
Identifique a parte da estrutura que está sendo perdida no campo <b>Formula from</b> .	Selecione uma biotransformação em cada um dos campos <b>Biotransformation 1</b> e <b>Biotransformation 2</b> .
Digite a fórmula da biotransformação no campo <b>Formula to</b> .	—

---

**Nota:** as biotransformações disponíveis são as existentes no conjunto de trabalho.

---

9. Clique em **OK**.  
A biotransformação atualizada é exibida no conjunto de biotransformações de trabalho e no conjunto de biotransformações de origem.
10. Clique em **OK** para salvar as alterações.  
A caixa de diálogo Edit Biotransformation Set é fechada.
11. Clique em **OK**.  
A caixa de diálogo Biotransformations é fechada.

## Excluir um conjunto de biotransformações

1. No painel Workflow, clique em **Biotransformations**.  
É aberta a caixa de diálogo Biotransformations.
2. Selecione o **Set** apropriado na lista fornecida.
3. Clique em **Delete**.  
É exibida uma mensagem de confirmação.
4. Clique em **Yes**.
5. Clique em **OK**.  
A caixa de diálogo Biotransformations é fechada.

# Criar métodos de processamento 5

---

O software oferece suporte a quatro fluxos de trabalho: moléculas pequenas, peptídeos, oligonucleotídeos e ADC.

Um método que contenha parâmetros de processamento específicos ao arquivo da amostra que está sendo estudado precisa ser criado para encontrar metabólitos potenciais em uma amostra de interesse.

[Selecionar o tipo de método](#)



[Selecionar valores de parâmetro](#)



Definir [Parâmetros de processamento genéricos](#)



Definir [Parâmetros de processamento específicos do composto](#)

## Parâmetros de processamento

Os parâmetros de processamento do software Molecule Profiler contêm todos os atributos e valores que permitem o processamento de arquivos wiff. A função de processamento é usada para buscar e caracterizar metabólitos. Além disso, ela atribui pontuações de confiança aos metabólitos.

Estes modelos de parâmetro de processamento são usados:

- Molécula pequena
- Peptídeos
- Oligonucleotídeos
- ADC

Os modelos representam os tipos de fluxo de trabalho e composto que são considerados para os diferentes tipos de análise.

---

**Nota:** ao adicionar sequências de composto, certifique-se de que os nomes das sequências estejam formatados corretamente. Consulte as seções: [Convenções de nomenclatura de sequência de peptídeos](#) ou [Convenções de nomenclatura de sequência de oligonucleotídeos](#).

---

### Selecionar o tipo de método

1. No painel Workflow, clique em **Processing Parameters**.  
É aberto o espaço de trabalho de parâmetros de processamento.
2. Clique em **New** e selecione o tipo de método na lista fornecida.
3. Continue com a etapa 2 de [Selecionar valores de parâmetro](#).

### Selecionar valores de parâmetro

1. No painel Workflow, clique em **Processing Parameters**.  
É aberto o espaço de trabalho Processing Parameters.
2. Digite as informações do composto no espaço de trabalho Processing Parameters.
  - Para os fluxos de trabalho de moléculas pequenas e ADC, clique em **Open Structure** no grupo Structure, selecione o arquivo mol destinado e importe a estrutura.
  - Para os fluxos de trabalho de peptídeos e oligonucleotídeos, digite a sequência apropriada no grupo Sequence.

---

**Dica!** Como alternativa, clique em **Select From Library** para selecionar uma entrada da biblioteca de compostos para preencher a estrutura ou sequência. Somente entradas que correspondem ao fluxo de trabalho estão disponíveis na lista. Consulte a seção: [Selecionar um composto de uma biblioteca](#).

---

3. Certifique-se de que a **Polarity**, o **Charge state** e o **Adduct** ou o **Ion type** sejam apropriados para o conjunto de dados.  
Os oligonucleotídeos geralmente são obtidos no modo de polaridade negativa ou íon negativo. O intervalo de cargas recomendado para oligonucleotídeos com massas de 10.000 Da ou menos é de -2 a -20. O processamento de oligonucleotídeos com massas maiores que 10.000 Da não é recomendado.
4. Selecione as estratégias de busca de pico para usar na busca de metabólitos potenciais. Consulte a seção: [Sobre estratégias de busca de pico](#).
5. Configure os parâmetros que independem do composto que está sendo processado. Consulte a seção: [Parâmetros de processamento genéricos](#).
6. Configure os parâmetros que dependem do composto. Consulte a seção: [Parâmetros de processamento específicos do composto](#).
7. Clique em **Save and Close**.
8. Selecione o local de armazenamento do método no campo **Folder** da caixa de diálogo Save Processing Parameters As.
9. Digite um nome para o método no campo **Name** e clique em **OK**.  
O método é salvo e o espaço de trabalho Processing Parameters é fechado.

---

## Selecionar um composto de uma biblioteca

1. No painel Workflow, clique em **Processing Parameters**.  
É aberto o espaço de trabalho de parâmetros de processamento.
2. Clique em **Select From Library**.  
É aberta a caixa de diálogo Select From Library.
3. Selecione um composto da lista no campo **Compound name**.

---

**Nota:** para os parâmetros de processamento de moléculas pequenas e ADC, são exibidas na lista somente as entradas identificadas como estruturas na biblioteca de compostos. Para os parâmetros de processamento de peptídeos e oligonucleotídeos, são exibidas na lista somente as entradas identificadas como sequências na biblioteca de compostos.

---

4. Clique em **OK**.  
O espaço de trabalho de parâmetros de processamento é atualizado com as informações do composto selecionado.
5. Para examinar ou editar o espectro MS/MS de referência, clique em **Compound-Specific Parameters > Product Ions and Neutral Losses**.

---

**Nota:** o painel Reference MS/MS Spectrum é preenchido com o espectro MS/MS do composto selecionado.

---

6. (Opcional) Se estiverem disponíveis vários espectros de referência, percorra a lista e selecione um espectro diferente, se for apropriado.

---

**Nota:** quando um espectro de referência diferente é selecionado, o painel Reference MS/MS Spectrum é atualizado e as informações são removidas da tabela de íons produtos e perdas neutras.

---

7. Para configurar a tabela de fragmentos, clique em **Assign Fragments**.
8. Continue com a etapa 5 da seção: [Selecionar valores de parâmetro](#).

## Sobre estratégias de busca de pico

As estratégias de busca de pico se referem aos algoritmos que o software usa para localizar possíveis metabólitos na amostra de interesse. Os usuários podem selecionar algoritmos específicos no grupo Peak Finding Strategy para processar os dados.

Algoritmo	Descrição
TOF MS	

## Criar métodos de processamento

Algoritmo	Descrição
<b>Predicted metabolites</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>• <b>Small molecule:</b> com este algoritmo, o software procura metabólitos baseados no conjunto de biotransformações selecionado, nos metabólitos de clivagem previstos e na combinação de ambos.</li><li>• <b>Peptides:</b> com este algoritmo, o software procura metabólitos baseados no conjunto de biotransformações, nos catabólitos previstos e na combinação de ambos.</li><li>• <b>Oligonucleotides:</b> com este algoritmo, o software procura metabólitos baseados no conjunto de biotransformações, nos catabólitos previstos (incluindo clivagem hidrolítica, terminal n+1 e produtos n-1 internos) e na combinação de ambos.</li><li>• <b>ADC:</b> com este algoritmo, o software procura metabólitos baseados nas biotransformações, clivagens, fragmentos de anticorpos e na combinação dos três.</li></ul> <p>Consulte a seção: <a href="#">Parâmetros de processamento genéricos</a>. Para cada método, os <b>Available Adducts</b> selecionados na guia MS Parameters também são incluídos quando as combinações são usadas.</p> <hr/> <p><b>Nota:</b> a opção <b>Predicted metabolites</b> é recomendada para o processamento de dados de oligonucleotídeos.</p>
<b>Generic peak finding</b>	<p>Com esse algoritmo, o software procura metabólitos imprevistos. A busca pode ser refinada selecionando <b>Apply mass defect filter</b> ou <b>Apply charge state filter</b>.</p> <p>Os parâmetros que controlam este algoritmo estão localizados nas guias <b>Chromatographic Data</b> e <b>MS Parameters</b>. Consulte a seção: <a href="#">Parâmetros de processamento genéricos</a>.</p> <hr/> <p><b>Nota:</b> esta opção, em conjunto com a opção <b>Predicted metabolites</b>, é recomendada para o processamento de dados de oligonucleotídeos.</p>
<b>Apply mass defect filter</b>	<p>Este filtro restringe a pesquisa a picos que exibem os filtros selecionados na faixa de <b>Mass Defect</b> especificada em Compound-Specific Parameters. Quando este filtro é selecionado, apenas os metabólitos encontrados pela busca genérica de pico que atendem aos critérios especificados são incluídos nos resultados.</p>

Algoritmo	Descrição
<b>Apply charge state filter</b>	<p>Este filtro restringe a busca a picos com uma carga que esteja de acordo com a guia Charge state no grupo Compound Information. Quando este filtro é selecionado, apenas os metabólitos encontrados pela busca genérica de pico que atendem aos critérios especificados são incluídos nos resultados.</p> <hr/> <p><b>Nota:</b> esta opção não é recomendada para o processamento de dados de oligonucleotídeos.</p>
<b>Mass defect</b>	<p>Este algoritmo só se aplica a métodos de moléculas pequenas.</p> <p>Este algoritmo usa massa fracionada para filtrar os dados. O composto, as biotransformações selecionadas e os metabólitos de clivagem potenciais contribuem para os filtros disponíveis, que os usuários podem usar para procurar metabólitos específicos dentro de uma faixa de massas.</p> <p>Os parâmetros que controlam este algoritmo estão localizados na guia Mass Defect. Consulte a seção: <a href="#">Parâmetros de processamento específicos do composto</a>.</p>
<b>Isotope pattern</b>	<p>Este algoritmo procura metabólitos que tenham um padrão isotópico semelhante ao composto principal.</p> <hr/> <p><b>Dica!</b> Se o composto for radiomarcado, os usuários poderão definir o enriquecimento isotópico na caixa de diálogo Processing Parameters selecionando <b>Compound-Specific Parameters &gt; Isotope Pattern</b>.</p> <hr/> <p>Os parâmetros que controlam este algoritmo estão localizados na guia Isotope Pattern. Consulte a seção: <a href="#">Parâmetros de processamento específicos do composto</a>.</p>
<b>TOF MSMS</b>	<hr/> <p><b>Nota:</b> este algoritmo só funcionará se o método do parâmetro de processamento contiver um espectro MS/MS de referência. O espectro MS/MS de referência pode ser da entrada na biblioteca de compostos ou pode ser adicionado manualmente na guia Product Ions and Neutral Losses. Consulte a seção: <a href="#">Parâmetros de processamento específicos do composto</a>.</p> <hr/>

## Criar métodos de processamento

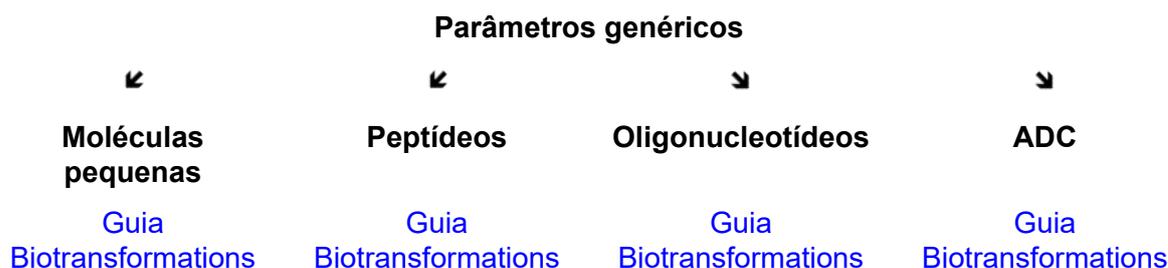
---

Algoritmo	Descrição
<b>Find characteristic product ions</b>	<p>O software usa este algoritmo para procurar nos dados IDA e nos dados de aquisição SWATH os metabólitos que tenham íons de produto característico para o composto principal.</p> <p>Com este algoritmo, os usuários podem procurar todos ou um número limitado de íons identificados.</p> <p>Os parâmetros que controlam este algoritmo estão localizados na guia Product Ions and Neutral Losses. Consulte a seção: <a href="#">Parâmetros de processamento específicos do composto</a>.</p>
<b>All specified ions</b>	<p>Quando esta opção é selecionada, todos os íons identificados são pesquisados. Por exemplo, se quatro íons de produto forem identificados e for feita uma pesquisa de picos que tenham todos esses íons, apenas as correspondências exatas serão identificadas como metabólitos potenciais.</p>
<b>At least __ ions</b>	<p>Quando esta opção é selecionada, apenas os íons selecionados na guia Product Ions and Neutral Losses são pesquisados. Por exemplo, se a busca for de picos com pelo menos dois íons, ao menos dois dos íons selecionados precisam estar presentes no espectro MS/MS do metabólito antes de um pico ser considerado um metabólito.</p>
<b>Find characteristic neutral losses</b>	<p>O software usa este algoritmo para procurar nos dados IDA e nos dados de aquisição SWATH os metabólitos que tenham perdas neutras para o composto principal. O algoritmo não se aplica a fluxos de trabalho de peptídeos e oligonucleotídeos.</p> <p>Com este algoritmo, os usuários podem procurar todas ou um número limitado de perdas. Por exemplo, se quatro perdas neutras forem identificadas e for feita uma pesquisa de picos que tenham todas essas perdas, apenas as correspondências exatas serão identificadas como metabólitos potenciais. Se a busca for de picos com pelo menos duas perdas, ao menos duas das perdas selecionadas precisam estar presentes no espectro MS/MS do metabólito antes de um pico ser considerado um metabólito.</p> <p>Os parâmetros que controlam este algoritmo estão localizados na guia Product Ions and Neutral Losses. Consulte a seção: <a href="#">Parâmetros de processamento específicos do composto</a>.</p>
<b>All specified losses</b>	<p>Quando esta opção é selecionada, todos os metabólitos são pesquisados e todas as perdas neutras são relatadas.</p>

Algoritmo	Descrição
<b>At least __ losses</b>	Quando esta opção é selecionada, apenas as perdas selecionadas na guia Product Ions and Neutral Losses são pesquisadas. Por exemplo, se quatro perdas neutras forem identificadas e for feita uma pesquisa de picos que tenham todas essas perdas, apenas as correspondências exatas serão identificadas como metabólitos potenciais. Se a busca for de picos com pelo menos duas perdas, ao menos duas das perdas selecionadas precisam estar presentes no espectro MS/MS do metabólito antes de um pico ser considerado um metabólito.
<b>Consider internal neutral losses</b>	Este algoritmo é específico aos dados de aquisição SWATH.  Esta estratégia só funcionará se pelo menos duas perdas neutras forem selecionadas. A perda neutra interna é o delta (diferença) entre as duas fórmulas de perdas neutras. Observe que uma fórmula de perda neutra precisa ser um subconjunto da outra fórmula de perda neutra para que "Find by Internal Neutral Loss" tenha efeito.
<b>Isotope pattern (SWATH Only)</b>	Este algoritmo é específico aos dados de aquisição SWATH.  Os precursores com um padrão isotópico de fragmento que corresponde ao padrão selecionado na tabela da guia Product Ions and Neutral Losses, em Compound-Specific Parameters, são sinalizados como metabólitos. O usuário precisa marcar uma ou mais caixas de seleção de fórmula de isótopo de fragmento na coluna <b>Isotope Pattern</b> . O padrão isotópico de fragmento experimental precisa corresponder ao padrão isotópico de fragmento teórico dentro da tolerância de MS/MS de <i>m/z</i> e da tolerância de intensidade especificada na guia MS/MS Parameters para o pico ser considerado um metabólito.

## Parâmetros de processamento genéricos

Os parâmetros genéricos são configurações que independem do composto que está sendo processado. Cada uma das seguintes guias gerencia parâmetros genéricos:



## Criar métodos de processamento

---

Guia Chromatographic Data	Guia Chromatographic Data	Guia Chromatographic Data	Guia Chromatographic Data
Guia MS Parameters	Guia MS Parameters	Guia MS Parameters	Guia MS Parameters
Guia MS/MS Parameters	Guia MS/MS Parameters	Guia MS/MS Parameters	Guia MS/MS Parameters
Guia Formula Prediction (métodos de moléculas pequenas e ADC)	Guia Confirmation Scoring	Guia Confirmation Scoring	Guia Formula Prediction (métodos de moléculas pequenas e ADC)
Guia Confirmation Scoring			Guia Confirmation Scoring

## Guia Biotransformations

Identifica o conjunto de biotransformações que contém as biotransformações esperadas. O software inclui conjuntos de biotransformações predefinidos. Para criar um conjunto de biotransformações personalizado, consulte a seção: [Criar um conjunto de biotransformações](#).

Parâmetro	Descrição
<b>Select Set</b>	<p>Seleciona um conjunto de biotransformações diferente do banco de dados a ser usado no processamento.</p> <p>Quando esta opção é selecionada, o software pode exibir o seguinte aviso: "The selected biotransformation set might no longer exist in the biostransformations database.", Isso ocorre porque o conjunto de biotransformações selecionado foi salvo no arquivo de parâmetros de processamento. As alterações subsequentes feitas no conjunto de biotransformações no espaço de trabalho Biotransformations não são salvas no arquivo de parâmetros de processamento.</p> <p>Para reprocessar usando o conjunto de biotransformações salvo, clique em <b>OK</b> e depois em <b>Cancel</b> na caixa de diálogo Biotransformations. Para atualizar o arquivo de parâmetros de processamento com um novo conjunto de biotransformações, faça o seguinte:</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Clique em <b>OK</b>.</li> <li>2. Selecione um conjunto de biotransformações. É exibida a mensagem: "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. Clique em <b>OK</b>.</li> </ol>

## Guia Chromatographic Data

Parâmetro	Descrição
<b>Chromatographic Peak</b>	

## Criar métodos de processamento

Parâmetro	Descrição
<b>Retention time window</b>	<p>Especifica o intervalo de tempos de retenção para busca de metabólitos potenciais. O tamanho da janela do tempo de retenção (TR) é diretamente proporcional ao tempo de processamento.</p> <p>Especifique um valor maior que 0,00 min. para excluir o volume morto da coluna.</p> <p>O valor <b>to</b> precisa ser maior que o valor <b>from</b>.</p> <p>Recomendamos que uma janela de tempo de retenção seja definida para todos os fluxos de trabalho, porque um amplo intervalo de tempo de retenção pode aumentar muito os tempos de processamento. Os intervalos são altamente dependentes do experimento que está sendo analisado. Examine a janela de tempo de retenção de cada experimento. Recomendamos que a hora de início seja ligeiramente superior a 0,00 min. e que a hora de término seja um pouco depois do pico de interesse ou quando o método entrar na fase de alta eluição ou lavagem do gradiente.</p>
<b>MS data</b>	<p>Especifica o método para definir a largura do XIC.</p> <ul style="list-style-type: none"><li>• <b>XIC width</b>: especifica a largura do cromatograma de íons extraídos a serem considerados no processamento.</li><li>• <b>Automatic</b>: o software calcula a melhor largura com base nos dados selecionados.</li></ul> <p>A definição <b>Automatic</b> é recomendada para fluxos de trabalho de oligonucleotídeos.</p> <hr/> <p><b>Nota:</b> se esta opção for selecionada quando os dados de aquisição SWATH estiverem sendo processados, será aplicada a opção <b>XIC width</b>.</p> <hr/>
<b>LC peak separation</b>	<p>Determina o grau de integração dos picos em eluição. Este parâmetro também lida com picos cromatográficos com resíduos significativos.</p> <p>Defina este parâmetro mais baixo se houver picos em eluição. A definição mais baixa permite que picos sejam considerados separadamente, não como um só pico.</p>
<b>TOF MS</b>	
<b>Minimum peak width</b>	<p>Exclui picos cromatográficos com largura abaixo deste valor.</p> <p>Defina o valor menor para incluir picos estreitos.</p>

Parâmetro	Descrição
<b>Minimum peak intensity</b>	<p>Desconsidera picos cromatográficos que estão abaixo de um determinado nível de intensidade TOF MS.</p> <p>Use quando houver dados cromatográficos ruidosos. Definindo um limite logo acima do nível de ruído, os picos que são provavelmente os resultados do ruído poderão ser rejeitados.</p> <p>Examine as larguras dos picos antes de processar dados no software Molecule Profiler ou no software de exibição, como o espaço de trabalho Explorer no SCIEX OS. Use uma média geral de todos os picos examinados para calcular a largura mínima de pico.</p> <p>Para os métodos de oligonucleotídeos que contêm experimentos TOF MS ou IDA, é recomendável uma definição de 50 cps.</p>
<b>Use smoothing</b>	<p>Separa picos de ruídos eliminando a variação na intensidade do ruído.</p> <p>Selecione quando houver dados cromatográficos ruidosos.</p> <p>Esta opção é recomendada para fluxos de trabalho de oligonucleotídeos.</p>
<b>Sample-control offset</b>	<p>Alinha a amostra MS e cromatogramas de controle. Durante o processamento, o software muda todos os controles antes de compará-los com a amostra.</p>
<b>Sample/control ratio</b>	<p>Especifica quantas vezes um pico da amostra precisa ser maior em comparação com o controle para ser considerado um metabólito.</p>
<b>TOF MS/MS</b>	
<b>Minimum peak intensity</b>	<p>Este parâmetro é usado apenas no processamento de dados de aquisição SWATH, com os algoritmos de descoberta de pico MS/MS. Este parâmetro não é usado no processamento de dados IDA.</p> <p>Desconsidera picos cromatográficos que estão abaixo de um determinado nível de intensidade TOF MS/MS.</p> <p>Use quando houver dados cromatográficos ruidosos. Definindo um limite logo acima do nível de ruído, os picos que são provavelmente os resultados do ruído poderão ser rejeitados.</p>
<b>Analog data</b>	
<b>Wavelength (UV only)</b>	<p>Seleciona o comprimento de onda a ser usada na confirmação de metabólitos potenciais.</p>

## Criar métodos de processamento

---

Parâmetro	Descrição
<b>Time offset from MS</b>	<p>Alinha os dados cromatográficos de análogos e MS. Durante o processamento, o software muda os dados de análogos antes de compará-los com os dados MS.</p> <hr/> <p><b>Nota:</b> os dados cromatográficos de análogos e MS também podem ser alinhados, após o processamento, no espaço de trabalho Analog Interpretation. Consulte a seção: <a href="#">Alterar o desvio do tempo de retenção</a>.</p> <hr/>
<b>LC peak separation</b>	<p>Determina o grau de integração dos picos em eluição. Este parâmetro também lida com picos cromatográficos com resíduos significativos.</p> <p>Defina este parâmetro mais baixo se houver picos em eluição. A definição mais baixa permite que picos sejam considerados separadamente, não como um só pico.</p>
<b>Minimum peak width</b>	<p>Exclui picos cromatográficos com largura abaixo deste valor.</p> <p>Defina o valor menor para incluir picos estreitos.</p>
<b>Minimum peak intensity</b>	<p>Desconsidera picos cromatográficos que estão abaixo de um determinado nível de intensidade.</p> <p>Use quando houver dados cromatográficos ruidosos. Definindo um limite logo acima do nível de ruído, os picos que são provavelmente os resultados do ruído poderão ser rejeitados.</p>
<b>Use smoothing</b>	<p>Separa picos de ruídos eliminando a variação na intensidade do ruído.</p> <p>Selecione quando houver dados cromatográficos ruidosos.</p>
<b>Sample-control offset</b>	<p>Alinha a amostra MS e cromatogramas de controle. Durante o processamento, o software muda todos os controles antes de compará-los com a amostra.</p>

## Guia MS Parameters

Parâmetro	Descrição
<b>m/z Tolerance</b>	

Parâmetro	Descrição
<b>MS m/z tolerance</b>	<p>Especifica um intervalo para determinar picos no espectro MS. Todas as massas dentro desse intervalo serão consideradas um pico único. Para um pico com uma fórmula experimental atribuída ser considerado um metabólito potencial, a precisão de massa do pico precisa estar dentro da tolerância especificada.</p> <p>Este parâmetro é altamente dependente do estado de calibração do instrumento. Para os instrumentos calibrados em <math>\pm 3</math> ppm, é recomendável um valor de 10 ppm para os métodos de oligonucleotídeos que contenham experimentos TOF MS ou IDA.</p>
<b>Minimum MS peak intensity</b>	<p>Especifica o limite espectral mínimo para a intensidade de pico MS. Desconsidera picos MS com intensidade abaixo do limite espectral especificado.</p> <p>Defina o valor com base no nível de ruído nos espectros.</p>
<b>Isotope Pattern Tolerances</b>	
<b>MS m/z tolerance</b>	<p>Especifica a tolerância aplicada ao padrão isotópico de metabólitos. Somente picos com valores de desvio de <math>m/z</math> do isótopo que estejam dentro dessa tolerância são considerados correspondentes.</p> <p>Para os métodos de oligonucleotídeos que contêm experimentos TOF MS ou IDA, é recomendado um valor de 10 mDa.</p>
<b>Intensity tolerance</b>	<p>Especifica a tolerância relativa para as intensidades isotópicas definidas na guia Isotope Pattern em Compound-Specific Parameters. As ser considerada uma correspondência, a proporção de intensidade de dois picos deve ser igual à proporção esperada dentro dessa tolerância.</p> <p>Para os métodos de oligonucleotídeos que contêm experimentos TOF MS, é recomendado um valor de 20%.</p>
<b>Minimum Score</b>	<p>(Métodos de oligonucleotídeos) Especifica a tolerância mínima de correspondência (em porcentagem) para o padrão isotópico observado de um metabólito, quando comparado com seu padrão isotópico esperado. Recomendamos que comece com o valor de 0% e aumente-o conforme necessário para remover identificações confirmadas de falsos positivos.</p>
<b>Limits</b>	

## Criar métodos de processamento

Parâmetro	Descrição
<b>Maximum number of unexpected metabolites</b>	<p>Selecione um número máximo de picos inesperados que possam ser identificados como metabólitos potenciais.</p> <p>Esta configuração afeta o número máximo de picos que podem ser identificados pela busca genérica de pico. A busca genérica de pico interage com a busca de pico de metabólitos previstos. Por exemplo, se um conjunto de biotransformações menor for selecionado para uma amostra complexa, o número máximo de metabólitos imprevistos será alto e, portanto, esta configuração precisará ser aumentada. Em geral, para as amostras de oligonucleotídeo do processo de impurezas, é recomendada a configuração de 100. Para as amostras mais complexas, esse número deve ser aumentado.</p>
<b>Mass range window (m/z)</b>	Limita o intervalo de massa para a busca de metabólitos potenciais.
<b>Generic LC/MS Peak Finding</b>	
<b>Perform background subtraction</b>	<p>Especifica se a subtração de fundo deve ser realizada. Selecione esta opção para remover os íons de fundo se o nível de fundo for alto no cromatograma LC/MS.</p> <p>Esta opção não é recomendada para os métodos de oligonucleotídeos que contêm experimentos TOF MS e TOF MS/MS.</p>
<b>Available Adducts</b> (métodos de moléculas pequenas)	
Uma lista de todos os adutos suportados, com base no intervalo de cargas definido no grupo Compound Information.	
<b>Use</b>	Indica se os adutos devem ser incluídos na busca.
<b>__ adduct(s) selected</b>	(Somente leitura) Indica o número de adutos selecionados na coluna <b>Use</b> da tabela Available Adducts.
<b>Advanced Ion Types</b> (métodos de ADC, peptídeos e oligonucleotídeos)	
<b>Use</b>	Indica se os íons devem ser incluídos na busca.
<b>__ adduct(s) selected</b>	(Somente leitura) Indica o número de íons selecionados na coluna <b>Use</b> da tabela Advanced Ion Types.

## Guia MS/MS Parameters

Parâmetro	Descrição
<b>MS/MS Finding</b>	

Parâmetro	Descrição
<b>MS/MS m/z tolerance</b>	<p>Especifica um intervalo para determinar picos no espectro MS/MS. A tolerância de <math>m/z</math> do MS/MS é a tolerância dentro da qual os picos de fragmentos encontrados no espectro MS/MS devem corresponder aos fragmentos selecionados ou aos valores de perdas neutras especificados na guia Product Ions and Neutral Losses em Compound-Specific Parameters, para que o pico do precursor correspondente possa ser considerado um metabólito potencial.</p> <p>Para os métodos de oligonucleotídeos que contêm experimentos TOF MS/MS ou IDA, é recomendado um valor de 10 mDa.</p>
<b>Minimum MS/MS peak intensity</b>	<p>Desconsidera picos MS/MS com intensidade abaixo do limite espectral especificado.</p> <p>Defina o valor com base no nível de ruído nos espectros.</p>
<b>MS/MS Isotope Finding</b>	
<b>MS/MS m/z tolerance</b>	<p>Especifica um intervalo para determinar picos no espectro MS/MS. Para os picos no espectro MS/MS serem considerados correspondentes, a diferença de massa entre dois picos isotópicos precisa ser igual à diferença esperada dentro desta tolerância.</p> <p>A tolerância de <math>m/z</math> do MS/MS é usada no processamento de dados de aquisição SWATH com a estratégia de busca de pico do padrão isotópico (somente SWATH).</p> <p>Para os métodos de oligonucleotídeos que contêm experimentos TOF MS/MS ou IDA, é recomendado um valor de 10 mDa.</p>
<b>Intensity tolerance</b>	<p>Especifica a tolerância relativa das intensidades isotópicas das fórmulas de fragmentos selecionadas, conforme definido na célula <b>IP</b> da guia Product Ions and Neutral Losses em Compound-Specific Parameters. As ser considerada uma correspondência, a proporção de intensidade de dois picos deve ser igual à proporção esperada dentro dessa tolerância. Este parâmetro também define o menor isótopo considerado parte do padrão. Por exemplo, se a tolerância de intensidade for 10%, o menor isótopo que poderá contribuir para o padrão de massa deverá ser 10% ou mais do pico definido de 100%.</p> <p>A <b>Intensity tolerance</b> é usada no processamento de dados de aquisição SWATH com a estratégia de busca de pico do padrão isotópico (somente SWATH) selecionada.</p> <p>Para os métodos de oligonucleotídeos que contêm experimentos TOF MS/MS ou IDA, é recomendado o valor de 20%.</p>
<b>Source of Reference MS/MS Spectrum</b>	

## Criar métodos de processamento

Parâmetro	Descrição
<b>Control</b>	Selecione um espectro de referência para o composto de interesse. O espectro pode ser selecionado de vários locais.
<b>Sample</b>	
<b>Selected reference spectrum</b>	
	Espectro de referência selecionado é selecionado por padrão.  Recomendamos que a opção <b>Selected reference spectrum</b> seja escolhida ao usar a função de geração automática de estrutura ou sequência.
<b>MS/MS Spectrum</b>	
<b>Use advanced MS/MS filter</b>	Este filtro é usado exclusivamente para os dados de aquisição SWATH. Os algoritmos usados por este filtro incluem o PCVG, que é usado para atribuir fragmentos de um espectro MS/MS a um precursor específico dos dados de aquisição SWATH. Somente os fragmentos que podem ser atribuídos com segurança ao precursor são exibidos no espectro MS/MS, dependendo da posição do controle deslizante ( <b>Comprehensive</b> ou <b>Confident</b> ).
<b>Similarity and Fragment Interpretation</b>	
<b>MS/MS m/z tolerance</b>	Selecione uma tolerância de precisão de massa para comparar o espectro MS/MS de referência com o espectro MS/MS do metabólito. Este parâmetro é também usado quando os fragmentos são atribuídos na tabela Interpretation. A precisão de massa dos fragmentos atribuídos precisa estar dentro da tolerância de <i>m/z</i> do MS/MS fornecida.  Para os métodos de oligonucleotídeos que contêm experimentos TOF MS/MS ou IDA, é recomendado o valor de 10 ppm.
<b>Minimum signal-to-noise ratio</b>	Selecione uma razão mínima entre sinal e ruído indesejado para comparar o espectro MS/MS de referência com o espectro MS/MS do metabólito. Este parâmetro é também usado quando os fragmentos são atribuídos na tabela Interpretation. A razão entre sinal e ruído dos fragmentos atribuídos precisa estar acima da mínima fornecida.
<b>Fragment Interpretation Options (métodos de moléculas pequenas e peptídeos)</b>	
<b>Number of fragment peaks selected for assignment</b>	(Métodos de moléculas pequenas) Especifica o número de fragmentos de MS/MS que serão selecionados para atribuição. Os picos são selecionados com base em suas intensidades (os picos mais intensos são selecionados primeiro).
<b>Break aromatic rings</b>	(Métodos de moléculas pequenas) Rompe as ligações que fazem parte de um anel aromático.
<b>Maximum number of bonds to break</b>	(Métodos de moléculas pequenas) Especifica o número máximo de ligações que serão rompidas ao atribuir fragmentos de MS/MS para interpretação.

Parâmetro	Descrição
<b>Maximum number of C-C bonds to break</b>	(Métodos de moléculas pequenas) Especifica o número máximo de ligações C-C que serão rompidas ao atribuir fragmentos de MS/MS para interpretação.
<b>Fragment Types</b>	(Métodos de peptídeos) Identifica o tipo de fragmento. É possível selecionar vários tipos.
<b>Maximum bonds to break</b>	(Métodos de peptídeos) Especifica o número máximo de ligações a serem rompidas.
<b>Break linkages</b>	(Métodos de peptídeos) Rompe ligações na sequência de peptídeos ou oligonucleotídeos.

### Guia Formula Prediction (métodos de moléculas pequenas e ADC)

Parâmetro	Descrição
<b>Search Constraints</b>	
<b>Elements from</b> <b>Elements to</b>	Especifica o elemento inicial que o software usará para propor fórmulas para metabólitos potenciais.
<b>Isotope Pattern Tolerances</b>	
<b>MS m/z tolerance</b>	Depois que o software identifica um padrão isotópico teórico previsto para uma fórmula proposta, este parâmetro limita a diferença de massa permitida entre isótopos quando comparado com o padrão isotópico do metabólito.
<b>Intensity tolerance</b>	Depois que o software identifica um padrão isotópico teórico previsto para uma fórmula proposta, este valor limita a diferença permitida na intensidade do pico isotópico quando comparado com o padrão isotópico do metabólito.
<b>Ranking</b>	
<b>Contribution</b>	Especifica se as fórmulas baseadas no espectro MS ou no espectro MS/MS devem ser fornecidas nos resultados.
<b>Automatically weight MS/MS</b>	Selecione para aplicar uma escala logarítmica à ponderação de MS/MS.
<b>Rings and Double Bonds</b>	
<b>RDB from</b> <b>RDB to</b>	Identifica um intervalo de anéis e ligações duplas nas fórmulas propostas de metabólitos potenciais.  Se o número de anéis e ligações duplas de uma fórmula proposta não estiver dentro do intervalo especificado, essa fórmula não será considerada para o metabólito.  O valor mínimo precisa ser menor que o valor máximo.

## Criar métodos de processamento

---

Parâmetro	Descrição
<b>Element Ratios</b>	
<b>Oxygen/ phosphorus count</b>	Especifica o intervalo de moléculas de oxigênio para fósforo que precisam estar presentes nas fórmulas propostas.  Este parâmetro se aplica às duas fórmulas, MS e MS/MS.
<b>Oxygen/sulphur count</b>	Especifica o intervalo de moléculas de oxigênio para enxofre que precisam estar presentes nas fórmulas propostas.  Este parâmetro se aplica às duas fórmulas, MS e MS/MS.

## Guia Confirmation Scoring

Quando um metabólito potencial é encontrado na amostra de interesse, o software atribui uma pontuação de confirmação que indica a probabilidade de o pico encontrado ser um metabólito. A pontuação independe dos algoritmos usados para encontrar metabólitos e está baseada em várias propriedades.

---

**Nota:** nos métodos de oligonucleotídeos, o valor 100 é recomendado para **Isotope pattern** e 0 para todos os outros parâmetros.

---

Parâmetro	Descrição
<b>Mass defect</b>	(Métodos de moléculas pequenas) Indica o quanto o defeito de massa do metabólito corresponde ao do composto principal, metabólitos de clivagem potenciais ou metabólitos de Fase II. <hr/> <b>Nota:</b> este atributo não é usado no cálculo da pontuação total de confirmação dos dados de ADC, de peptídeos e de oligonucleotídeos. <hr/>
<b>Isotope pattern</b>	(Métodos de moléculas pequenas e ADC) Indica se o metabólito tem um padrão isotópico semelhante ao composto principal. Esta propriedade tem uma pontuação de 0 a 100.  (Métodos de oligonucleotídeos) Indica se o metabólito tem um padrão isotópico semelhante ao esperado. Esse padrão é muito útil para filtrar falsos positivos. O valor recomendado é 100.

Parâmetro	Descrição
<b>MS/MS</b>	<p>Indica quanto o espectro MS/MS se aproxima do espectro de referência. Esta propriedade apenas se aplicará se houver um espectro de referência disponível.</p> <p>A pontuação de MS/MS tem dois componentes:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Qualidade: uma medida da capacidade de diferenciar picos espectrais de ruídos de fundo.</li> <li>• Semelhança: o software calcula quanto o espectro MS/MS se aproxima do espectro de referência, incluindo íons de produto que mudaram com base nas biotransformações conhecidas.</li> </ul> <hr/> <p><b>Nota:</b> se apenas dados TOF MS estiverem sendo processados, defina este parâmetro como 0.</p>
<b>Mass accuracy</b>	Indica quanto o valor de $m/z$ encontrado se aproxima do valor de $m/z$ esperado. Esta propriedade se aplica apenas a metabólitos previstos.
<b>Total confirmation score</b>	(Somente leitura) Total dos quatro valores de propriedade.

**Dica!** Digite 0 na tabela Scoring para ignorar uma propriedade específica na pontuação.

## Parâmetros de processamento específicos do composto

Os parâmetros de processamento específicos do composto são configurações que dependem do composto que está sendo processado. Cada uma das seguintes guias gerencia parâmetros específicos do composto:

### Parâmetros específicos do composto

↙	↙	↘	↘
Moléculas pequenas	Peptídeos	Oligonucleotídeos	ADC
<a href="#">Guia Cleavage Metabolites (métodos de moléculas pequenas e ADC)</a>	<a href="#">Guia Catabolites (métodos de peptídeos)</a>	<a href="#">Guia Catabolites (métodos de oligonucleotídeos)</a>	<a href="#">Guia Cleavage Metabolites (métodos de moléculas pequenas e ADC)</a>
<a href="#">Guia Mass Defect (métodos de moléculas pequenas)</a>	<a href="#">Guia Isotope Pattern</a>	<a href="#">Guia Isotope Pattern</a>	<a href="#">Guia Isotope Pattern</a>
<a href="#">Guia Isotope Pattern</a>	<a href="#">Guia Product Ions and Neutral Losses</a>	<a href="#">Guia Product Ions and Neutral Losses</a>	<a href="#">Guia Product Ions and Neutral Losses</a>

### Guia Cleavage Metabolites (métodos de moléculas pequenas e ADC)

Identifica os metabólitos de clivagem potenciais do composto principal. O método precisa conter uma estrutura para o software gerar uma lista de metabólitos de clivagem potenciais.

Parâmetro	Descrição
<b>Potential Compound Cleavages</b>	
<b>Maximum bonds to break</b>	Especifica o número máximo de ligações a serem rompidas.
<b>Break ring bonds</b>	Rompe ligações que fazem parte de um anel.
<b>Only break C-N bonds</b>	Rompe apenas ligações C-N.
<b>Cleavages selected</b>	Indica o número de clivagens selecionadas na tabela de clivagens de composto potenciais. Gerado automaticamente pelo software.

### Guia Catabolites (métodos de peptídeos)

Identifica as clivagens hidrolíticas potenciais do composto principal. O método precisa conter uma sequência de peptídeos para o software gerar uma lista de catabólitos hidrolíticos potenciais.

Parâmetro	Descrição
<b>Potential Hydrolytic Cleavages</b>	
<b>Max. peptide bonds to break</b>	Especifica o número máximo de ligações de peptídeos a serem rompidas.
<b>Max. cross-links to break</b>	Especifica o número máximo de ligações cruzadas a serem rompidas.
<b>Min. AA count</b>	Especifica o número mínimo de aminoácidos no catabólito.
<b>Catabolites selected</b>	(Somente leitura) Indica o número de catabólitos selecionados na tabela de clivagens hidrolíticas potenciais.

### Guia Catabolites (métodos de oligonucleotídeos)

Identifica as clivagens hidrolíticas potenciais do composto principal. O método precisa conter uma sequência de peptídeos para o software gerar uma lista de catabólitos hidrolíticos potenciais.

Parâmetro	Descrição
<b>Potential Hydrolytic Cleavages</b>	
<b>Max. bonds to break</b>	Especifica o número máximo de ligações que podem se romper ao longo da cadeia de oligonucleotídeos somente, incluindo a perda de H <sub>2</sub> PO <sub>3</sub> . Quanto às perdas de nucleobase e açúcar, consulte a seção: <a href="#">Guia Biotransformations</a> .
<b>Min. Nucleotides</b>	Especifica o número mínimo de nucleotídeos usados para gerar catabólitos e clivagens hidrolíticas potenciais.
<b>Include terminus n+1 sequences</b>	Especifica se deve procurar impurezas de terminal n+1
<b>Include internal n-1 sequences</b>	Especifica se deve procurar impurezas internas de n-1
<b>Catabolites selected</b>	(Somente leitura) Indica o número de catabólitos selecionados na tabela de clivagens hidrolíticas potenciais.

## Guia Mass Defect (métodos de moléculas pequenas)

Quando amostras biológicas complexas são analisadas, esses filtros podem ajudar a remover interferências de fundo.

Parâmetro	Descrição
<b>Mass Defect Filters</b>	
<b>Filters selected</b>	Indica o número de filtros de defeito de massa selecionados na tabela de filtros de defeito de massa. Gerado automaticamente pelo software.
<b>Filters</b>	
<b>Parent</b>	Marcado por padrão.
<b>Glucuronidation</b>	Marcado por padrão.
<b>Bis-Glucuronidation</b>	Marcado por padrão.
<b>Glutathione</b>	Marcado por padrão.
<b>Sulphate</b>	Marcado por padrão.

## Guia Isotope Pattern

Parâmetro	Descrição
<b>Isotope Pattern</b>	Mostra uma representação gráfica das informações contidas na tabela Isotopes.  (Métodos de oligonucleotídeos) Mostra uma representação gráfica da distribuição isotópica do oligonucleotídeo em um estado de carga especificado. Para alterar o estado de carga, selecione um <b>Ion type</b> diferente em Compound Information.
<b>Isotopic Enrichment</b>	Especifica o enriquecimento isotópico de um átomo que será usado na fórmula do composto principal.  <b>Nota:</b> para adicionar um elemento isótopo aos métodos de moléculas pequenas ou ADC, importe o arquivo mol que contém o isótopo.  <b>Nota:</b> para alterar o enriquecimento isotópico das fórmulas de peptídeos e oligonucleotídeos com átomos enriquecidos, consulte a seção: <a href="#">Editar o enriquecimento isotópico para fórmulas de peptídeos e oligonucleotídeos</a>
<b>Isotopes</b>	Mostra os isótopos mais intensos, com base na fórmula e enriquecimento isotópico, se aplicável, do composto principal.
<b>Isotope Pattern Intensity Cutoff for Metabolite XICs (%)</b>	(Métodos de oligonucleotídeos) Especifica o valor de corte, em intensidade percentual, que é aplicado durante o cálculo da área de pico para isótopos individuais que são considerados na extração XIC. Os isótopos com intensidades abaixo do corte são exibidos em vermelho na tabela.

## Guia Product Ions and Neutral Losses

Parâmetro	Descrição
<b>Reference MS/MS Spectrum</b>	Identifica um espectro a ser usado na seleção de íons produtos e perdas neutras para corresponder ao MS/MS de metabólitos potenciais. A melhor fonte é um arquivo de dados de uma amostra obtido sob condições semelhantes da amostra de interesse.  O espectro pode ser selecionado de um dos dois locais: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Arquivo wiff</li> <li>• Biblioteca de compostos</li> </ul>
<b>Filters</b>	

Parâmetro	Descrição
<b>m/z From ___ to ___</b>	Define o intervalo de massa considerado no preenchimento da tabela de íons produtos e perdas neutras. Somente os fragmentos que estão dentro do intervalo selecionado são exibidos na tabela de íons produtos e perdas neutras.
<b>Charge state From ___ to ___</b>	Define o intervalo de estados de carga considerado no preenchimento da tabela de íons produtos e perdas neutras. Somente os fragmentos com cargas que estão dentro do intervalo selecionado são exibidos na tabela de íons produtos e perdas neutras.
<b>Only show product ions above (%)</b>	Define o limite mínimo para os íons produtos serem incluídos na tabela de íons produtos e perdas neutras. Desconsidera íons produtos que estão abaixo de uma determinada intensidade.
<b>Mass accuracy within (mDa)</b>	Somente os fragmentos com precisões de massa que estão dentro do valor especificado são exibidos na tabela de íons produtos e perdas neutras.
<b>Add product ions, neutral losses from Phase II metabolites</b>	(Métodos de moléculas pequenas e ADC) Inclui íons produtos e perdas neutras de metabólitos da fase II na tabela de íons produtos e perdas neutras.

**Nota:** depois que todas as alterações necessárias forem feitas nos filtros, clique em **Assign Fragments** para atualizar a tabela de íons produtos e perdas neutras.

## Detalhes do anticorpo

**Nota:** estes parâmetros específicos do composto se aplicam apenas a métodos de ADC.

Parâmetro	Descrição
<b>Protein Sequence</b>	A sequência de proteínas do anticorpo.
<b>Enzyme</b>	Enzima a ser usada para digerir a proteína.
<b>Break disulfide bonds</b>	As ligações dissulfeto são quebradas quando esta caixa de seleção é marcada.
<b>Site of conjugation</b>	Aminoácido no anticorpo ao qual a molécula de medicamento pode ser conjugada.
<b>Type of conjugation</b>	A química envolvida na conjugação da molécula de medicamento ao anticorpo.
<b>Max. AA count</b>	O número máximo de aminoácidos a serem considerados como fragmentos potenciais após a digestão.

## Criar métodos de processamento

---

Parâmetro	Descrição
<b>Selected fragments</b>	Gerado automaticamente pelo software. Indica o número de fragmentos selecionados na tabela.

## Editar o enriquecimento isotópico para fórmulas de peptídeos e oligonucleotídeos

### Pré-requisito

É preciso criar um aminoácido personalizado, com ou sem uma modificação de aminoácido personalizada. Consulte as seções [Criar um aminoácido personalizado](#) e [Criar uma modificação do aminoácido personalizada](#). O aminoácido personalizado ou a modificação de aminoácido personalizada precisa conter pelo menos um isótopo enriquecido.

1. No painel Workflow, clique em **Processing Parameters**.  
É aberto o espaço de trabalho de parâmetros de processamento.
2. Clique em **New > Peptides** ou **New > Oligonucleotide**.

---

**Nota:** como alternativa, selecione uma entrada da biblioteca de compostos para preencher a sequência.

---

3. Digite o **Compound name** para o oligonucleotídeo ou aminoácido personalizado no campo fornecido.
4. Digite as informações da **Sequence** para o oligonucleotídeo ou aminoácido personalizado. A sequência precisa incluir pelo menos um isótopo enriquecido.
5. Clique no campo **Chemical formula**.

O campo **Chemical formula** e o valor de **m/z** são preenchidos com as informações relacionadas ao aminoácido personalizado.

---

**Dica!** Um ícone  é exibido acima da sequência. Passe o cursor sobre o ícone para ver o **Symbol** e a **Residue Formula** do aminoácido personalizado usado.

---

6. Clique no link **Compound-Specific Parameters > Isotope Pattern**.  
Na tabela Isotopic Enrichment, a fórmula do aminoácido personalizado é exibida na coluna **Element** e **100** é exibido na coluna **Enrichment %**.
7. Modifique o valor de **Enrichment %**, conforme necessário.
8. Clique em **Save and Close**.

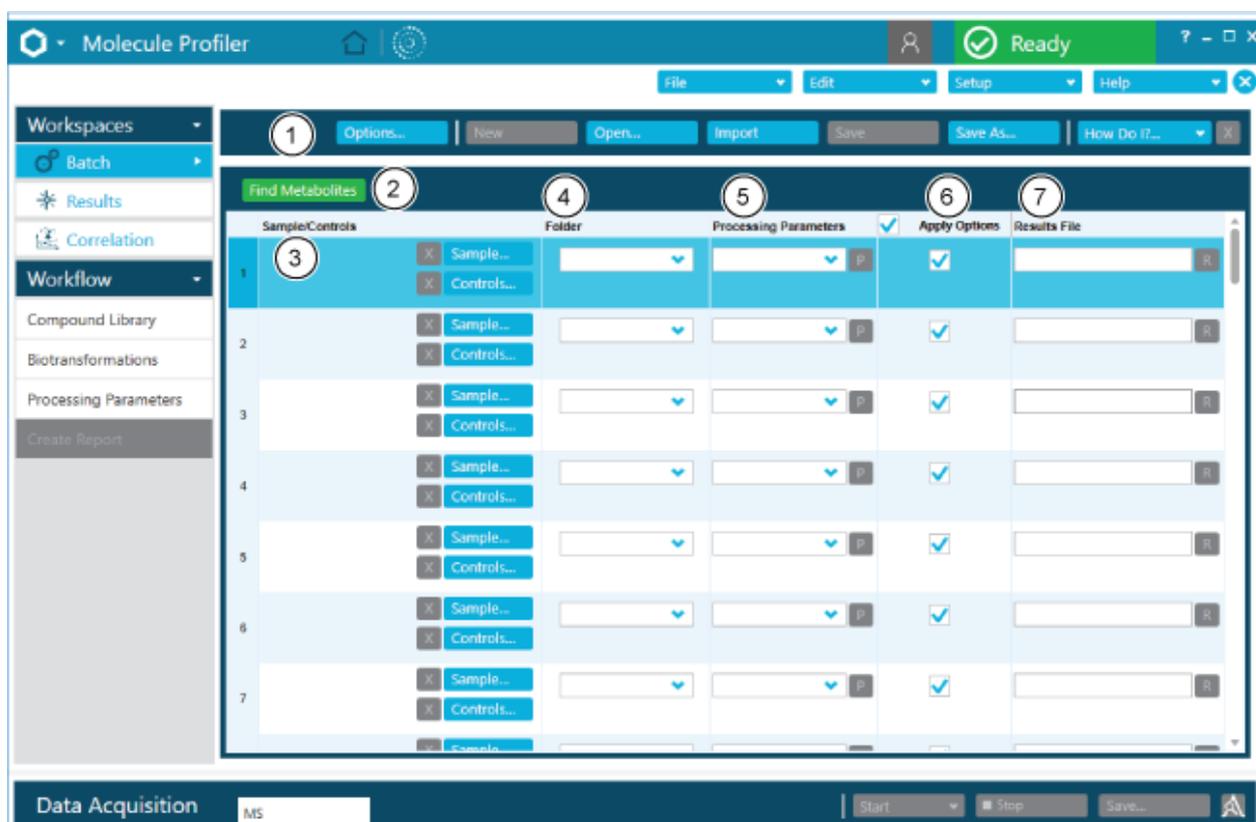
O espaço de trabalho Batch é usado para processar vários arquivos de amostra ao mesmo tempo. Preencha a tabela de lote manualmente ou importe um lote existente para preencher a tabela.

1. Para preparar manualmente um lote, continue na seção: [Criar um lote](#).
2. Para abrir um lote existente, continue na seção: [Abrir um lote](#).
3. Para importar um lote existente, continue na seção: [Importar um lote](#).

## Sobre o espaço de trabalho Batch

Use o espaço de trabalho Batch para criar lotes de amostras para processamento.

Figura 6-1: Espaço de trabalho Batch



## Procurar moléculas potenciais

---

Item	Descrição
1	<p>Barra de menus. Contém estes botões:</p> <ul style="list-style-type: none"><li>• <b>Options</b>: abre a caixa de diálogo Batch Processing Options para o usuário especificar as opções que sejam relevantes ao lote. Consulte a seção: <a href="#">Opções de processamento de lote</a>.</li><li>• <b>New</b>: clique para salvar o lote. Somente disponível depois que uma amostra é adicionada ao campo <b>Sample/Controls</b>.</li><li>• <b>Open</b>: abre a caixa de diálogo Open Processing Batch para o usuário selecionar um lote para abrir. Consulte a seção: <a href="#">Abrir um lote</a>.</li><li>• <b>Import</b>: abre a caixa de diálogo Batch Importer para o usuário selecionar um arquivo do Excel para importar. Consulte a seção: <a href="#">Importar um lote</a>.</li><li>• <b>Save</b>: salva o arquivo de lote aberto no momento. Substitui automaticamente a versão existente. Somente disponível depois que as informações do lote forem modificadas.</li><li>• <b>Save As</b>: salva o arquivo de lote aberto no momento. Os usuários podem atribuir um novo nome ao arquivo de lote.</li></ul>
2	Botão <b>Find Metabolites</b> . Inicia o processamento do lote.
3	Coluna <b>Sample/Controls</b> . O botão <b>Sample</b> abre a caixa de diálogo Select Data para o usuário selecionar a amostra desejada. O botão <b>Controls</b> abre a caixa de diálogo Select Data para o usuário selecionar a amostra de controle correspondente. Podem ser selecionados, no máximo, cinco controles por amostra.
4	Coluna <b>Folder</b> . Fornece uma lista de locais de pastas onde estão armazenados os parâmetros e resultados de processamentos.
5	Coluna <b>Processing Parameters</b> . Fornece uma lista de parâmetros de processamento que podem ser usados para processar a amostra desejada. Apenas os parâmetros de processamento armazenados na <b>Folder</b> selecionada estão disponíveis para seleção.

Item	Descrição
6	<p>Coluna <b>Apply Options</b>. Marcada por padrão. Quando marcada, se aplica a todas as opções Auto Assign e Report escolhidas na caixa de diálogo Batch Processing Options para as amostras e amostras de controle do lote. As opções incluem:</p> <ul style="list-style-type: none"><li>• Desmarque a caixa de seleção <b>Apply Options</b> para limpar todas as caixas de seleção marcadas.</li><li>• Limpar caixas de seleção de amostra específicas.</li><li>• Marcar caixas de seleção de amostra específicas.</li></ul> <p>Consulte a seção: <a href="#">Opções de processamento de lote</a>.</p> <hr/> <p><b>Nota:</b> as opções Auto Assign não se aplicam ao fluxo de trabalho de oligonucleotídeos.</p>
7	<p>Coluna <b>Results File</b>. Nome do arquivo Results especificado pelo usuário.</p>

## Especificar opções de lote

Consulte a seção: [Opções de processamento de lote](#).

1. No painel Workspace, clique em **Batch**.  
É aberto o espaço de trabalho Batch.
2. Clique em **Options**.  
É aberta a caixa de diálogo Batch Processing Options.
3. (Fluxos de trabalho de moléculas pequenas, peptídeos e ADC) Na guia Auto Assign:
  - Marque a caixa de seleção de cada opção aplicável.
  - Digite o valor apropriado para cada opção selecionada.
4. Na guia Report:
  - Marque a caixa de seleção de cada opção aplicável.
  - Digite o valor apropriado para cada opção selecionada.
5. Clique em **OK**.  
As opções de lote serão salvos com o lote.

## Opções de processamento de lote

Opção	Descrição
<b>Auto Assign</b>	
<p><b>Nota:</b> as opções de atribuição automática são independentes umas das outras. Elas são consideradas condições "ou". Uma ou mais das opções selecionadas precisam atender aos critérios especificados.</p>	
<p><b>Nota:</b> as opções de atribuição automática não se aplicam a amostras de oligonucleotídeos.</p>	
<b>Assign Structures or Sequences</b>	<p>Propõe estruturas ou sequências potenciais para metabólitos que atendem aos critérios da opção selecionada. Depende dos parâmetros de processamento e tipo de dados usados (ou seja, se é uma molécula pequena ou um peptídeo).</p> <p><b>Nota:</b> é possível selecionar várias opções.</p>
<b>Metabolites with peak areas above (%)</b>	Propõe estruturas ou sequências potenciais para metabólitos com a área de pico XIC acima do valor especificado.
<b>Metabolites with analog peak areas above (%)</b>	Propõe estruturas ou sequências potenciais para metabólitos com a área de pico de análogos acima do valor especificado.
<b>Metabolites with MS/MS quality above</b>	<p>Propõe estruturas ou sequências potenciais para metabólitos com uma qualidade MS/MS acima do valor especificado.</p> <p>Esta opção não se aplica a fluxos de trabalho de oligonucleotídeos.</p>
<b>Report</b>	
<p><b>Nota:</b> as opções de relatório dependem umas das outras. Elas são consideradas condições "e". Todas as opções selecionadas precisam atender aos critérios especificados.</p>	
<b>Report metabolites with assigned structures or sequences</b>	Mostra uma marca de seleção na coluna <b>Report</b> da tabela Potential Metabolites para qualquer metabólito que tenha uma estrutura ou sequência atribuída a ele.
<b>Report metabolites with peak areas above (%)</b>	Mostra uma marca de seleção na coluna <b>Report</b> da tabela Potential Metabolites para qualquer metabólito que tenha uma área de pico acima do valor especificado.
<b>Report metabolites with analog peak areas above (%)</b>	Mostra uma marca de seleção na coluna <b>Report</b> da tabela Potential Metabolites para qualquer metabólito que tenha uma área de pico de análogos acima do valor especificado.
<b>Report metabolites with scores above (%)</b>	Mostra uma marca de seleção na coluna <b>Report</b> da tabela Potential Metabolites para qualquer metabólito que tenha uma pontuação acima do valor especificado.

---

## Criar um lote

---

**Nota:** pode ser processada apenas uma amostra em cada linha. Podem ser selecionados, no máximo, cinco controles para cada amostra. No entanto, os controles não são obrigatórios no processamento.

---

1. No painel Workspace, clique em **Batch**.  
É aberto o espaço de trabalho Batch.

---

**Dica!** Selecione a opção **Open** para recuperar um arquivo de lote salvo anteriormente. Consulte a seção: [Abrir um lote](#).

---

2. Adicione uma amostra MS da seguinte maneira:
  - a. Na primeira linha disponível da tabela de lote, clique em **Sample**.  
É aberta a caixa de diálogo Select Data.
  - b. Clique em **Browse** e navegue até a pasta de origem apropriada.
  - c. Selecione o arquivo wiff e a injeção que contêm a amostra de interesse no campo **Available** e clique em **>>**.  
As informações da amostra são exibidas no campo **Selected**.
3. (Opcional) Adicione uma amostra de análogos da seguinte maneira:

---

**Dica!** Se os dados de análogos foram obtidos, marque a caixa de seleção **Use analog data** para adicionar dados de análogos automaticamente ao adicionar a amostra MS.

---

- a. Na primeira linha disponível da tabela de lote, clique em **Use analog data**.
  - b. Abra a guia Analog Sample.
  - c. Clique em **Browse** e navegue até a pasta de origem apropriada.
  - d. Selecione a amostra de análogos no campo **Available** e clique em **>>**.  
As informações da amostra são exibidas no campo **Selected**.
4. Clique em **OK**.  
O campo **Sample/Controls** da linha selecionada na tabela de lote é preenchido com as informações da amostra.
  5. (Opcional) Adicione um controle MS da seguinte maneira:
    - a. Na primeira linha disponível da tabela de lote, clique em **Control**.  
É aberta a caixa de diálogo Select Data.
    - b. Clique em **Browse** e navegue até a pasta de origem apropriada.
    - c. Selecione o arquivo wiff e a injeção que contêm o controle no campo **Available** e clique em **>>**.  
As informações da amostra são exibidas no campo **Selected**.
    - d. Continue na etapa seguinte para adicionar um controle de análogos ou clique em **OK** para fechar essa caixa de diálogo.
  6. (Opcional) Adicione um controle de análogos da seguinte maneira:
-

## Procurar moléculas potenciais

---

- a. Na primeira linha disponível da tabela de lote, clique em **Use analog data**.
  - b. Abra a guia Analog Sample.
  - c. Clique em **Browse** e navegue até a pasta de origem apropriada.
  - d. Selecione a amostra de análogos no campo **Available** e clique em **>>**.  
As informações da amostra são exibidas no campo **Selected**.
  - e. Clique em **OK**.  
O campo **Sample/Controls** da linha selecionada na tabela de lote é preenchido com as informações da amostra.
7. Na coluna **Folder**, selecione a pasta na qual serão salvos os parâmetros de processamento e os arquivos Results.
  8. Na coluna **Processing Parameters**, selecione um arquivo de parâmetros de processamento.

---

**Dica!** Para ver o arquivo de parâmetros de processamento, clique em **P**. Altere os parâmetros conforme necessário e clique em **Save and Close** para salvá-los.

---

9. Na coluna **Results File**, digite o nome do arquivo no qual os resultados serão armazenados.
10. Repita as etapas de [2](#) a [9](#) para cada linha do lote.

---

**Nota:** o número máximo de linhas que podem ser processadas em um lote é 200.

---

**Dica!** Para facilitar a criação do lote, as linhas podem ser copiadas e coladas ou excluídas. Consulte as seções: [Copiar e colar uma linha do lote](#) ou [Limpar uma linha do lote](#).

---

## Copiar e colar uma linha do lote

Use as opções de copiar e colar para editar um lote.

1. Na tabela de lote, selecione a linha a ser copiada.
2. Clique com o botão direito e selecione **Copy Batch Row**.
3. Selecione a linha de destino das informações copiadas.
4. Clique com o botão direito e selecione **Paste Batch Row**.

---

**Nota:** as informações existentes na linha de destino são sobrescritas.

---

## Limpar uma linha do lote

As linhas de informações da amostra podem ser limpas na criação de um lote.

1. Na tabela de lote, selecione a linha a ser limpa.
2. Clique com o botão direito e selecione **Clear Batch Row**.  
Todos os dados são removidos da linha selecionada.

## Abrir um lote

1. No painel Workspace, clique em **Batch**.  
É aberto o espaço de trabalho Batch.
2. Clique em **Open**.  
É aberta a caixa de diálogo Open Processing Batch.
3. Selecione o arquivo de lote e clique em **OK**.
4. Escolha uma das seguintes opções:
  - Se o lote for completo, continue na seção: [Enviar um lote](#).
  - Se o lote for incompleto, continue na seção: [Criar um lote](#).

## Importar um lote

1. No painel Workspace, clique em **Batch**.
2. Clique em **Import**.  
É aberta a caixa de diálogo Batch Importer.
3. Clique em **Browse**.  
É aberta a caixa de diálogo Open excel file.
4. Navegue até o arquivo Excel apropriado e o selecione.

---

**Nota:** o arquivo Excel deve ser criado usando o modelo de exemplo (BatchImportTemplate.xlsx) que é fornecido com o software. Durante a instalação, o modelo é instalado no seguinte local: pasta C:\ProgramData\SCIEX\Molecule Profiler\Batch Import Templates.

---

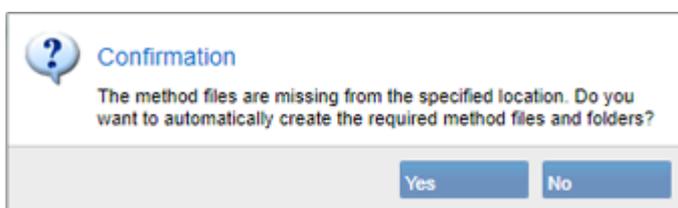
5. Clique em **Open**.  
O campo **Target batch file** é preenchido com o nome do arquivo Excel importado. Essa informação pode ser modificada, se necessário.
6. Escolha uma das seguintes opções:
  - Para converter o arquivo Excel selecionado para um lote do software Molecule Profiler e abrir o lote no espaço de trabalho Batch, clique em **Convert and Open** e continue na etapa 7.
  - Para converter o arquivo Excel selecionado para um lote do software Molecule Profiler que pode ser aberto no espaço de trabalho Batch posteriormente, clique em **Convert** e continue na etapa 7.
  - Para cancelar a importação, clique em **Close**.
7. Escolha uma das seguintes opções:
  - Se a opção **Convert and Open** foi selecionada e todos os parâmetros de processamento (arquivos de método) e pastas referenciadas no arquivo Excel estão armazenados nos locais corretos, continue na seção: [Enviar um lote](#).

## Procurar moléculas potenciais

---

- Se a opção **Convert** foi selecionada e todos os parâmetros de processamento (arquivos de método) e pastas referenciadas no arquivo Excel estão armazenados nos locais corretos, continue na seção: [Salvar um lote](#).
- Se a opção **Convert and Open** ou **Convert** foi selecionada e a caixa de diálogo de confirmação foi exibida, continue na etapa 8.

**Figura 6-2: Caixa de diálogo de confirmação**



8. Escolha uma das seguintes opções:
- (Fluxo de trabalho de moléculas pequenas) Para criar automaticamente os arquivos de método necessários, continue na etapa 9.

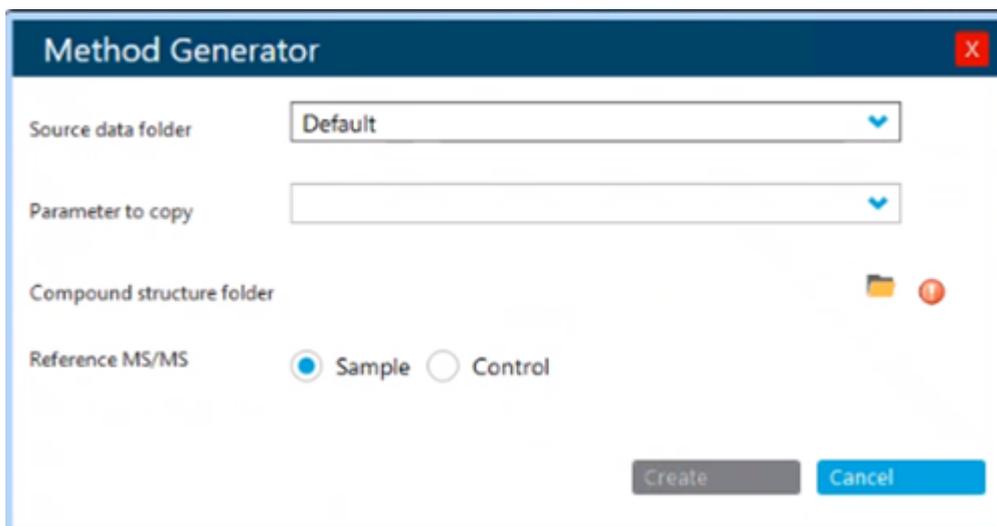
---

**Nota:** o Method Generator não pode ser usado com fluxos de trabalho de peptídeos, oligonucleotídeos ou ADC.

---

- Para criar manualmente os arquivos de método necessários, clique em **No** e cancele a importação. Continue na seção: [Criar métodos de processamento](#).
9. Clique em **Yes**.

**Figura 6-3: Caixa de diálogo Method Generator**



10. Selecione a pasta apropriada na lista **Source data folder**.
11. Selecione o arquivo de método apropriado na lista **Parameters to copy**.

12. Clique no ícone de pasta à direita do campo **Compound structure folder** e navegue até a pasta que contém as estruturas do precursor dos parâmetros de processamento e selecione-a.
13. Escolha uma das seguintes opções:
  - Clique em **Sample** se o arquivo wiff da amostra contiver o MS/MS de referência.
  - Clique em **Control** se o arquivo wiff de controle contiver o MS/MS de referência.
14. Clique em **Create**.  
Os parâmetros de processamento e as pastas faltantes são criados e armazenados no local especificado na planilha do Excel.
15. Escolha uma das seguintes opções:
  - Se a opção **Convert and Open** foi selecionada, continue na seção: [Enviar um lote](#).
  - Se a opção **Convert** foi selecionada, continue na seção: [Salvar um lote](#).

## Salvar um lote

As informações adicionadas à tabela no espaço de trabalho Batch podem ser salvas para uso posterior.

1. Para salvar um lote usando o mesmo nome de arquivo, clique em **Save**.
2. Para criar um lote usando outro nome, clique em **Save As**.  
É aberta a caixa de diálogo Save Processing Batch As.
3. Digite um **Name** exclusivo e clique em **OK**.

## Enviar um lote

Depois que o lote é preparado e as opções do lote são especificadas, o lote é enviado para o processamento de dados.

---

**Nota:** se necessário, os parâmetros de processamento podem ser modificados para uma amostra de interesse antes do envio do lote.

---

1. (Opcional) Para exibir os parâmetros de processamento de uma amostra:
  - a. Selecione a linha que contém a amostra de interesse e clique no **P** localizado à direita do campo **Processing Parameters**.  
Os parâmetros de processamento associados à amostra selecionada são exibidos.
  - b. Faça as modificações necessárias e clique em **Save and Close**.  
É exibido o espaço de trabalho Batch.
2. Clique em **Save As**.  
É aberta a caixa de diálogo Save Processing Batch As.
3. Digite um **Name** exclusivo e clique em **OK**.
4. Clique em **Find Metabolites**.

## Procurar moléculas potenciais

---

É iniciado o processamento do lote. Uma barra de progresso mostra o status do processamento. Durante o processamento, o **P** é desabilitado para impedir modificações nos parâmetros. Quando o processamento da linha for concluído, ficarão disponíveis o **P** localizado à direita do campo **Processing Parameters** e o **R** à direita do campo **Results File**.

5. Clique no **R** para abrir o arquivo Results no espaço de trabalho Results.

---

**Nota:** as opções Auto Assign e Report selecionadas na caixa de diálogo Batch Processing Options são executadas pelo software.

---

6. (Opcional) Conclua a etapa 1 para salvar os parâmetros de processamento atualizados.
7. Clique em **Save**.

---

**Dica!** Clique em **Save As** para salvar o lote com outro nome.

---

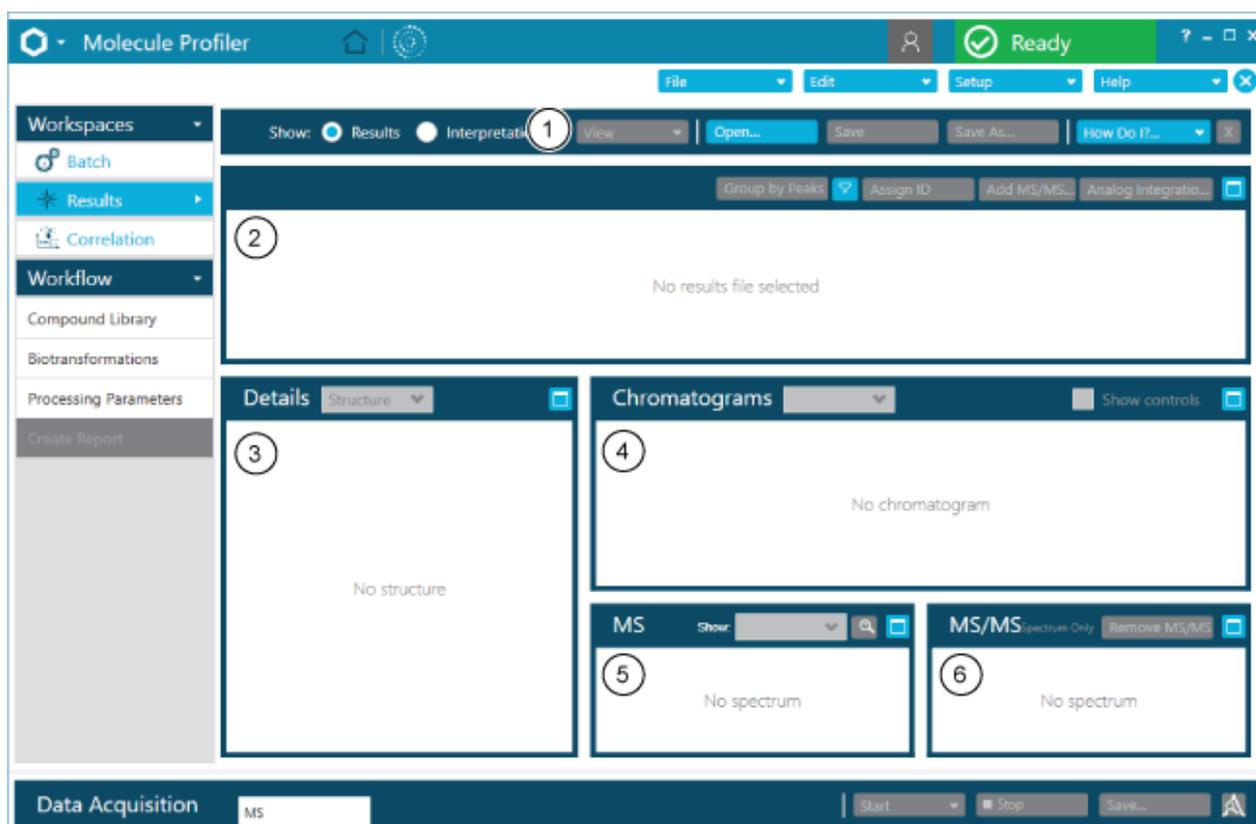
Use o espaço de trabalho Results para exibir os resultados da busca de metabólitos potenciais em uma amostra de interesse.

1. No painel Workspace, clique em **Results**.  
É aberto o espaço de trabalho Results.
2. Clique em **Open**.  
É aberta a caixa de diálogo Open Results.
3. Navegue até o arquivo apropriado e o selecione.
4. Clique em **OK**.  
É aberta a exibição Results.

## Sobre o espaço de trabalho Results

Depois que o software processa os dados, usa o espaço de trabalho Results para exibir a lista de metabólitos potenciais.

Figura 7-1: Espaço de trabalho Results



## Exibir resultados

---

Item	Descrição
1	<p>Barra de menus. Contém estes botões:</p> <ul style="list-style-type: none"><li>• <b>View</b><ul style="list-style-type: none"><li>• <b>Processing Parameters:</b> mostra os parâmetros de processamento dos resultados.</li><li>• <b>Batch Options:</b> mostra as opções de processamento de lote dos resultados.</li><li>• <b>Sample Details:</b> mostra informações detalhadas sobre a amostra.</li></ul></li><li>• <b>Open:</b> abre a caixa de diálogo Open Results para os usuários navegarem até o arquivo Results apropriado.</li><li>• <b>Save:</b> salva o arquivo Results aberto no momento. Substitui automaticamente a versão existente.</li><li>• <b>Save As:</b> salva o arquivo Results aberto no momento. Os usuários podem selecionar a pasta de destino e atribuir um novo nome ao arquivo Results.</li></ul>
2	<p>Painel Potential Metabolites. Lista todos os picos encontrados pelos algoritmos selecionados na amostra de interesse. Consulte a seção: <a href="#">Sobre estratégias de busca de pico</a>.</p> <p>Edite os resultados excluindo linhas que não contêm metabólitos potenciais, alterando o nome e a fórmula, adicionando espectros MS/MS e atribuindo IDs de pico. Consulte a seção: <a href="#">Editar resultados</a>.</p> <p>Para obter uma descrição das colunas da tabela Potential Metabolites, consulte a seção: <a href="#">Tabela 7-1</a>.</p> <hr/> <p><b>Nota:</b> os filtros predefinidos podem afetar os metabólitos potenciais mostrados na lista. Consulte a tabela: <a href="#">Sobre filtros de resultados</a>.</p> <hr/>

---

Item	Descrição
3	<p>Painel Details. Fornece informações sobre como o metabólito potencial foi pontuado. Para cada propriedade do método de processamento, a lista de <b>Scoring</b> mostra a pontuação do metabólito individual, assim como a pontuação total de todos os metabólitos. Consulte a seção: <a href="#">Guia Confirmation Scoring</a>. As pontuações são mostradas quanto a: <b>Mass Defect</b> (desativado para oligonucleotídeos), <b>Isotope Pattern</b>, <b>MS/MS</b>, <b>Mass Accuracy</b> e <b>Total confirmation score</b>.</p> <p>Para os resultados de moléculas pequenas, a lista <b>Structure</b> mostra a estrutura disponível.</p> <p>Para os resultados ADC, a lista <b>Structure</b> mostra a estrutura e a sequência disponíveis.</p> <p>Para os resultados de peptídeos, a lista <b>Sequence</b> mostra a sequência disponível.</p> <p>Para os resultados de oligonucleotídeos, a lista <b>Sequence</b> mostra a sequência de oligonucleotídeos do metabólito selecionado, determinada pela atribuição de MS/MS na exibição Interpretation. Se nenhuma atribuição tiver sido feita, esse campo estará em branco.</p>

## Exibir resultados

Item	Descrição
4	<p>Painel Chromatograms. Permite que o usuário mostre diferentes cromatogramas para o metabólito potencial encontrado:</p> <ul style="list-style-type: none"><li>• <b>Metabolites:</b> mostra a soma de todos os picos de metabólito encontrados no momento. Todos os grandes picos cromatográficos são mostrados com os respectivos RTs e IDs de pico. O pico do metabólito selecionado e quaisquer picos que eluem no mesmo tempo de retenção estão em amarelo.</li><li>• <b>XIC:</b> mostra um cromatograma de íons extraídos (XIC) para o metabólito selecionado. Os isótopos selecionados para a extração XIC são identificados na parte superior do gráfico.</li><li>• <b>Mass Defect:</b> mostra os cromatogramas de defeito de massa usados para identificar o metabólito selecionado. Isso é específico aos dados de moléculas pequenas somente.</li><li>• <b>Isotope Pattern:</b> mostra um cromatograma de todos os picos com padrões isotópicos que correspondem ao composto principal.</li><li>• <b>Product Ions:</b> mostra um cromatograma de todos os picos com íons de fragmento que correspondem aos fragmentos selecionados na guia Product Ion and Neutral Losses.</li><li>• <b>Neutral Losses:</b> mostra um cromatograma de todos os picos com perdas neutras que correspondem às perdas neutras selecionadas na guia Product Ion and Neutral Losses.</li><li>• <b>Isotope Pattern (dados de aquisição SWATH):</b> mostra um cromatograma de todos os picos com padrões isotópicos de fragmento que correspondem aos padrões isotópicos de fragmento selecionados na guia Product Ion and Neutral Losses.</li><li>• <b>Analog Data:</b> mostra um cromatograma de análogos de todos os picos. Uma identificação de pico indica IDs de pico correspondentes do pico de análogos e do respectivo pico de MS.</li></ul> <hr/> <p><b>Nota:</b> os cromatogramas de <b>Mass Defect</b>, <b>Isotope Pattern</b>, <b>Product Ions</b>, <b>Neutral Losses</b> e <b>Isotope Pattern</b> (dados de aquisição SWATH) só estarão disponíveis se esses algoritmos tiverem sido selecionados para o processamento. Além disso, se os dados de análogos forem processados, conforme definido no método de processamento, o cromatograma de <b>Analog Data</b> estará disponível na lista <b>Chromatograms</b>.</p> <hr/> <p><b>Nota:</b> nos fluxos de trabalho de oligonucleotídeos, somente as exibições <b>Metabolites</b>, <b>XIC</b> e <b>Analog Data</b> estarão disponíveis.</p>

Item	Descrição
	<p><b>Nota:</b> se a caixa de seleção <b>Show Controls</b> for marcada, os cromatogramas de <b>XIC</b> e <b>Analog Data</b>, se aplicáveis, mostrarão os traços de controle.</p>
5	<p>Painel MS. Mostra o espectro MS. As opções na lista <b>Show</b> selecionam os picos a serem destacados:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Default:</b> mostra uma parte da amostra de MS, centrada no valor de <math>m/z</math> do metabólito selecionado.</li> <li>• <b>Mass Defect:</b> destaca todos os valores de <math>m/z</math> que correspondem a qualquer filtro de defeito de massa selecionado no método de processamento. Isso é específico aos dados de moléculas pequenas somente.</li> <li>• <b>Isotope Pattern:</b> destaca todos os valores de <math>m/z</math> que tenham o mesmo padrão isotópico do composto principal.</li> </ul> <p>Nos fluxos de trabalho de oligonucleotídeos, os traços de <b>Predicted Isotope Pattern</b> e <b>Charge Series</b> são sobrepostos, por padrão. A exibição padrão mostra o espectro TOF MS centroide para os metabólitos selecionados. O pico monoisotópico é identificado com uma carga prevista, e uma seta azul indica sua posição. As setas vermelhas no eixo de <math>m/z</math> indicam isótopos individuais que foram selecionados para a extração XIC e determinação de área. Um envelope isotópico teórico sobrepõe picos centroides para fornecer uma avaliação da adequação dos dados observados. Para definir o espectro como total, clique duas vezes abaixo do eixo de <math>m/z</math>. Para ver o local previsto de estados de carga adicional do metabólito selecionado, aplique panorâmica e zoom clicando com o botão esquerdo do mouse e arrastando pelo eixo de <math>m/z</math>.</p>
6	<p>Painel MS/MS. Mostra um espectro MS/MS para o metabólito selecionado. A origem desses dados é uma destas:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Arquivo wiff IDA de amostra</li> <li>• Arquivo wiff de aquisição SWATH de amostra.</li> <li>• Arquivo wiff MS/MS dedicado que foi adicionado ao arquivo Results. Consulte a seção: <a href="#">Adicionar vários espectros usando o botão Add MS/MS</a>.</li> </ul> <p>Para os oligonucleotídeos, os picos de íon de produto comuns que foram correspondidos ao espectro MS/MS de referência selecionado nos parâmetros de processamento estão em amarelo. Os picos de íons de produto não correspondidos estão em azul.</p>

## Exibir resultados

---

**Tabela 7-1: Colunas da tabela Potential Metabolites**

Coluna	Descrição
<b>Report</b>	Quando marcada, inclui o metabólito no relatório final.
<b>Peak ID</b>	Mostra o ID de pico do metabólito. O ID está baseado no tempo de retenção e na massa do metabólito. Para todos os metabólitos principais, o <b>Peak ID</b> está em branco.  -# é atribuído a picos com a mesma massa e tempo de retenção, mas com uma carga diferente. Por exemplo: M1-1, M1-2, M1-3 e assim por diante.
<b>Name</b>	Mostra o nome do metabólito.  Nos resultados de ADC, os nomes são precedidos pela palavra <i>Parent</i> . <i>Parent</i> indica que o medicamento de moléculas pequenas (carga) e os componentes ligantes estão combinados.  Nos resultados de oligonucleotídeos, os nomes de componentes principais estão indicados pelas palavras <i>Parent</i> e <i>Ion charge</i> . Os produtos de biotransformação e clivagem identificados pela busca de picos previstos têm a notação própria 5' ou 3' (n-#). Os resultados da busca genérica de pico estão indicados pelo prefixo <i>Gain</i> ou <i>Loss</i> .
<b>Formula</b>	Mostra a fórmula neutra do metabólito.
<b>Assigned</b>	Quando marcada, indica que existem informações no espaço de trabalho Interpretation. Por exemplo, uma estrutura ou sequência pode estar presente ou a tabela Fragments pode estar preenchida.
<b>Neutral Mass</b>	Mostra a massa neutra do metabólito.
<b>m/z</b>	Mostra a razão massa monoisotópica/carga do metabólito.  Para os resultados de oligonucleotídeos, se a monoisotópica não foi observada, o software calculará sua posição e indicará o valor de <i>m/z</i> com um ( <i>n</i> ), em que <i>n</i> representa o número de picos de distância da monoisotópica em relação ao primeiro pico observado.
<b>Charge</b>	Mostra a carga do metabólito.

Tabela 7-1: Colunas da tabela Potential Metabolites (continuação)

Coluna	Descrição
<b>Peak Index</b>	<p>Reflete o isótopo da área de pico XIC mostrada para o metabólito.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Blank cell:</b> monoisotópico</li> <li>• <b>1:</b> o primeiro isótopo após o pico monoisotópico</li> <li>• <b>2:</b> o segundo isótopo após o pico monoisotópico e assim por diante</li> </ul> <p>Se a coluna não for incluída na tabela, a área de pico XIC será associada ao monoisotópico dos metabólitos. Para os metabólitos identificados pela estratégia de busca de metabólitos previstos, é mostrado um índice de pico de base hipotético estimado. Para os metabólitos identificados por outras estratégias de busca de pico, é mostrado o pico isotópico experimental. Geralmente, o pico isotópico experimental é o pico de base. No entanto, para os dados IDA, o pico isotópico experimental poderia ser o índice do íon precursor.</p>
<b>ppm</b>	Mostra a precisão de massa (em ppm) do metabólito.
<b>R.T. (min)</b>	Mostra o tempo de retenção do metabólito.
<b>Peak Area</b>	Mostra a área de pico XIC do isótopo cujo índice de pico é exibido na coluna <b>Peak Index</b> .
<b>% Area</b>	Mostra a % da área do XIC, com base no número total de metabólitos na tabela.
<b>% Score</b>	Mostra a % de pontuação do metabólito.
<b>Analog - Peak Area</b>	Mostra a área do pico de análogos. Disponível somente quando dados de análogos são processados.
<b>Analog - % Area</b>	Mostra a % da área do pico de análogos. Disponível somente quando dados de análogos são processados.
<b>Analog - R.T. (min)</b>	Mostra o tempo de retenção do pico de análogos. Disponível somente quando dados de análogos são processados.

## Mostrar somente espectro filtrado

**Nota:** este recurso não se aplica a fluxos de trabalho de oligonucleotídeos.

Se o parâmetro **Use advanced MS/MS filter** foi selecionado para processar um arquivo de dados de aquisição SWATH na guia MS/MS Parameters do grupo Generic Parameters no espaço de trabalho Processing Parameters, marque esta caixa de seleção para exibir somente um espectro MS/MS filtrado com o filtro avançado. Desmarque a caixa de seleção para exibir o espectro com subtração de fundo.

## Exibir resultados

**Nota:** se o parâmetro **Use advanced MS/MS filter** foi selecionado mas somente o espectro com subtração de fundo é exibido no espectro MS/MS, isso pode ser resultado de:

- Espectro filtrado vazio.
- A ineficácia do filtro avançado causada pela interferência de um pico em coelusão com 10 vezes ou mais de intensidade.
- A ineficácia do filtro avançado causada por menos de cinco pontos de dados em todo o pico do precursor.

## Sobre filtros de resultados

Os filtros podem ser aplicados para refinar os resultados mostrados na tabela Potential Metabolites.

**Dica!** Clique no ícone de filtro  para abrir a caixa de diálogo Results Filters.

Tabela 7-2: Filtros

Selecione este filtro	Para mostrar
<b>Metabolites</b>	
<b>Top __ metabolites by peak area</b>	Apenas o número especificado de picos mais abundantes com base na % da área de pico.
<b>Reported metabolites</b>	Apenas os metabólitos selecionados na coluna <b>Report</b> .
<b>Metabolites by adduct</b>	Apenas os metabólitos encontrados por um aduto primário. Um aduto primário é definido como aquele que é a primeira seleção visível na tabela <b>Advanced Ion Types</b> da guia <b>Generic Parameters &gt; MS Parameters</b> . As opções incluem: <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>	Apenas os metabólitos que têm estruturas atribuídas (moléculas pequenas) ou sequências atribuídas (peptídeos e oligonucleotídeos), indicados por uma marca de seleção na coluna <b>Assigned</b> da tabela Potential Metabolites.
<b>Retention Time Window</b>	
<b>Retention time from __ to __</b>	Apenas picos dentro do intervalo especificado.
<b>Peak Area</b>	
<b>Peak area from __ % to __ %</b>	Apenas picos com uma % de área que esteja dentro do intervalo de porcentagem especificado.

Tabela 7-2: Filtros (continuação)

Selecione este filtro	Para mostrar
<b>Analog peak area from</b> __ % to __ %	Apenas picos com uma % de área de análogos que esteja dentro do intervalo de porcentagem especificado. Se nenhum arquivo de análogo for fornecido para o processamento, este filtro não terá efeito.
<b>Charge</b>	
<b>Charge from</b> __ to __	Apenas os metabólitos com um valor de carga que esteja dentro do intervalo especificado.
<b>Score</b>	
<b>Overall score above</b> __ %	Apenas picos com uma pontuação geral que esteja acima do valor especificado. Consulte a seção: <a href="#">Guia Confirmation Scoring</a> .  Para os fluxos de trabalho de oligonucleotídeos, recomendamos que o envelope de isótopo seja usado como o único parâmetro na confirmação da pontuação. Também recomendamos que o usuário defina a <b>Overall Score</b> acima de 20% para remover metabólitos com baixas pontuações de sobreposição de isótopo teórico.
<b>Mass Accuracy</b>	
<b>Accuracy within</b> __ ppm	Apenas picos com precisão de massa que esteja dentro do intervalo especificado.
<b>Mass Range</b>	
<b>m/z from</b> __ to __	Apenas valores de <i>m/z</i> que estejam dentro do intervalo especificado.
<b>Product Ions and Neutral Losses</b>	
<b>MS/MS similarity above</b> __	Apenas picos com uma pontuação de semelhança MS/MS que esteja acima do valor especificado. Se não foi fornecido um espectro de referência, este filtro não tem efeito.
<b>Minimum number of common product ions</b> __	Apenas picos que tenham pelo menos o número especificado de íons de produto em comum com o composto principal. Se não foi fornecido um espectro de referência, este filtro não tem efeito.
<b>Minimum number of common neutral losses</b> __	Apenas picos que tenham pelo menos o número especificado de perdas neutras em comum com o composto principal. Se não foi fornecido um espectro de referência, este filtro não tem efeito.

## Exibir resultados

---

**Nota:** a exclusão e a adição de linhas à tabela vão atualizar automaticamente a **% Area** e a **% Analog Area** de cada metabólito, afetando o modo como os filtros de área de pico, área de pico de análogos e principais metabólitos por área de pico são aplicados às linhas restantes.

---

## Editar resultados

As entradas na tabela Potential Metabolites podem ser editadas ou excluídas para refinar mais os resultados.

Os usuários podem:

- [Excluir linhas](#)
- [Editar o nome e a fórmula de um metabólito potencial](#)
- [Atribuir IDs de pico](#)

## Excluir linhas

1. No painel Workspace, clique em **Results**.  
É aberto o espaço de trabalho Results.
2. Clique em **Open**.  
É aberta a caixa de diálogo Open Results.
3. Navegue até o arquivo apropriado e o selecione.
4. Clique em **OK**.  
É aberta a exibição Results.
5. Selecione uma linha na tabela Potential Metabolites.

---

**Dica!** Clique e pressione **Ctrl** ou **Shift** para selecionar várias linhas.

---

6. Clique em **Edit > Delete Selected Rows**.

---

**Dica!** Para reverter a exclusão mais recente, clique em **Edit > Undo Delete**

---

7. Clique em **Save**.

## Editar o nome e a fórmula de um metabólito potencial

Consulte a seção: [Como os metabólitos são nomeados pelo software](#).

1. No painel Workspace, clique em **Results**.  
É aberto o espaço de trabalho Results.
2. Clique em **Open**.  
É aberta a caixa de diálogo Open Results.
3. Navegue até o arquivo apropriado e o selecione.
4. Clique em **OK**.  
É aberta a exibição Results.

5. Clique com o botão direito em uma linha na tabela Potential Metabolites e selecione **Edit Name and Formula**.

É exibida a caixa de diálogo Edit Name and Formula.

6. Realize uma das seguintes ações para alterar o **Name**:

- Se aplicável, selecione um nome na lista de opções fornecida.
- Digite um nome diferente.

7. Se aplicável, selecione um aduto na lista de opções fornecida.

---

**Nota:** se o aduto for alterado, a **Mass accuracy** do metabólito será automaticamente atualizada.

---

8. Realize uma das seguintes ações para alterar o **Formula**:

- Se as informações disponíveis forem insuficientes para determinar uma fórmula, selecione **Unknown**.
- Para adicionar manualmente uma fórmula ao metabólito potencial, selecione **Use** e digite uma fórmula no campo fornecido.
- Se as fórmulas potenciais foram previstas pelo software, selecione **Automatic** e uma entrada na lista.

---

**Nota:** se as fórmulas potenciais não foram previstas pelo software, **Automatic** não fica disponível para seleção.

---

---

**Nota:** os valores nos campos **Mass accuracy** e **RDB** são automaticamente atualizados pelo software quando a nova fórmula é adicionada.

---

9. Para identificar o metabólito da linha selecionada como o composto principal, clique em **Assign as Parent**.

10. Clique em **OK**.

11. Clique em **Save**.

---

**Nota:** para os peptídeos, a ordem dos nomes é baseada na precisão de massa do nome proposto e no número de manipulações necessárias, por exemplo, número de ligações rompidas. Ou seja, o nome proposto para o peptídeo com uma precisão de massa mais alta e menos manipulações é exibido no topo da lista.

---

## Agrupar por picos

Use o botão **Group by Peaks** para agrupar picos que tenham a mesma massa neutra, por exemplo, os vários estados de carga de uma molécula, para exibir uma tabela resumida das moléculas identificadas com **Peak Area**, **%Area** e assim por diante, totalizadas para todos os estados de carga identificados. Os picos são agrupados com base na massa neutra e tolerância de tempo de retenção.

---

**Nota:** a função de agrupamento se aplica apenas ao fluxo de trabalho de oligonucleotídeos.

---

### Atribuir IDs de pico

1. No painel Workspace, clique em **Results**.  
É aberto o espaço de trabalho Results.
2. Clique em **Open**.  
É aberta a caixa de diálogo Open Results.
3. Navegue até o arquivo apropriado e o selecione.
4. Clique em **OK**.  
É aberta a exibição Results.
5. Examine os atuais **IDs de pico** na tabela Potential Metabolites.
6. Faça as alterações desejadas na tabela, inclusive excluir linhas e renomear metabólitos.
7. Clique em **Assign ID**.

As linhas relacionadas à mesma fórmula neutra e tempo de retenção são agrupadas. Uma linha é atribuída ao ID de pico principal e as linhas restantes do grupo são atribuídas a um ID sequencial, um nível abaixo do ID de pico principal. Por exemplo, se o ID de pico principal atribuído é M2, cada linha restante é atribuída a um ID sequencial começando com M2: M2-1, M2-2 e assim por diante.

Os IDs de pico não principal são atribuídos aos picos com adutos não principais. Os adutos não principais são aqueles que foram selecionados na tabela Advanced Ion Types, mas não são exibidos na lista de tipos de íon. Somente os IDs de pico principal são exibidos na lista de tipos de íon.

### Espectros MS/MS

Os espectros MS/MS podem ser adicionados, removidos ou substituídos para qualquer metabólito. Um espectro MS/MS pode ser adicionado manualmente, copiando um único espectro MS/MS centroeide no espaço de trabalho Explorer e colando-o no espaço de trabalho Results, ou automaticamente, com o botão **Add MS/MS** no espaço de trabalho Results.

### Adicionar espectros usando o recurso de colagem

---

**Nota:** este é um recurso beta.

---

**Nota:** este recurso está disponível apenas no fluxo de trabalho de oligonucleotídeos, para os dados TOF-MS/MS e IDA. Atualmente não há suporte ao recurso de colar espectros MS/MS do IDA Explorer. Os arquivos de dados precisam ser abertos como um centroeide e TIC padrão no espaço de trabalho Explorer antes de serem colados no Molecule Profiler.

---

**Nota:** o espectro MS/MS existente no arquivo Results não é substituído até que o arquivo Results seja salvo. Para reverter o espectro original para o metabólito selecionado, conforme armazenado no arquivo Results, clique em **Remove MS/MS** antes de salvar o arquivo Results.

---

1. No painel Workspace, clique em **Results**.
-

- É aberto o espaço de trabalho Results.
2. Clique em **Open**.  
É aberta a caixa de diálogo Open Results.
3. Navegue até o arquivo apropriado, selecione-o e clique em **OK**.  
É aberta a exibição Results.
4. Selecione uma linha na tabela Potential Metabolites.
5. Na página inicial do SCIEX OS, abra o espaço de trabalho Explorer.
6. Selecione **File > Open Sample**.  
É aberta a caixa de diálogo Select Sample.
7. Navegue até o arquivo de dados que contém a amostra, clique em **+** para expandi-lo, selecione a amostra a ser aberta e clique em **OK**.  
O arquivo de dados deve ser um arquivo wiff ou wiff2 que contém dados TOF-MS/MS ou IDA.
8. Se o arquivo de dados contiver dados IDA, selecione **As a standard TIC** na caixa de diálogo Open IDA Sample e clique em **OK**.
9. Abra um espectro MS e MS/MS.

---

**Dica!** Para abrir o espectro, defina uma janela de seleção ou clique duas vezes em um tempo de retenção no painel TIC.

---

10. Clique com o botão direito no cabeçalho do espectro MS/MS e selecione **Remove All Traces Except Active**.
11. Selecione **Process > Centroid Spectrum**.  
A caixa de diálogo Centroid é aberta.
12. Selecione se vai calcular o centroide em **Intensity, Height, Area** ou **Intensity sum above 50%**.
13. Selecione **Edit > Copy**.
14. Vá para o espaço de trabalho Molecule Profiler.
15. Clique em **Paste MS/MS**.  
O espectro MS/MS é adicionado.
16. Clique em **Save**.

### Adicionar vários espectros usando o botão Add MS/MS

---

**Nota:** o espectro MS/MS existente no arquivo Results não é substituído até que o arquivo Results seja salvo. Para reverter o espectro original para o metabólito selecionado, conforme armazenado no arquivo Results, clique em **Remove MS/MS** antes de salvar o arquivo Results.

---

1. No painel Workspace, clique em **Results**.  
É aberto o espaço de trabalho Results.
2. Clique em **Open**.

## Exibir resultados

---

- É aberta a caixa de diálogo Open Results.
3. Navegue até o arquivo apropriado, selecione-o e clique em **OK**.  
É aberta a exibição Results.
  4. Selecione uma linha na tabela Potential Metabolites.
  5. Clique em **Add MS/MS**.  
É aberta a caixa de diálogo Add MS/MS.
  6. Clique em **Select MS/MS**.  
É aberta a caixa de diálogo Select Data.
  7. Navegue até a pasta **Source** apropriada e a selecione.
  8. Clique em **OK**.
  9. No painel Available da caixa de diálogo Select Data, selecione o arquivo wiff e a injeção que contêm um espectro MS/MS e clique no ícone (  ) para mover o arquivo para o painel Selected.

---

**Dica!** É possível selecionar até 10 injeções.

---

10. Quando todos os arquivos necessários forem exibidos na caixa de diálogo Add MS/MS, clique em **OK**.  
O software tenta encontrar um espectro correspondente a cada metabólito.
11. Examine a pontuação de cada metabólito.  
Se o espectro MS/MS tiver sido alterado, o software poderá recalcular a % **Score**.
12. Clique em **Save**.  
Para editar tipos de fragmento específicos em um único espectro MS/MS, consulte a seção: [Fluxos de trabalho de oligonucleotídeos](#).

## Remover espectros

1. No painel Workspace, clique em **Results**.  
É aberto o espaço de trabalho Results.
2. Clique em **Open**.  
É aberta a caixa de diálogo Open Results.
3. Navegue até o arquivo apropriado e o selecione.
4. Clique em **OK**.  
É aberta a exibição Results.
5. Selecione uma linha na tabela Potential Metabolites.
6. Clique em **Remove MS/MS** no painel MS/MS.

---

**Nota:** se existir um espectro IDA para o metabólito potencial, ele será exibido no painel MS/MS.

---

7. Clique em **Save**.

## Remover arquivos de espectros MS/MS

1. No painel Workspace, clique em **Results**.  
É aberto o espaço de trabalho Results.
2. Clique em **Open**.  
É aberta a caixa de diálogo Open Results.
3. Navegue até o arquivo apropriado e o selecione.
4. Clique em **OK**.  
É aberta a exibição Results.
5. Clique em **Add MS/MS**.
6. Selecione o arquivo wiff apropriado no campo **MS/MS Samples**.
7. Clique em **Remove**, depois clique em **OK**.  
Todos os espectros MS/MS dedicados no arquivo wiff são removidos dos resultados.
8. Clique em **Save**.

Depois de definir os picos em uma amostra de interesse, use a interpretação de fragmentos para ajudar a identificar a estrutura de cada metabólito potencial.

## Sobre a exibição Interpretation

A exibição Interpretation no espaço de trabalho Results mostra os dados e as ferramentas necessários para ajudar a esclarecer uma possível estrutura de cada metabólito em um arquivo Results.

### Exibições Interpretation



## Exibição Interpretation de moléculas pequenas

Figura 8-1: Exibição Interpretation de moléculas pequenas

Interpretation Desotope Prepare... Options... Generate Apply Remove Selected neutral formula: C32H40BrN5O5

TOF MS/MS of 654.2

Assigned: 29 of 30 peaks, score for 29 proposed assignments: 654.5

Use	Mass (m/z)	Ion Formula	Error (mDa)	Intensity (cps)	RDB	Proposed Structures	Sc
<input checked="" type="checkbox"/>	176.0652	C13H8N	0.1	207.3	11.6	0	
<input checked="" type="checkbox"/>	181.1342	C10H17N2O	0.7	804.1	4.0	1	
<input checked="" type="checkbox"/>	191.0730	C14H9N	0.0	338.0	11.5	0	
<input checked="" type="checkbox"/>	206.0690	C14H8NO	0.0	1141.1	12.0	0	
<input checked="" type="checkbox"/>	207.0690	C12H7N4	2.5	2740.1	12.0	0	

Structure Details for C1...  
2a Use Broken & Del

Contained Neutral Losses  
2b Use Mass Fi

Composition: C32H40BrN5O5, Mass: 653.2213

Parent Structure Structure Candidates

3 No additional proposed structures

Item	Componente da interface	Descrição
1	Painel MS/MS	Mostra o espectro MS/MS do metabólito selecionado. A imagem espelhada do espectro MS/MS de referência é também mostrada, se disponível. Os asteriscos identificam picos selecionados para atribuição. A origem desse espectro é o arquivo wiff IDA de amostra, o arquivo wiff de aquisição SWATH de amostra ou um arquivo wiff MS/MS dedicado que foi adicionado ao arquivo Results. Para obter uma descrição da funcionalidade dos botões, consulte a tabela: <a href="#">Tabela 8-1</a> .
2	Tabela Fragments	<p>Lista todos os fragmentos atribuídos ao metabólito selecionado, incluindo o respectivo valor de <math>m/z</math>, o número de estruturas propostas e a pontuação. Se podem ser atribuídas diferentes fórmulas a um valor de <math>m/z</math> específico, a tabela conterá uma linha para cada fórmula. Por padrão, a linha que contém a pontuação mais alta para cada combinação de fórmulas e valor de <math>m/z</math> apresenta a caixa de seleção <b>Use</b> marcada.</p> <hr/> <p><b>Dica!</b> As linhas que não apresentam a caixa de seleção <b>Use</b> marcada podem ser ocultadas. Para exibir todas as linhas, clique com o botão direito na tabela e clique em <b>Show Hidden Rows</b>.</p> <hr/> <p>Para obter uma descrição da funcionalidade dos ícones, consulte a tabela: <a href="#">Tabela 8-3</a>.</p>
2a	Tabela Structure Details	<p>Lista as partes da estrutura que poderiam produzir o fragmento selecionado, incluindo o número de ligações rompidas, o valor delta H e a pontuação. Selecione uma linha desta tabela para destacar a parte relacionada da estrutura.</p> <p>Por padrão, a estrutura de fragmentos com a pontuação mais alta apresenta a caixa de seleção <b>Use</b> marcada.</p>
2b	Tabela Contained Neutral Losses	Contém as perdas neutras das duas massas de fragmento

## Caracterizar dados MS/MS

Item	Componente da interface	Descrição
3	Painel Structure charts	Contém as seguintes duas guias: <ul style="list-style-type: none"><li>• A guia Parent Structure, que contém a estrutura principal do metabólito selecionado.</li><li>• A guia Structure Candidates é um histograma interativo que contém uma tabela com a lista completa de estruturas propostas, armazenadas em ordem descendente de pontuação. A seleção de uma linha dessa tabela altera a estrutura exibida no painel Structure (item 2). Para incluir uma estrutura específica nos resultados, clique na respectiva caixa de seleção <b>Apply to Results</b>. Consulte a seção: <a href="#">Sobre a guia Structure Candidates</a>.</li></ul>
4	Painel Structure	Permite que o usuário carregue uma estrutura candidata para metabólitos potenciais e fornece ferramentas básicas de desenho para editar a estrutura. Para obter uma descrição da funcionalidade dos botões, consulte a tabela: <a href="#">Tabela 8-2</a> .

**Tabela 8-1: Botões do painel MS/MS**

Botão	Descrição
<b>Deisotope</b>	Ocultar todos os isótopos no painel MS/MS. Clique novamente para mostrar os isótopos.
<b>Prepare</b>	Abre a caixa de diálogo Interpret Data na qual os usuários podem editar os detalhes necessários para interpretar o metabólito selecionado (fórmula, picos ativos, recalibração do espectro MS/MS).
<b>Options</b>	Abre a caixa de diálogo Options na qual os usuários podem atribuir fragmentos MS/MS. Consulte a tabela: <a href="#">Tabela 8-15</a> na seção: <a href="#">Definir opções</a> .
<b>Generate</b>	Preenche a guia Structure Candidate com candidatos potenciais gerados automaticamente para o metabólito selecionado. Consulte a seção: <a href="#">Sobre a guia Structure Candidates</a> .
<b>Apply</b>	Aplica as mudanças de interpretação ao pico selecionado.
<b>Remove</b>	Remove os fragmentos atribuídos e a estrutura de metabólitos do pico selecionado.

Tabela 8-2: Botões do painel Structure

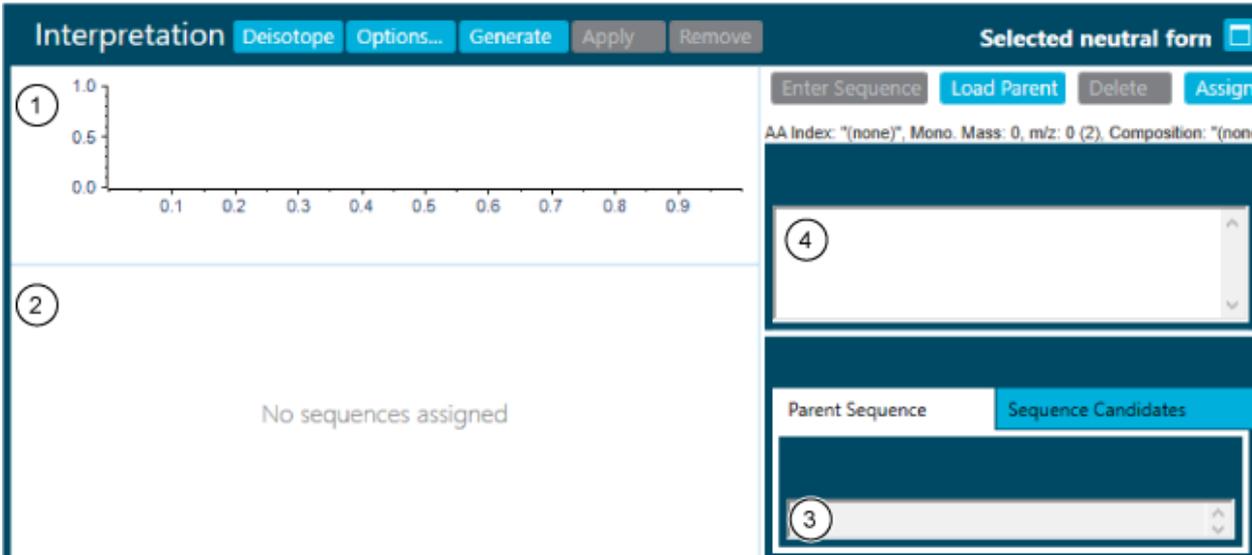
Botão	Descrição
Load	<ul style="list-style-type: none"> <li>Load Parent: abre a estrutura principal do metabólito selecionado.</li> <li>Load Structure: abre o arquivo da estrutura do pico selecionado.</li> </ul>
Delete	Remove a estrutura visível do painel Structure.
Save As	Permite que o usuário salve a estrutura visível com outro nome de arquivo.
Assign	Calcula os fragmentos e as perdas neutras da estrutura potencial e atribui os íons ao espectro MS/MS.

Tabela 8-3: Ícones da tabela Fragments

Ícone	Descrição
	Adiciona um rótulo do fragmento selecionado.
	Exclui todos os rótulos do espectro MS/MS.
	Abre a caixa de diálogo Interpretation Filters. Consulte a seção: <a href="#">Sobre os filtros de interpretação de moléculas pequenas.</a>

## Exibição de interpretação de peptídeos

Figura 8-2: Exibição de interpretação de peptídeos



## Caracterizar dados MS/MS

Item	Componente da interface	Descrição
1	Painel MS/MS	Mostra o espectro MS/MS do metabólito selecionado. A imagem espelhada do espectro MS/MS de referência é também mostrada, se disponível. A origem desse espectro é o arquivo wiff IDA de amostra, o arquivo wiff de aquisição SWATH de amostra ou um arquivo wiff MS/MS dedicado que foi adicionado ao arquivo Results. Para obter uma descrição da funcionalidade dos botões, consulte a tabela: <a href="#">Tabela 8-4</a> .
2	Painel Sequence	Permite que o usuário insira uma sequência. Para obter uma descrição da funcionalidade dos botões, consulte a tabela: <a href="#">Tabela 8-5</a> .
3	Tabela Fragments	Contém uma lista todas as fórmulas propostas para os metabólitos potenciais selecionados. A lista inclui os valores de <i>m/z</i> , sequências, tipos de íon de fragmento (por exemplo, y ou b), carga, erros e intensidades. Para obter uma descrição da funcionalidade dos ícones, consulte a tabela: <a href="#">Tabela 8-6</a> .
4	Painel Sequence charts	Contém as seguintes duas guias: <ul style="list-style-type: none"><li>• A guia Parent Sequence, que contém a sequência do fármaco principal.</li><li>• A guia Sequence Candidates é um histograma interativo que contém uma tabela exibindo uma lista de sequências que estão sendo propostas pelo software. Uma pontuação, baseada na porcentagem da área de pico atribuída, é atribuída a cada sequência proposta. Para aplicar uma sequência específica aos resultados, marque a caixa de seleção <b>Apply to Results</b> dessa sequência. A sequência aplicada é exibida como a sequência padrão depois que o arquivo Results é fechado e aberto novamente. Consulte a seção: <a href="#">Sobre a guia Sequence Candidates</a>.</li></ul>

**Tabela 8-4: Botões do painel MS/MS**

Botão	Descrição
Deisotope	Remove todos os isótopos do espectro MS/MS.
Options	Abre a caixa de diálogo Options. Consulte a tabela: <a href="#">Tabela 8-16</a> na seção: <a href="#">Definir opções</a> .

Tabela 8-4: Botões do painel MS/MS (continuação)

Botão	Descrição
<b>Generate</b>	Preenche a guia Structure Candidate com candidatos potenciais gerados automaticamente para o metabólito selecionado. Consulte a seção: <a href="#">Sobre a guia Structure Candidates</a> .
<b>Apply</b>	Aplica as mudanças de interpretação ao pico selecionado.
<b>Remove</b>	Remove os fragmentos atribuídos e a estrutura de metabólitos do pico selecionado.

Tabela 8-5: Botões do painel Sequence

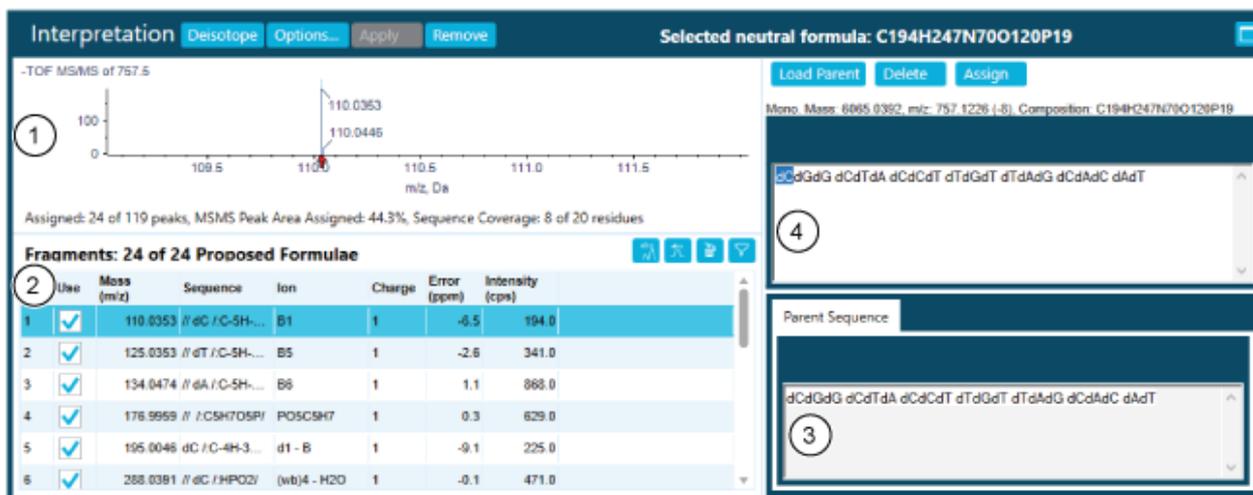
Botão	Descrição
<b>Enter Sequence</b>	Permite que o usuário digite uma nova sequência no painel Sequence. Consulte a seção: <a href="#">Convenções de nomenclatura de sequência de peptídeos</a> .
<b>Load Parent</b>	Abre a sequência principal do metabólito selecionado.
<b>Delete</b>	Remove a sequência visível do painel Sequence.
<b>Assign</b>	Calcula os fragmentos e as perdas neutras da estrutura potencial e atribui os íons ao espectro MS/MS.

Tabela 8-6: Ícones da tabela Fragments

Ícone	Descrição
	Adiciona rótulos de todos os picos.
	Adiciona um rótulo do fragmento selecionado.
	Exclui todos os rótulos do espectro MS/MS.
	Abre a caixa de diálogo Interpretation Filters. Consulte a seção: <a href="#">Sobre os filtros de interpretação para peptídeos</a> .

## Exibição de interpretação de oligonucleotídeos

Figura 8-3: Exibição de interpretação de oligonucleotídeo



Item	Componente da interface	Descrição
1	Painel MS/MS	Mostra o espectro MS/MS do metabólito selecionado. A imagem espelhada do espectro MS/MS de referência é também mostrada, se disponível. A origem desse espectro é o arquivo wiff IDA de amostra, o arquivo wiff de aquisição SWATH de amostra ou um arquivo wiff MS/MS dedicado que foi adicionado ao arquivo Results. Para obter uma descrição da funcionalidade dos botões, consulte a tabela: <a href="#">Tabela 8-7</a> .
2	Tabela Fragments	Contém uma lista todas as fórmulas propostas para os metabólitos potenciais selecionados. A lista inclui os valores de <i>m/z</i> , sequências, tipos de íon de fragmento (por exemplo, y ou b), carga, erros e intensidades. Para obter uma descrição da funcionalidade dos ícones, consulte a tabela: <a href="#">Tabela 8-6</a> .
3	Painel Sequence charts	Contém a sequência do medicamento principal.
4	Painel Sequence	Permite que o usuário insira uma sequência. Para obter uma descrição da funcionalidade dos botões, consulte a tabela: <a href="#">Tabela 8-5</a> .

Tabela 8-7: Botões do painel MS/MS

Botão	Descrição
Deisotope	Remove todos os isótopos do espectro MS/MS.
Options	Abre a caixa de diálogo Options. Consulte a tabela: <a href="#">Tabela 8-18</a> na seção: <a href="#">Definir opções</a> .
Apply	Aplica as mudanças de interpretação ao pico selecionado.
Remove	Remove os fragmentos atribuídos e a estrutura de metabólitos do pico selecionado.

Tabela 8-8: Botões do painel Sequence

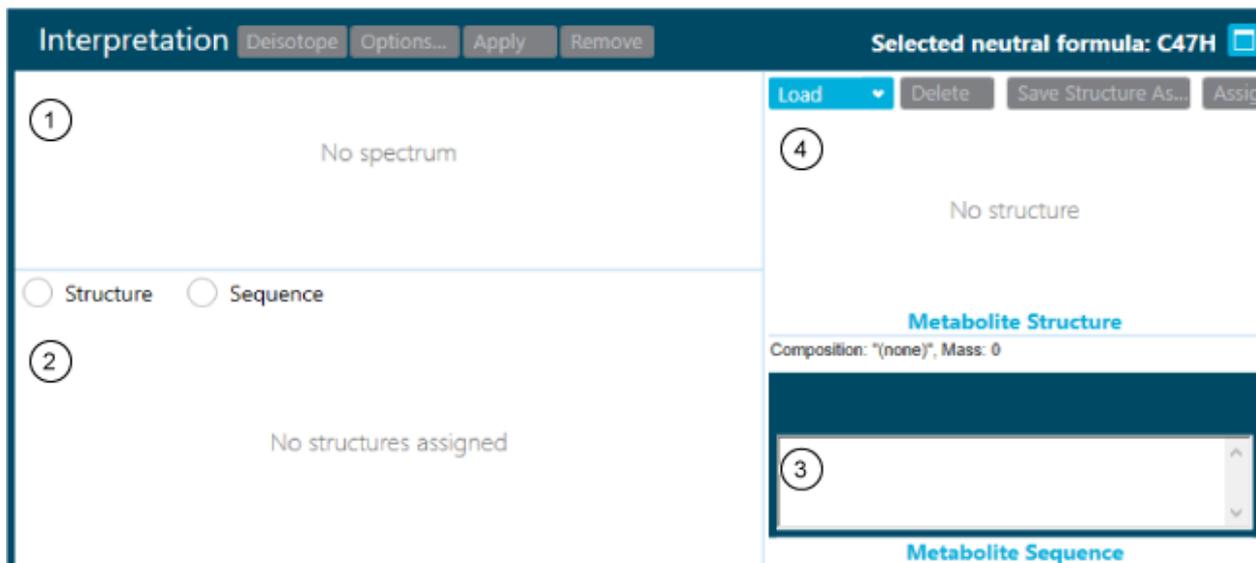
Botão	Descrição
Load Parent	Abre a sequência principal do metabólito selecionado.
Delete	Remove a sequência visível do painel Sequence.
Assign	Calcula os fragmentos e as perdas neutras da estrutura potencial e atribui os íons ao espectro MS/MS.

Tabela 8-9: Ícones da tabela Fragments

Ícone	Descrição
	Adiciona rótulos de todos os picos.
	Adiciona um rótulo do fragmento selecionado.
	Exclui todos os rótulos do espectro MS/MS.
	Abre a caixa de diálogo Interpretation Filters. Consulte a seção: <a href="#">Sobre os filtros de interpretação para oligonucleotídeos</a> .

## Exibição de interpretação de ADC

Figura 8-4: Exibição de interpretação de ADC



Item	Componente da interface	Descrição
1	Painel MS/MS	Mostra o espectro MS/MS do metabólito selecionado. A imagem espelhada do espectro MS/MS de referência é também mostrada, se disponível. A origem desse espectro é o arquivo wiff IDA de amostra, o arquivo wiff de aquisição SWATH de amostra ou um arquivo wiff MS/MS dedicado que foi adicionado ao arquivo Results. Para obter uma descrição da funcionalidade dos botões, consulte a tabela: <a href="#">Tabela 8-10</a> .

Item	Componente da interface	Descrição
2	Tabela Fragments	<p>Contém as seguintes guias:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>A guia Structure, que lista todos os fragmentos atribuídos ao metabólito selecionado, incluindo o respectivo valor de <math>m/z</math>, o número de estruturas propostas e a pontuação. Se forem atribuídas diferentes fórmulas a um valor de <math>m/z</math> específico, a tabela conterá uma linha para cada fórmula. Por padrão, a linha que contém a pontuação mais alta para cada combinação de fórmulas e valor de <math>m/z</math> apresenta a caixa de seleção <b>Use</b> marcada.</li> <li>A guia Sequence, que lista todas as fórmulas propostas para os metabólitos potenciais selecionados. A lista inclui os valores de <math>m/z</math>, sequências, tipos de íon de fragmento (por exemplo, y ou b), carga, erros e intensidades.</li> </ul> <p>Para obter uma descrição da funcionalidade dos ícones, consulte a tabela: <a href="#">Tabela 8-13</a>.</p>
3	Painel Sequence	Mostra a parte da sequência conjugada à carga ou fração ligante. Para indicar o resíduo conjugado à carga ou fração ligante, selecione-o, clique com o botão direito e escolha <b>Mark Residue to Conjugate</b> .
4	Painel Structure	Permite que o usuário carregue uma estrutura candidata para metabólitos potenciais e fornece ferramentas básicas de desenho para editar a estrutura. Para obter uma descrição da funcionalidade dos botões, consulte a tabela: <a href="#">Tabela 8-11</a> .

Tabela 8-10: Botões do painel MS/MS

Botão	Descrição
<b>Deisotope</b>	Remove todos os isótopos do espectro MS/MS.
<b>Options</b>	Abre a caixa de diálogo Options. Consulte a tabela: <a href="#">Tabela 8-21</a> na seção: <a href="#">Definir opções</a> .
<b>Apply</b>	Aplica as mudanças de interpretação ao pico selecionado.
<b>Remove</b>	Remove os fragmentos atribuídos e a estrutura de metabólitos do pico selecionado.

## Caracterizar dados MS/MS

---

Tabela 8-11: Botões do painel Structure

Botão	Descrição
Load	<ul style="list-style-type: none"><li>• <b>Load Parent Structure:</b> abre a estrutura principal do metabólito selecionado.</li><li>• <b>Load Sequence:</b> abre a sequência do metabólito selecionado.</li></ul>
Delete	Remove a estrutura carregada do painel Structure, as informações de sequência carregada do painel Sequence, e as informações de sequência e estrutura atribuídas do painel Fragments.
Save Structure As	Permite que o usuário salve a estrutura com outro nome de arquivo.
Assign	Calcula os fragmentos e as perdas neutras da estrutura potencial e atribui os íons ao espectro MS/MS.

Tabela 8-12: Botões da tabela Fragments

Botão	Descrição
Structure	Lista todos os fragmentos atribuídos ao metabólito selecionado, incluindo o respectivo valor de $m/z$ , o número de estruturas propostas e a pontuação. Se forem atribuídas diferentes fórmulas a um valor de $m/z$ específico, a tabela conterá uma linha para cada fórmula. Por padrão, a linha que contém a pontuação mais alta para cada combinação de fórmulas e valor de $m/z$ apresenta a caixa de seleção <b>Use</b> marcada.
Sequence	Lista todas as fórmulas propostas para os metabólitos potenciais selecionados. A lista inclui os valores de $m/z$ , sequências, tipos de íon de fragmento (por exemplo, y ou b), carga, erros e intensidades.

Tabela 8-13: Ícones da tabela Fragments

Ícone	Descrição
	Adiciona rótulos de todos os picos.
	Adiciona um rótulo do fragmento selecionado.
	Exclui todos os rótulos do espectro MS/MS.
	Abre a caixa de diálogo Interpretation Filters. Consulte a seção: <a href="#">Sobre os filtros de interpretação para ADC</a> .

# Interpretação manual

## Interpretação manual

---



[Fluxo de trabalho de moléculas pequenas](#)



[Fluxos de trabalho de peptídeos](#)



[Fluxos de trabalho de oligonucleotídeos](#)



[Fluxo de trabalho ADC](#)

## Fluxo de trabalho de moléculas pequenas

[Carregar uma estrutura](#)

[Editar uma estrutura](#)

[Preparar a atribuição estrutural](#)



[Editar o nome e a fórmula de um metabólito potencial](#)

[Recalibrar o espectro MS/MS](#)

[Remover isótopos do espectro MS/MS](#)

[Selecionar picos ativos](#)

[Selecionar picos de fragmentos para atribuição](#)

[Definir opções](#)

[Atribuir estruturas de fragmentos](#)



[Atribuir fórmulas e estruturas propostas](#)

[Selecionar uma estrutura de fórmula para cada fragmento](#)

[Anexar estruturas Markush](#)

[Sobre identificações de pico](#)



[Adicionar rótulo de pico ao espectro MS/MS](#)

[Sobre os filtros de interpretação de moléculas pequenas](#)

## Carregar uma estrutura

Antes de iniciar a elucidação estrutural de um metabólito, carregue os arquivos de estrutura para que o software possa determinar estruturas de fragmentos potenciais.

---

**Nota:** mesmo que uma estrutura não seja carregada, as fórmulas potenciais poderão ser atribuídas aos fragmentos.

---

1. No painel Workspace, clique em **Results**.
2. Clique em **Open**.  
É aberta a caixa de diálogo Open Results.
3. Navegue até um arquivo Results e o selecione.
4. Clique em **OK**.
5. No campo **Show**, selecione **Interpretation**.

## Caracterizar dados MS/MS

---

6. Selecione uma linha na tabela Potential Metabolites.
7. No painel Structure, clique em **Load** e selecione a opção **Load Structure**. É aberta a caixa de diálogo Open Structure File.
8. Navegue até um arquivo de estrutura e o selecione.

---

**Nota:** o software aceita arquivos de estrutura em formato sdf ou mol.

---

9. Se forem necessárias pequenas alterações, edite a estrutura. Consulte a seção: [Editar uma estrutura](#).

## Editar uma estrutura

Depois de carregar uma estrutura de um metabólito específico, use as ferramentas de edição para fazer pequenas alterações.

---

**Dica!** Use as ferramentas de edição para fazer pequenas alterações em uma estrutura, por exemplo, posições de ligação diferentes para uma transformação metabólica. As ferramentas de edição não devem ser usadas para criar novas estruturas nem fazer grandes alterações nas estruturas existentes.

---

**Tabela 8-14: Editar uma estrutura**

Para fazer isto	Faça isto
Adicionar um átomo a uma estrutura	Arraste um símbolo específico na paleta para a nova posição. O átomo adicionado forma uma ligação simples com o átomo mais próximo.
Criar novos átomos na paleta	Clique em um quadrado em branco, digite no símbolo na caixa de diálogo Specify Symbol e clique em <b>OK</b> . <hr/> <b>Dica!</b> Clique no quadrado adicionado e digite em um novo símbolo para criar diversos átomos.
Realçar uma parte da estrutura	Arraste um círculo ao redor dos átomos e ligações necessários.
Mover um ou mais átomos	Arraste uma parte realçada da estrutura para a nova posição. Se a parte for ligada ao outro átomo, a ligação passará para a nova posição. Se a parte for ligada a dois ou mais átomos, ela será movida, mas as ligações existentes permanecerão iguais.
Inserir uma estrutura em uma estrutura existente	Clique com o botão direito na estrutura e clique em uma das seguintes opções: <ul style="list-style-type: none"><li>• <b>Insert .mol File</b> para adicionar outra estrutura.</li><li>• <b>Insert Conjugate</b> para adicionar uma estrutura conjugada específica.</li></ul>

Tabela 8-14: Editar uma estrutura (continuação)

Para fazer isto	Faça isto
Excluir um ou mais átomos	Clique com o botão direito em uma parte realçada da estrutura e clique em <b>Remove Selected Atoms</b> .
Criar uma ligação	Selecione dois átomos não ligados, clique com o botão direito na seleção, clique em <b>New Bond</b> e selecione o tipo de ligação.
Editar uma ligação	Clique com o botão direito em uma ligação, clique em <b>Set Bond Type</b> e selecione o tipo de ligação.
Excluir uma ligação	Clique com o botão direito em uma ligação e clique em <b>Remove Bond</b> .
Alterar o estado de carga de um átomo existente	Clique com o botão direito no átomo, clique em <b>Atom Charge State</b> e selecione o estado.

**Dica!** Para salvar a estrutura editada como um arquivo separado, clique em **Save As**.

**Dica!** As estruturas podem ser salvas como arquivos mol ou sdf. Digite a extensão apropriada na caixa de diálogo Save As.

## Preparar a atribuição estrutural

Há quatro tarefas que podem ser concluídas quando o usuário está preparando a atribuição estrutural:

- Editar o nome e a fórmula do metabólito potencial.
- Recalibrar o espectro MS/MS.
- Selecionar picos específicos no espectro MS/MS.
- Selecionar picos de fragmentos para interpretação.

**Nota:** se nenhuma dessas tarefas for necessária, os usuários podem desconsiderar os procedimentos e atribuir de imediato as estruturas de fragmentos.

### Editar o nome e a fórmula de um metabólito potencial

Consulte a seção: [Como os metabólitos são nomeados pelo software](#).

1. No painel Workspace, clique em **Results**.  
É aberto o espaço de trabalho Results.
2. Clique em **Open**.  
É aberta a caixa de diálogo Open Results.
3. Navegue até o arquivo apropriado e o selecione.
4. Clique em **OK**.

## Caracterizar dados MS/MS

---

É aberta a exibição Results.

5. Clique com o botão direito em uma linha na tabela Potential Metabolites e selecione **Edit Name and Formula**.

É exibida a caixa de diálogo Edit Name and Formula.

6. Realize uma das seguintes ações para alterar o **Name**:
  - Se aplicável, selecione um nome na lista de opções fornecida.
  - Digite um nome diferente.
7. Se aplicável, selecione um aduto na lista de opções fornecida.

---

**Nota:** se o aduto for alterado, a **Mass accuracy** do metabólito será automaticamente atualizada.

---

8. Realize uma das seguintes ações para alterar o **Formula**:
  - Se as informações disponíveis forem insuficientes para determinar uma fórmula, selecione **Unknown**.
  - Para adicionar manualmente uma fórmula ao metabólito potencial, selecione **Use** e digite uma fórmula no campo fornecido.
  - Se as fórmulas potenciais foram previstas pelo software, selecione **Automatic** e uma entrada na lista.

---

**Nota:** se as fórmulas potenciais não foram previstas pelo software, **Automatic** não fica disponível para seleção.

---

**Nota:** os valores nos campos **Mass accuracy** e **RDB** são automaticamente atualizados pelo software quando a nova fórmula é adicionada.

---

9. Para identificar o metabólito da linha selecionada como o composto principal, clique em **Assign as Parent**.
10. Clique em **OK**.
11. Clique em **Save**.

---

**Nota:** para os peptídeos, a ordem dos nomes é baseada na precisão de massa do nome proposto e no número de manipulações necessárias, por exemplo, número de ligações rompidas. Ou seja, o nome proposto para o peptídeo com uma precisão de massa mais alta e menos manipulações é exibido no topo da lista.

---

## Recalibrar o espectro MS/MS

1. Na exibição Interpretation, clique em **Prepare**.  
É aberta a caixa de diálogo Interpret Data.
2. Clique na guia MS/MS Details.
3. Selecione um fragmento para usar como um ponto de calibração.

4. Clique com o botão direito no fragmento selecionado e clique em **Set calibration points**.  
A cor do círculo do fragmento muda para azul.
5. Repita as etapas 3 e 4 para selecionar pontos de calibração adicionais.
6. Para remover os pontos de calibração definidos, selecione-os, clique com o botão direito e selecione **Clear calibration points**.  
A cor do círculo do fragmento reverte para verde.
7. Para ver os detalhes de um fragmento, selecione um ponto de calibração, clique com o botão direito e selecione **Composition details**.  
É aberta a caixa de diálogo Fragment, fornecendo o valor de  $m/z$ , o erro de massa em ppm e em mDa, uma indicação de a fórmula proposta apontar ou não para um par de elétrons, e o valor RDB (anéis e ligações duplas) da fórmula proposta.
8. Para selecionar um ponto de calibração como a composição do fragmento ou como um ponto de calibração potencial, selecione um ponto de calibração, clique com o botão direito e selecione **Select composition**.
9. Clique com o botão direito no espectro MS/MS e clique em **Recalibrate**.

---

**Nota:** para descartar o espectro recalibrado, clique com o botão direito no espectro e clique em **Revert Calibration**.

---

### Remover isótopos do espectro MS/MS

Na exibição Interpretation, quando a opção Deisotope é clicada, todos os isótopos são removidos do espectro MS/MS. Isso fornece uma visão rápida dos picos monoisotópicos, que é útil na exibição dos dados de aquisição SWATH.

---

**Nota:** apenas os monoisotópicos são exibidos na tabela Results, independentemente de essa opção ser ou não selecionada.

---

### Selecionar picos ativos

Os picos ativos são os únicos no espectro MS/MS que estão disponíveis para interpretação de fragmentos.

1. Na exibição Interpretation, clique em **Prepare**.  
É aberta a caixa de diálogo Interpret Data.
2. Analise o espectro MS/MS.  
As setas azuis identificam os picos ativos atuais.
3. Para selecionar um pico, arraste um quadrado sobre ele.
4. Clique duas vezes no pico selecionado.  
Uma seta azul é exibida abaixo do pico selecionado.
5. Para remover picos únicos, arraste a seta azul abaixo da borda da caixa de diálogo Interpret Data.  
A seta azul abaixo do pico selecionado é removida.

## Caracterizar dados MS/MS

---

**Dica!** Para limpar todos os picos ativos, clique com o botão direito no espectro e clique em **Clear All Markers**.

---

6. Depois de selecionar todos os picos ativos, clique em **Find**.
7. Selecione a linha com a fórmula que melhor corresponde aos espectros MS e MS/MS.
8. Clique em **Select**.

### Selecionar picos de fragmentos para atribuição

Embora vários picos possam ser identificados como ativos, os usuários podem optar por trabalhar somente com os picos que tenham as intensidades mais altas.

1. Na exibição Interpretation, clique em **Options**.  
A caixa de diálogo Options é aberta.
2. No campo **Number of fragment peaks selected for assignment**, digite o número apropriado.
3. Clique em **OK**.  
Os asteriscos no espectro MS/MS identificam os picos selecionados para atribuição.

### Definir opções

1. Na exibição Interpretation, clique em **Options**.  
A caixa de diálogo Options é aberta.
2. Modifique os parâmetros de fragmentação e identificação conforme descrito na tabela:  
[Tabela 8-15](#).

**Tabela 8-15: Caixa de diálogo Options**

Opção	Descrição
<b>Number of fragment peaks selected for assignment</b>	Use este campo para especificar o número de picos de fragmentos que serão atribuídos. Esse número pode ser um subconjunto do número total de picos selecionados na caixa de diálogo Prepare. Se for um subconjunto do número total de picos, os picos serão escolhidos por ordem de intensidade.
<b>Minimum signal-to-noise ratio</b>	Use este campo para especificar o limite usado para atribuir picos de fragmentos. Os picos abaixo desse limite não serão atribuídos. O ruído é definido como o pico com a menor intensidade no espectro MS/MS.
<b>MS/MS m/z tolerance (ppm or mDa)</b>	Para que seja atribuída uma fórmula e possivelmente uma estrutura ao pico de fragmentos, sua precisão de massa precisa estar dentro da tolerância de <i>m/z</i> do MS/MS especificada.
<b>Fragmentation Settings</b>	
<b>Break aromatic rings</b>	Marque esta caixa de seleção para romper o anel aromático.

Tabela 8-15: Caixa de diálogo Options (continuação)

Opção	Descrição
<b>Maximum number of bonds to break</b>	Use este campo para especificar o número máximo de ligações a serem rompidas. As opções incluem: <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>	Use este campo para especificar o número máximo de ligações C-C a serem rompidas. As opções incluem: <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>	Use este campo para especificar as informações que devem ser exibidas nos rótulos de pico. As opções incluem: <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>	Marque esta caixa de seleção para aplicar as opções atuais a todos os metabólitos não atribuídos.

## Atribuir estruturas de fragmentos

Para atribuir estruturas, o software vincula os picos de fragmentos no espectro MS/MS às partes potenciais da estrutura candidata. Os usuários podem selecionar uma fórmula e estrutura que melhor correspondam ao valor  $m/z$  de cada fragmento. Após a atribuição, os asteriscos que identificavam picos selecionados para atribuição são substituídos por uma marca de seleção para indicar que houve a atribuição ou por um "x" para indicar que nenhuma atribuição foi possível.

**Nota:** as regras de fragmentação estão incorporadas ao software e não podem ser editadas.

## Caracterizar dados MS/MS

---

### Atribuir fórmulas e estruturas propostas

Cada metabólito precisa ter um espectro MS/MS para que as estruturas de fragmentos sejam atribuídas. Para adicionar um espectro, consulte a seção: [Adicionar vários espectros usando o botão Add MS/MS](#).

1. No painel Workspace, clique em **Results**.  
É aberto o espaço de trabalho Results.
2. Clique em **Open**.  
É aberta a caixa de diálogo Open Results.
3. Navegue até o arquivo apropriado e o selecione.
4. Clique em **OK**.  
É aberta a exibição Results.
5. No campo **Show**, selecione **Interpretation**.
6. Carregue e edite uma estrutura candidata. Consulte as seções [Carregar uma estrutura](#) e [Editar uma estrutura](#).
7. Se necessário, prepare a atribuição estrutural. Consulte a seção: [Preparar a atribuição estrutural](#).
8. No painel Structure da exibição Interpretation, clique em **Assign**.  
Três tabelas são exibidas abaixo do painel MS/MS: Fragments, mostrando os fragmentos identificados, Structure Details, mostrando as estruturas potenciais, e Contained Neutral Losses, mostrando as perdas neutras contidas.

---

**Nota:** se uma estrutura não for carregada, o software atribuirá apenas fórmulas potenciais aos fragmentos.

---

### Selecionar uma estrutura de fórmula para cada fragmento

1. Se for apropriado, na exibição Interpretation, clique com o botão direito em cada uma das tabelas Fragments, Structure Details e Contained Neutral Losses e clique em **Show Hidden Rows**.

---

**Nota:** na tabela Fragments, a linha que contém a pontuação mais alta para o valor de  $m/z$  apresenta a caixa de seleção **Use** marcada. Na tabela Structure Details, a linha com a pontuação mais alta apresenta a caixa de seleção **Use** marcada. Na tabela Contained Neutral Losses, todas as linhas apresentam a caixa de seleção **Use** marcada.

---

2. Na tabela Fragments, marque a caixa de seleção **Use** para identificar a linha que contém a fórmula mais precisa para cada valor de  $m/z$ .

---

**Dica!** Na tabela Fragments, marque a caixa de seleção **Use** em mais de uma linha para selecionar várias fórmulas potenciais para cada fragmento.

---

3. Na tabela Structure Details, marque a caixa de seleção **Use** para identificar as partes da estrutura que correspondem com mais precisão à fórmula selecionada.

- Na tabela Contained Neutral Losses, marque a caixa de seleção **Use** para identificar a linha que reflete com mais precisão as perdas neutras contidas.

---

**Dica!** Nas tabelas Structure Details e Contained Neutral Losses, marque a caixa de seleção **Use** em mais de uma linha para um fragmento específico.

---

- Clique em **Apply**.  
Os dados da interpretação são salvos para o metabólito selecionado.
- Quando todas as alterações forem feitas, clique em **Save**.

---

**Dica!** Para excluir todos os dados da interpretação de um metabólito específico, clique em **Remove**.

---

## Sobre a guia Structure Candidates

Quando a geração de estrutura automática é usada, a guia Structure Candidates do painel Structure charts é preenchida com uma lista de estruturas do metabólito selecionado que satisfaz as condições definidas na caixa de diálogo Options. Consulte a seção: [Opções de processamento de lote](#). O software gera estruturas para os seguintes tipos de metabólitos:

- Metabólitos com uma ou duas clivagens
- Metabólitos de única biotransformação
- Metabólitos com uma clivagem e única biotransformação

Em caso de metabolismo mais complexo, o usuário pode fornecer ou editar uma estrutura de metabólitos personalizada e avaliar essa proposta de estrutura.

A lista de estruturas (chamada de histograma) contém as seguintes colunas de informações:

Coluna	Descrição
<b>Rank</b>	Indica a posição ou a classificação das estruturas.
<b>Relative Evidence</b>	A classificação ou pontuação é baseada em uma comparação entre o espectro MS/MS da estrutura principal e o espectro MS/MS dos metabólitos. Os fragmentos do metabólito são depois comparados com os do principal para identificar fragmentos alterados e não alterados. Outros atributos, como a intensidade do fragmento e a especificidade de uma proposta, são também considerados na estratégia de classificação geral. A classificação final indica a probabilidade de ocorrência de uma biotransformação ou clivagem em um índice específico.  Esta coluna também permite que o usuário alterne entre estruturas. Consulte a seção: <a href="#">Alternar entre estruturas</a> .
<b>Apply to Results</b>	Uma caixa de seleção marcada indica que a estrutura correspondente será salva para o arquivo Results.

O número total de candidatos é mostrado acima da tabela de histograma, diretamente acima da coluna **Apply to Results**.

## Caracterizar dados MS/MS

---

As estruturas geradas automaticamente não podem ser editadas. Os usuários podem carregar uma estrutura, fazer as modificações necessárias e depois marcar a caixa de seleção **Apply to Results** para incluir as estruturas no arquivo Results. Consulte as etapas 7 e 8 das seções: [Carregar uma estrutura](#) e [Editar uma estrutura](#).

### Alternar entre estruturas

Clique em uma barra azul no histograma.  
A estrutura correspondente é exibida no painel Structure.

### Selecionar um painel vazio

Clique na primeira linha do histograma.  
A primeira linha do histograma contém as palavras `No structure`. O painel Structure é atualizado com a frase `No structure` exibida.

### Adicionar uma estrutura

---

**Nota:** somente uma estrutura pode ser adicionada à lista de estruturas geradas automaticamente. Se mais uma estrutura for incluída, a estrutura anterior adicionada pelo usuário será sobrescrita.

---

1. No painel Structure, clique em **Load** e selecione a opção **Load Structure**. É aberta a caixa de diálogo Open Structure File.
2. Navegue até um arquivo mol ou sdf e o selecione.
3. Clique em **Open**.

A estrutura selecionada é exibida no painel Structure e uma linha é adicionada à tabela do histograma, logo acima da primeira estrutura gerada automaticamente. O tom de azul da linha de estrutura carregada é ligeiramente diferente do azul das linhas que contêm as estruturas geradas automaticamente. A classificação é definida como 0.

A estrutura adicionada pelo usuário pode ser editada. Qualquer alteração feita na estrutura será mantida na memória quando o usuário sair do painel Structure.

### Selecionar uma estrutura para exibir

1. Clique em uma barra azul no histograma.  
A estrutura correspondente é exibida no painel Structure. Por padrão, somente a primeira estrutura no histograma tem a tabela Fragments atribuída.
2. Para atribuir a tabela Fragments a uma outra estrutura, clique na barra azul do histograma e clique em **Assign**.

### Excluir uma estrutura

1. Clique em uma barra azul no histograma.  
A estrutura correspondente é exibida no painel Structure.
2. No painel Structure, clique em **Delete**.  
A estrutura é excluída do painel Structure, a linha azul selecionada é removida do histograma e a tabela Fragments é removida. A estrutura da linha seguinte no histograma é exibida no painel Structure.

## Anexar estruturas Markush

Depois de atribuir estruturas de fragmentos, use estruturas Markush para mostrar posições aproximadas para as modificações químicas.

---

**Nota:** as estruturas de fragmentos não podem ser atribuídas a um metabólito que contém uma estrutura Markush.

---

1. Realce uma parte da estrutura.
2. Clique com o botão direito acima ou abaixo da estrutura e clique em **Attach Markush**.
3. Selecione **Single Bond** ou **Double Bond**.
4. Na caixa de diálogo Select Symbol, digite o símbolo ou a fórmula necessária.
5. Clique em **OK**.

A estrutura Markush é exibida com uma linha pontilhada que a liga à parte selecionada da estrutura.

---

**Nota:** as alterações poderão ser feitas na estrutura após a atribuição dos dados da interpretação, se uma estrutura Markush for anexada. Se uma estrutura Markush for removida, qualquer alteração excluirá todos os dados da interpretação do metabólito.

---

## Sobre identificações de pico

Um pico pode ser identificado com:

- uma fórmula ou tipo de íon (para um peptídeo);
- uma fórmula ou tipo de íon (para um peptídeo) e erro de ppm;
- uma fórmula ou tipo de íon (para um peptídeo) e erro de mDa.

### Adicionar rótulo de pico ao espectro MS/MS

1. Na exibição Interpretation, clique em **Options**.  
A caixa de diálogo Options é aberta.
2. No campo **Label peaks with**, selecione o tipo de rótulo.
3. Clique em **OK**.
4. Na tabela Fragments, selecione a linha que contém o pico a ser identificado.
5. Clique em .

---

**Dica!** Para remover todos os rótulos do espectro MS/MS, clique em .

---

## Sobre os filtros de interpretação de moléculas pequenas

Aplique filtros para refinar mais os dados mostrados na tabela Fragments. Para abrir a caixa de diálogo Interpretation Filters, clique no ícone  na tabela Fragments.

## Caracterizar dados MS/MS

---

Filtro	Descrição
<b>Rings and Double Bonds</b>	
<b>RDB</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>• <b>Integer value (even-electron)</b>: mostra somente fragmentos com valor inteiro para anéis e ligações duplas.</li><li>• <b>Non-integer value (odd-electron)</b>: mostra somente fragmentos com valor não inteiro para anéis e ligações duplas.</li></ul>
<b>Mass Range</b>	
<b>m/z from __ to __</b>	Mostra somente fragmentos com um valor de <i>m/z</i> que está dentro do intervalo especificado.
<b>Mass Accuracy</b>	
<b>Accuracy within</b>	Mostra somente fragmentos com precisão de massa que está dentro do intervalo especificado. <hr/> <b>Nota:</b> dependendo da seleção feita na caixa de diálogo Options, a precisão de massa será medida em mDa ou em ppm. <hr/>
<b>Intensity</b>	
<b>Intensity above __ cps</b>	Mostra somente fragmentos com valor de intensidade que está acima do valor especificado.
<b>Score</b>	
<b>Score above</b>	Mostra somente fragmentos com pontuação que está acima do valor especificado.
<b>Estruturas</b>	
<b>Fragments with assigned structures</b>	Mostra somente fragmentos associados a estruturas.

## Fluxos de trabalho de peptídeos

[Carregar uma sequência](#)

[Editar uma sequência](#)

[Definir opções](#)

[Atribuir sequências de fragmentos](#)

[Sobre identificações de pico](#)



[Adicionar rótulo de pico ao espectro MS/MS](#)

[Sobre os filtros de interpretação para peptídeos](#)

## Carregar uma sequência

1. No painel Workspace, clique em **Results**.
2. Clique em **Open**.  
É aberta a caixa de diálogo Open Results.
3. Navegue até um arquivo Results e o selecione.
4. Clique em **OK**.
5. No campo **Show**, selecione **Interpretation**.
6. Selecione uma linha na tabela Potential Metabolites.
7. Escolha uma das seguintes opções:
  - Se o painel Sequence estiver em branco, clique em **Load Parent**.
  - Se já existir uma sequência no painel Sequence e for necessário adicionar uma nova sequência, clique em **Enter Sequence** para limpar o painel e depois clique em **Load Parent**.

A sequência principal é exibida no painel Sequence. O seguinte rótulo será adicionado acima do painel: **AA Index: [ ]**, **Mono. Mass: [ ]**, **m/z: [ ]**, **Composition: [ ]**, em que:

- **AA Index:** (Amino Acid Index) os índices de aminoácidos indicam a posição do primeiro e do último resíduos da sequência na sequência principal. Se a sequência de catabólitos não for um subconjunto da sequência principal, o AA Index não será exibido.
  - **Mono. Mass:** é a massa monoisotópica do componente neutro.
  - **m/z:** é o valor de massa-carga. A carga é exibida entre colchetes.
  - **Composition:** é a composição do elemento sem carga da sequência.
8. Se forem necessárias alterações, edite a sequência. Consulte a seção: [Editar uma sequência](#).

## Editar uma sequência

Depois que uma sequência de um metabólito específico é criada ou carregada, ela pode ser editada.

1. Clique na sequência na qual as alterações são necessárias.
2. Faça as devidas alterações. Consulte a seção: [Convenções de nomenclatura de sequência de peptídeos](#).

## Definir opções

1. Na exibição Interpretation, clique em **Options**.  
A caixa de diálogo Options é aberta.
2. Modifique os parâmetros de fragmentação e de identificação. Consulte a tabela: [Tabela 8-16](#).

Tabela 8-16: Caixa de diálogo Options

Opção	Descrição
<b>Minimum signal-to-noise ratio</b>	Use este campo para especificar o limite usado para atribuir picos de fragmentos. Os picos abaixo desse limite não serão atribuídos. O ruído é definido como o pico com a menor intensidade no espectro MS/MS.
<b>MS/MS m/z tolerance (ppm or mDa)</b>	Use este campo para especificar a tolerância de <i>m/z</i> do MS/MS. Para que seja atribuída uma sequência e tipo de íon ao pico de fragmentos, sua precisão de massa precisa estar dentro da tolerância de <i>m/z</i> do MS/MS especificada.
<b>Fragmentation Settings</b>	
<b>Fragment Types</b>	<p>Selecione o tipo de fragmento apropriado. É possível selecionar vários tipos. As opções incluem:</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>Use este campo para especificar o número máximo de ligações a serem rompidas. As opções incluem:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• 1</li> <li>• 2</li> <li>• 3</li> </ul> <hr/> <p><b>Dica!</b> para os peptídeos mais complexos, se for selecionado 3 como o número máximo de ligações a serem rompidas, o tempo necessário de processamento será maior.</p>
<b>Break linkages</b>	Se houver ligações na sequência de peptídeos, marque esta caixa de seleção para permitir a ruptura das ligações entre aminoácidos individuais.
<b>Label Settings</b>	
<b>Label peaks with</b>	<p>Use este campo para especificar as informações que devem ser exibidas nos rótulos de pico. As opções incluem:</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>

Tabela 8-16: Caixa de diálogo Options (continuação)

Opção	Descrição
<b>Apply options to all potential metabolites</b>	Marque esta caixa de seleção para aplicar as opções atuais a todos os metabólitos não atribuídos.

## Atribuir sequências de fragmentos

**Nota:** as regras de fragmentação estão incorporadas ao software e não podem ser editadas.

1. No painel Workspace, clique em **Results**.  
É aberto o espaço de trabalho Results.
2. Clique em **Open**.  
É aberta a caixa de diálogo Open Results.
3. Navegue até o arquivo apropriado e o selecione.
4. Clique em **OK**.  
É aberta a exibição Results.
5. No campo **Show**, selecione **Interpretation**.
6. Carregue a sequência. Consulte a seção: [Carregar uma sequência](#).
7. No painel Sequence, clique em **Assign**.  
A tabela Fragments é preenchida com os resultados da interpretação da sequência carregada usando as opções selecionadas. Consulte a seção: [Definir opções](#). As linhas verticais verdes, que identificam os íons correspondentes na tabela Fragments, são adicionadas ao painel MS/MS. O rótulo acima da tabela é atualizada para indicar:
  - **Assigned: x of y peaks**. Indica o número de picos que foram atribuídos.
  - **MSMS Peak Area Assigned: x%**. Indica a porcentagem da área de pico MS/MS que foi atribuída.
  - **Sequence Coverage: x of y consecutive amino acids**. Indica o número de aminoácidos consecutivos cobertos pela sequência.

## Sobre a guia Sequence Candidates

Quando a geração de sequência automática é usada, a guia Sequence Candidates do painel Sequence charts é preenchida com uma lista de sequências do catabólito ou metabólito selecionado que satisfaz as condições definidas na caixa de diálogo Options. Consulte a seção: [Opções de processamento de lote](#). O software gera sequências para os seguintes tipos de metabólitos ou catabólitos:

- *n* clivagens: até quatro modificações nas clivagens
- principal: em que *n* refere-se a qualquer número de clivagens

A lista de sequências (chamada de histograma) contém as seguintes colunas de informações:

## Caracterizar dados MS/MS

Coluna	Descrição
<b>Rank</b>	Indica a classificação relativa de todas as sequências de isômeros encontradas para o metabólito especificado. A classificação está baseada na área de pico de MS/MS atribuída.
<b>View sequence fragments</b>	Os valores de porcentagem indicam a pontuação da sequência proposta.  Esta coluna também permite que o usuário alterne entre sequências. Consulte a seção: <a href="#">Alternar entre sequências</a> .
<b>AA Index</b>	Indica o início e o fim da sequência de aminoácidos.
<b>Apply to Results</b>	Uma caixa de seleção marcada indica que a sequência correspondente será salva para o arquivo Results.

O número total de candidatos é mostrado acima da tabela de histograma, diretamente acima da coluna **Apply to Results**.

As sequências geradas automaticamente não podem ser editadas. Os usuários podem carregar uma sequência, fazer as modificações necessárias e depois marcar a caixa de seleção **Apply to Results** para incluir as sequências no arquivo Results. Consulte a etapa 7 das seções: [Carregar uma sequência](#) e [Editar uma sequência](#).

## Sobre identificações de pico

Um pico pode ser identificado com:

- uma fórmula ou tipo de íon (para um peptídeo);
- uma fórmula ou tipo de íon (para um peptídeo) e erro de ppm;
- uma fórmula ou tipo de íon (para um peptídeo) e erro de mDa;
- uma fórmula ou tipo de íon (para um peptídeo) com carga.

### Adicionar rótulo de pico ao espectro MS/MS

1. Na exibição Interpretation, clique em **Options**.  
A caixa de diálogo Options é aberta.
2. No campo **Label peaks with**, selecione o tipo de rótulo.
3. Clique em **OK**.
4. Escolha uma das seguintes opções:

**Tabela 8-17: Adicionar rótulos de pico**

Para identificar um pico	Para identificar todos os picos
Na tabela Fragments, selecione a linha que contém o pico a ser identificado.	Clique em 

Tabela 8-17: Adicionar rótulos de pico (continuação)

Para identificar um pico	Para identificar todos os picos
Clique em  .	—

**Dica!** Para remover todos os rótulos do espectro MS/MS, clique em .

## Sobre os filtros de interpretação para peptídeos

Aplique filtros para refinar mais os dados mostrados na tabela Fragments. Para abrir a caixa de diálogo Interpretation Filters, clique no ícone  na tabela Fragments.

Filtro	Descrição
<b>Mass Range</b>	
m/z from __ to __	Mostra somente fragmentos com um valor de <i>m/z</i> que está dentro do intervalo especificado.
<b>Charge Range</b>	
Charge from __ to __	Mostra somente fragmentos com uma carga que está dentro do intervalo especificado. As opções incluem: <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>From range:</b> de 1 a 10, inclusive</li> <li>• <b>To range:</b> de 1 a 10, inclusive</li> </ul> <p><b>Nota:</b> o valor máximo do intervalo precisa ser maior ou igual ao valor mínimo do intervalo.</p>
<b>Ion Type</b>	
Fragment type	Selecione o tipo de fragmento apropriado. É possível selecionar vários tipos. Estas opções estão disponíveis: <ul style="list-style-type: none"> <li>• a</li> <li>• b</li> <li>• y</li> </ul>
<b>Mass Accuracy</b>	
Accuracy within	Mostra somente fragmentos com precisão de massa que está dentro do intervalo especificado. <p><b>Nota:</b> dependendo da seleção feita na caixa de diálogo Options, a precisão de massa será medida em mDa ou em ppm.</p>
<b>Intensity</b>	

## Caracterizar dados MS/MS

---

Filtro	Descrição
Intensity above __ cps	Mostra somente fragmentos com valor de intensidade que está acima do valor especificado.

## Fluxos de trabalho de oligonucleotídeos

[Carregar uma sequência](#)

[Editar uma sequência](#)

[Definir opções](#)

[Atribuir sequências de fragmentos](#)

[Sobre identificações de pico](#)



[Adicionar rótulo de pico ao espectro MS/MS](#)

[Sobre os filtros de interpretação para oligonucleotídeos](#)

## Carregar uma sequência

1. No painel Workspace, clique em **Results**.
2. Clique em **Open**.  
É aberta a caixa de diálogo Open Results.
3. Navegue até um arquivo Results e o selecione.
4. Clique em **OK**.
5. No campo **Show**, selecione **Interpretation**.
6. Selecione uma linha na tabela Potential Metabolites.
7. Se o painel Sequence estiver em branco, siga um destes procedimentos:
  - Clique em **Load Parent**.
  - Digite ou cole uma sequência no painel.

O seguinte rótulo será adicionado acima do painel: **Mono. Mass: [ ], m/z: [ ], Composition: [ ]**, em que:

- **Mono. Mass:** é a massa monoisotópica do componente neutro.
  - **m/z:** é o valor de massa-carga. A carga é exibida entre colchetes.
  - **Composition:** é a composição do elemento sem carga da sequência.
8. Se forem necessárias alterações, edite a sequência. Consulte a seção: [Editar uma sequência](#).

## Editar uma sequência

Depois que uma sequência de um metabólito específico é criada ou carregada, ela pode ser editada.

1. Clique na sequência na qual as alterações são necessárias.
2. Faça as devidas alterações. Consulte a seção: [Convenções de nomenclatura de sequência de oligonucleotídeos](#).

## Definir opções

1. Na exibição Interpretation, clique em **Options**.  
A caixa de diálogo Options é aberta.
2. Modifique os parâmetros de fragmentação e de identificação. Consulte a tabela: [Tabela 8-18](#).

**Tabela 8-18: Caixa de diálogo Options**

Opção	Descrição
<b>Minimum signal-to-noise ratio</b>	Use este campo para especificar o limite usado para atribuir picos de fragmentos. Os picos abaixo desse limite não são atribuídos. O ruído é definido como o pico com a menor intensidade no espectro MS/MS.
<b>MS/MS m/z tolerance (ppm or mDa)</b>	Use este campo para especificar a tolerância de <i>m/z</i> do MS/MS. Para que seja atribuída uma sequência e tipo de íon ao pico de fragmentos, sua precisão de massa precisa estar dentro da tolerância de <i>m/z</i> do MS/MS especificada.
<b>Fragmentation Settings</b>	
<b>Fragment Types</b>	<p>Selecione o tipo de fragmento apropriado. É possível selecionar vários tipos. As opções incluem:</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>Consulte a seção: <a href="#">Exemplo de oligonucleotídeo personalizado</a>.</p>

Tabela 8-18: Caixa de diálogo Options (continuação)

Opção	Descrição
<b>Maximum number of bonds to break</b>	Use este campo para especificar o número máximo de ligações a serem rompidas. As opções incluem: <ul style="list-style-type: none"> <li>• 1</li> <li>• 2</li> </ul> O valor recomendado é 2. <p><b>Dica!</b> Para os oligonucleotídeos mais complexos, se for selecionado 3 como o número máximo de ligações a serem rompidas, o tempo necessário de processamento será maior.</p>
<b>Maximum water and Base losses</b>	Especifica as perdas máximas de água que podem ocorrer durante a fragmentação. O valor recomendado é 1.
<b>Label Settings</b>	
<b>Label peaks with</b>	Use este campo para especificar as informações que devem ser exibidas nos rótulos de pico. As opções incluem: <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>	Marque esta caixa de seleção para aplicar as opções atuais a todos os metabólitos não atribuídos.

## Atribuir sequências de fragmentos

**Nota:** as regras de fragmentação estão incorporadas ao software e não podem ser editadas.

1. No painel Workspace, clique em **Results**.  
É aberto o espaço de trabalho Results.
2. Clique em **Open**.  
É aberta a caixa de diálogo Open Results.
3. Navegue até o arquivo apropriado e o selecione.
4. Clique em **OK**.  
É aberta a exibição Results.
5. No campo **Show**, selecione **Interpretation**.
6. Carregue a sequência. Consulte a seção: [Carregar uma sequência](#).

7. No painel Sequence, clique em **Assign**.

A tabela Fragments é preenchida com os resultados da interpretação da sequência carregada usando as opções selecionadas. Consulte a seção: [Definir opções](#). As linhas verticais cianas, que identificam os íons correspondentes na tabela Fragments, são adicionadas ao painel MS/MS. O rótulo acima da tabela é atualizada para indicar:

- **Assigned: x of y peaks**. Indica o número de picos que foram atribuídos.
- **MSMS Peak Area Assigned: x%**. Indica a porcentagem da área de pico MS/MS que foi atribuída.
- **Sequence Coverage: x of y consecutive nucleotides**. Indica o número de nucleotídeos consecutivos cobertos pela sequência.

## Sobre identificações de pico

Um pico pode ser identificado com:

- uma fórmula ou tipo de íon (para um oligonucleotídeo);
- uma fórmula ou tipo de íon (para um oligonucleotídeo) e erro de ppm;
- uma fórmula ou tipo de íon (para um oligonucleotídeo) e erro de mDa;
- uma fórmula ou tipo de íon (para um oligonucleotídeo) com carga.

### Adicionar rótulo de pico ao espectro MS/MS

1. Na exibição Interpretation, clique em **Options**.  
A caixa de diálogo Options é aberta.
2. No campo **Label peaks with**, selecione o tipo de rótulo.
3. Clique em **OK**.
4. Escolha uma das seguintes opções:

**Tabela 8-19: Adicionar rótulos de pico**

Para identificar um pico	Para identificar todos os picos
Na tabela Fragments, selecione a linha que contém o pico a ser identificado.	Clique em 
Clique em 	—

**Dica!** Para remover todos os rótulos do espectro MS/MS, clique em .

## Sobre os filtros de interpretação para oligonucleotídeos

Aplicar filtros para refinar mais os dados mostrados na tabela Fragments. Para abrir a caixa de diálogo Interpretation Filters, clique no ícone  na tabela Fragments.

## Caracterizar dados MS/MS

Filtro	Descrição
<b>Mass Range</b>	
m/z from __ to __	Mostra somente fragmentos com um valor de <i>m/z</i> que está dentro do intervalo especificado.
<b>Charge Range</b>	
Charge from __ to __	Mostra somente fragmentos com uma carga que está acima do valor selecionado. Os valores válidos são de 1 a 10.
<b>Ion Type</b>	
Fragment type	Selecione o tipo de fragmento apropriado. É possível selecionar vários tipos. Estas opções estão disponíveis: <ul style="list-style-type: none"><li>• a</li><li>• b</li><li>• c</li><li>• d</li><li>• w</li><li>• wb-H2O</li><li>• x</li><li>• y</li><li>• Other</li><li>• Base loss</li><li>• Water loss</li><li>• Internals</li></ul>
<b>Mass Accuracy</b>	
Accuracy within	Mostra somente fragmentos com precisão de massa que está dentro do intervalo especificado. <b>Nota:</b> dependendo da seleção feita na caixa de diálogo Options, a precisão de massa será medida em mDa ou em ppm.
<b>Intensity</b>	
Intensity above __ cps	Mostra somente fragmentos com valor de intensidade que está acima do valor especificado.

## Fluxo de trabalho ADC

[Carregar uma estrutura](#)

[Editar uma estrutura](#)

[Carregar uma sequência](#)

[Editar uma sequência](#)

[Definir opções](#)

[Atribuir íons de fragmento à estrutura e à sequência](#)

[Sobre identificações de pico](#)



[Adicionar rótulo de pico ao espectro MS/MS](#)

[Sobre os filtros de interpretação para ADC](#)

## Carregar uma estrutura

Antes de iniciar a elucidação estrutural de um metabólito, carregue uma estrutura para que o software possa determinar estruturas de fragmentos potenciais.

---

**Nota:** mesmo que uma estrutura não seja carregada, as fórmulas potenciais poderão ser atribuídas aos fragmentos.

---

1. No painel Workspace, clique em **Results**.
2. Clique em **Open**.  
É aberta a caixa de diálogo Open Results.
3. Navegue até um arquivo Results e o selecione.
4. Clique em **OK**.
5. No campo **Show**, selecione **Interpretation**.
6. Selecione uma linha na tabela Potential Metabolites.
7. No painel Structure, clique em **Load** e selecione a opção **Load Parent Structure**.  
O painel é preenchido com a estrutura principal do metabólito selecionado. O local marcado da ligação (conforme o arquivo de parâmetros de processamento inserido) ou os átomos são exibidos em roxo.
8. Se forem necessárias pequenas alterações, edite a estrutura. Consulte a seção: [Editar uma estrutura](#).

## Editar uma estrutura

Depois de carregar uma estrutura de um metabólito específico, use as ferramentas de edição para fazer pequenas alterações.

## Caracterizar dados MS/MS

**Dica!** Use as ferramentas de edição para fazer pequenas alterações em uma estrutura, por exemplo, posições de ligação diferentes para uma transformação metabólica. As ferramentas de edição não devem ser usadas para criar novas estruturas nem fazer grandes alterações nas estruturas existentes.

**Tabela 8-20: Editar uma estrutura**

Para fazer isto	Faça isto
Adicionar um átomo a uma estrutura	Arraste um símbolo específico na paleta para a nova posição. O átomo adicionado forma uma ligação simples com o átomo mais próximo.
Criar novos átomos na paleta	Clique em um quadrado em branco, digite no símbolo na caixa de diálogo Specify Symbol e clique em <b>OK</b> .  <b>Dica!</b> Clique no quadrado adicionado e digite em um novo símbolo para criar diversos átomos.
Realçar uma parte da estrutura	Arraste um círculo ao redor dos átomos e ligações necessários.
Mover um ou mais átomos	Arraste uma parte realçada da estrutura para a nova posição. Se a parte for ligada ao outro átomo, a ligação passará para a nova posição. Se a parte for ligada a dois ou mais átomos, ela será movida, mas as ligações existentes permanecerão iguais.
Inserir uma estrutura em uma estrutura existente	Clique com o botão direito na estrutura e clique em uma das seguintes opções: <ul style="list-style-type: none"><li>• <b>Insert .mol File</b> para adicionar outra estrutura.</li><li>• <b>Insert Conjugate</b> para adicionar uma estrutura conjugada específica.</li></ul>
Excluir um ou mais átomos	Clique com o botão direito em uma parte realçada da estrutura e clique em <b>Remove Selected Atoms</b> .
Criar uma ligação	Selecione dois átomos não ligados, clique com o botão direito na seleção, clique em <b>New Bond</b> e selecione o tipo de ligação.
Editar uma ligação	Clique com o botão direito em uma ligação, clique em <b>Set Bond Type</b> e selecione o tipo de ligação.
Excluir uma ligação	Clique com o botão direito em uma ligação e clique em <b>Remove Bond</b> .
Alterar o estado de carga de um átomo existente	Clique com o botão direito no átomo, clique em <b>Atom Charge State</b> e selecione o estado.

**Dica!** Para salvar a estrutura editada como um arquivo separado, clique em **Save As**.

---

**Dica!** As estruturas podem ser salvas como arquivos mol ou sdf. Digite a extensão apropriada na caixa de diálogo Save As.

---

## Carregar uma sequência

1. No painel Workspace, clique em **Results**.
2. Clique em **Open**.  
É aberta a caixa de diálogo Open Results.
3. Navegue até um arquivo Results de peptídeos e o selecione.
4. Clique em **OK**.
5. No campo **Show**, selecione **Interpretation**.
6. Selecione uma linha na tabela Potential Metabolites.
7. No painel Structure, clique em **Load** e selecione a opção **Load Sequence**.  
O painel Sequence é preenchido com a sequência principal do metabólito selecionado.
8. Escolha o resíduo a ser conjugado, clique com o botão direito e selecione **Mark Residue to Conjugate**.  
O resíduo selecionado é exibido em roxo.
9. Se forem necessárias alterações, edite a sequência. Consulte a seção: [Editar uma sequência](#).

## Editar uma sequência

Depois que uma sequência de um metabólito específico é criada ou carregada, ela pode ser editada.

1. Clique na sequência na qual as alterações são necessárias.
2. Faça as devidas alterações. Consulte a seção: [Convenções de nomenclatura de sequência de peptídeos](#).

## Definir opções

1. Na exibição Interpretation, clique em **Options**.  
A caixa de diálogo Options é aberta.
2. Modifique os parâmetros de fragmentação e identificação conforme descrito na tabela: [Tabela 8-21](#).

**Tabela 8-21: Caixa de diálogo Options**

Opção	Descrição
<b>Number of fragment peaks selected for structure assignment</b>	Use este campo para especificar o número de picos de fragmentos que serão atribuídos à parte da estrutura do ADC. Se for um subconjunto do número total de picos, os picos serão escolhidos por ordem de intensidade.

Tabela 8-21: Caixa de diálogo Options (continuação)

Opção	Descrição
<b>Minimum signal-to-noise ratio</b>	Use este campo para especificar o limite usado para atribuir picos de fragmentos. Os picos abaixo desse limite não serão atribuídos.
<b>MS/MS m/z tolerance (ppm or mDa)</b>	Use este campo para especificar a tolerância de <i>m/z</i> do MS/MS, em ppm ou mDa. Para que seja atribuída uma fórmula e possivelmente uma estrutura ao pico de fragmentos, sua precisão de massa precisa estar dentro da tolerância de <i>m/z</i> do MS/MS especificada.
<b>Structure Fragmentation Settings</b>	
<b>Break aromatic rings</b>	Marque esta caixa de seleção para romper o anel aromático.
<b>Maximum number of bonds to break</b>	Use este campo para especificar o número máximo de ligações a serem rompidas. As opções incluem: <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>	Use este campo para especificar o número máximo de ligações C-C a serem rompidas. As opções incluem: <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>	Selecione o tipo de fragmento apropriado. É possível selecionar vários tipos. As opções incluem: <ul style="list-style-type: none"> <li>• a</li> <li>• b</li> <li>• y</li> </ul>

Tabela 8-21: Caixa de diálogo Options (continuação)

Opção	Descrição
<b>Maximum number of bonds to break</b>	Use este campo para especificar o número máximo de ligações a serem rompidas. As opções incluem: <ul style="list-style-type: none"> <li>• 1</li> <li>• 2</li> <li>• 3</li> </ul> <hr/> <p><b>Nota:</b> Para os peptídeos mais complexos, se for selecionado 3 como o número máximo de ligações a serem rompidas, o tempo necessário de processamento será maior.</p>
<b>Break linkages</b>	Se houver ligações na sequência de peptídeos, marque esta caixa de seleção para permitir a ruptura das ligações entre aminoácidos individuais.
<b>Label Settings</b>	
<b>Label peaks with</b>	Use este campo para especificar as informações que devem ser exibidas nos rótulos de pico. As opções incluem: <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>	Marque esta caixa de seleção para aplicar as opções atuais a todos os metabólitos não atribuídos.

## Atribuir íons de fragmento à estrutura e à sequência

**Nota:** as regras de fragmentação estão incorporadas ao software e não podem ser editadas.

1. No painel Workspace, clique em **Results**.  
É aberto o espaço de trabalho Results.
2. Clique em **Open**.  
É aberta a caixa de diálogo Open Results.
3. Navegue até o arquivo apropriado e o selecione.
4. Clique em **OK**.  
É aberta a exibição Results.
5. No campo **Show**, selecione **Interpretation**.

## Caracterizar dados MS/MS

---

6. Carregue uma estrutura e uma sequência. Consulte as seções: [Carregar uma estrutura](#) e [Carregar uma sequência](#).

---

**Nota:** apenas uma das estruturas ou sequências deve ser carregada. Este procedimento foi elaborado com base no pressuposto de que ambas foram carregadas.

---

7. No painel Structure, clique em **Assign**.

Ambas as exibições, Structure e Sequence, abaixo do espectro TOF MS/MS são preenchidas, com a exibição Structure aberta, por padrão.

---

**Nota:** se apenas a estrutura principal tiver sido carregada, a exibição Structures da tabela Fragments será aberta. Se apenas a sequência principal tiver sido carregada, a exibição Sequences da tabela Fragments será aberta.

---

Na exibição Structure, a tabela Fragments é preenchida com os fragmentos identificados, a tabela Structure Details é preenchida com as estruturas potenciais e a tabela Contained Neutral Losses é preenchida com as perdas neutras contidas. Os resultados são baseados nas opções selecionadas. Consulte a seção: [Definir opções](#). As linhas verticais azul-claras, que identificam os íons correspondentes na tabela Fragments, são adicionadas ao painel MS/MS.

---

**Nota:** se a estrutura não tiver resultados de interpretação, será exibida a informação `No structures assigned` na tabela Fragments.

---

O rótulo acima da tabela Fragments indica:

- **Assigned:**  $a$  de  $b$  picos (estrutura:  $x$ , sequência:  $y$ ), em que  $a$  é a soma de " $x$ " e " $y$ " e indica o número de picos que foram atribuídos,  $b$  indica o número total de picos,  $x$  indica o número de linhas na exibição Structures e  $y$  indica o número de linhas na exibição Sequences.
- **MSMS Peak Area Assigned:**  $w\%$ , em que  $w$  indica a área de porcentagem dos picos atribuídos dos dados espectrais.

A tabela Fragments contém uma coluna **Use as Conjugate**. Essa coluna contém uma marca em cada linha da tabela. Se a caixa de seleção estiver disponível para seleção, um haverá um local de anexo na estrutura proposta para o fragmento. Se essa caixa não estiver disponível para seleção, não haverá um local de anexo. Se a caixa de seleção for marcada, o fragmento será usado na conjugação com a sequência. Se essa caixa não for marcada, o fragmento não será usado. Por padrão, são selecionados três fragmentos, no máximo, que contêm um local de anexo, com base na precisão e abundância. A primeira linha da tabela é selecionada, por padrão.

8. Certifique-se de que a exibição Structures esteja selecionada.
9. Se for apropriado, clique com o botão direito em cada uma das tabelas Fragments, Structure Details e Contained Neutral Losses e clique em **Show Hidden Rows**.

**Nota:** na tabela Fragments, a linha que contém a pontuação mais alta para o valor de  $m/z$  apresenta a caixa de seleção **Use** marcada. Na tabela Structure Details, a linha com a pontuação mais alta apresenta a caixa de seleção **Use** marcada. Na tabela Contained Neutral Losses, todas as linhas apresentam a caixa de seleção **Use** marcada.

10. Na tabela Fragments, marque a caixa de seleção **Use** para identificar a linha que contém a fórmula mais precisa para cada valor de  $m/z$ .

**Dica!** Marque a caixa de seleção **Use** em mais de uma linha para selecionar várias fórmulas potenciais para cada fragmento.

O valor de  $m/z$  atribuído é exibido em negrito e itálico.

11. Na tabela Structure Details, marque a caixa de seleção **Use** para identificar as partes da estrutura que correspondem com mais precisão à fórmula selecionada.
12. Na tabela Contained Neutral Losses, marque a caixa de seleção **Use** para identificar a linha que reflete com mais precisão as perdas neutras contidas.

**Dica!** Nas tabelas Structure Details e Contained Neutral Losses, marque a caixa de seleção **Use** em mais de uma linha para um fragmento específico.

13. Selecione a exibição Sequences.

Na exibição Sequence, a tabela Fragments é preenchida com os resultados da interpretação, com base nas opções selecionadas (consulte a seção: [Definir opções](#)), nos conjugados selecionados na exibição Structures, nas seleções feitas na guia Product Ions and Neutral Losses em Compound-Specific Parameters (consulte a seção: [Guia Product Ions and Neutral Losses](#)), e na sequência. As linhas verticais verdes, que identificam os íons correspondentes na tabela Fragments, são adicionadas ao painel MS/MS.

**Nota:** se a sequência não tiver resultados de interpretação, será exibida a informação `No sequences assigned` na tabela Fragments.

O rótulo acima da tabela indica:

- Atribuído: a de b picos (estrutura: x, sequência: y), em que "a" é a soma de "x" e "y" e indica o número de picos que foram atribuídos, "b" indica o número total de picos, "x" indica o número de linhas na guia **Structures** e "y" indica o número de linhas na guia **Sequences**.
- **MSMS Peak Area Assigned: w%**, em que w indica a área de porcentagem dos picos atribuídos dos dados espectrais.

14. Se for apropriado, clique com o botão direito na tabela Fragments e clique em **Show Hidden Rows**.

**Nota:** na tabela Fragments, a linha que contém a pontuação mais alta para o valor de  $m/z$  apresenta a caixa de seleção **Use** marcada.

## Caracterizar dados MS/MS

---

15. Na tabela Fragments, marque a caixa de seleção **Use** para identificar a linha que contém a fórmula mais precisa para cada valor de  $m/z$ .

---

**Dica!** Marque a caixa de seleção **Use** em mais de uma linha para selecionar várias fórmulas potenciais para cada fragmento.

---

O valor de  $m/z$  atribuído é exibido em negrito e itálico.

16. Depois que todas as alterações forem feitas, clique em **Apply**. Os dados da interpretação são salvos para o metabólito selecionado.
17. Clique em **Save**.

---

**Dica!** Para excluir todos os dados da interpretação de um metabólito específico, clique em **Remove**.

---

## Sobre identificações de pico

Um pico pode ser identificado com:

- uma fórmula ou tipo de íon (para um peptídeo);
- uma fórmula ou tipo de íon (para um peptídeo) e erro de ppm;
- uma fórmula ou tipo de íon (para um peptídeo) e erro de mDa;
- uma fórmula ou tipo de íon (para um peptídeo) com carga.

### Adicionar rótulo de pico ao espectro MS/MS

1. Na exibição Interpretation, clique em **Options**. A caixa de diálogo Options é aberta.
2. No campo **Label peaks with**, selecione o tipo de rótulo.
3. Clique em **OK**.
4. Escolha uma das seguintes opções:

**Tabela 8-22: Adicionar rótulos de pico**

Para identificar um pico	Para identificar todos os picos
Na tabela Fragments, selecione a linha que contém o pico a ser identificado.	Clique em 
Clique em  .	—

---

**Dica!** Para remover todos os rótulos do espectro MS/MS, clique em .

---

## Sobre os filtros de interpretação para ADC

Aplique filtros para refinar mais os dados mostrados na tabela Fragments. Para abrir a caixa de diálogo Interpretation Filters, clique no ícone  na tabela Fragments.

Filtro	Descrição
<b>Rings and Double Bonds</b>	
<b>RDB</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Integer value (even-electron)</b>: mostra somente fragmentos com valor inteiro para anéis e ligações duplas.</li> <li>• <b>Non-integer value (odd-electron)</b>: mostra somente fragmentos com valor não inteiro para anéis e ligações duplas.</li> </ul>
<b>Mass Range</b>	
<b>m/z from ___ to ___</b>	Mostra somente fragmentos com um valor de <i>m/z</i> que está dentro do intervalo especificado.
<b>Charge Range</b>	
<b>Charge from ___ to ___</b>	<p>Mostra somente fragmentos com uma carga que está dentro do intervalo especificado. As opções incluem:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>From range</b>: de 1 a 10, inclusive</li> <li>• <b>To range</b>: de 1 a 10, inclusive</li> </ul> <hr/> <p><b>Nota:</b> o valor máximo do intervalo precisa ser maior ou igual ao valor mínimo do intervalo.</p> <hr/>
<b>Ion Type</b>	
<b>Fragment type</b>	<p>Selecione o tipo de fragmento apropriado. É possível selecionar vários tipos. As opções incluem:</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 somente fragmentos com precisão de massa que está dentro do intervalo especificado.</p> <hr/> <p><b>Nota:</b> dependendo da seleção feita na caixa de diálogo Options, a precisão de massa será medida em mDa ou em ppm.</p> <hr/>
<b>Intensity</b>	

## Caracterizar dados MS/MS

---

Filtro	Descrição
Intensity above __ cps	Mostra somente fragmentos com valor de intensidade que está acima do valor especificado.
<b>Score</b>	
Score above	Mostra somente fragmentos com pontuação que está acima do valor especificado.
<b>Estruturas</b>	
Fragments with assigned structures	Mostra somente fragmentos associados a estruturas.

## Interpretação automática

### Interpretação automática



[Fluxo de trabalho de moléculas pequenas](#)



[Fluxos de trabalho de peptídeos](#)

## Fluxo de trabalho de moléculas pequenas

A geração automática de estruturas pode ser iniciada das seguintes maneiras:

- No espaço de trabalho Batch, marque a caixa de seleção **Apply Options** para aplicar todas as opções de atribuição automática selecionadas na caixa de diálogo Batch Processing Options às amostras e amostras de controle do lote. Pelo menos a opção Assign Structures or Sequences precisa estar selecionada. Consulte a seção: [Opções de processamento de lote](#).
- Na exibição Interpretation do espaço de trabalho Results, clique em **Generate** no painel MS/MS.

## Fluxos de trabalho de peptídeos

A geração automática de sequências pode ser iniciada das seguintes maneiras:

- No espaço de trabalho Batch, marque a caixa de seleção **Options** para aplicar todas as opções **Auto Assign** selecionadas na caixa de diálogo Batch Processing Options às amostras e amostras de controle do lote. Pelo menos a opção **Assign Structures or Sequences** precisa estar selecionada. Consulte a seção: [Opções de processamento de lote](#).
- Na exibição Interpretation do espaço de trabalho Results, clique em **Generate** no painel MS/MS.

## Alternar entre sequências

Clique em uma barra azul no histograma.

A sequência correspondente é exibida no painel Sequence, e a tabela Fragments é atualizada com as informações relacionadas à sequência selecionada. O rótulo acima do painel Sequence é atualizado para indicar o número da sequência e a classificação atribuída. Por exemplo, Sequência x de y, classificação = z.

## Selecionar um painel vazio

Clique na primeira linha do histograma.

A primeira linha do histograma contém as palavras `No sequence`. O painel Sequence é limpo e a tabela Fragments é atualizada com as palavras `No sequence assigned` exibidas.

## Adicionar uma sequência

---

**Nota:** somente uma sequência pode ser adicionada à lista de sequências geradas automaticamente. Se mais uma sequência for incluída, a sequência anterior adicionada pelo usuário será sobrescrita.

---

1. No painel Sequence, clique em **Enter Sequence**.  
O painel Sequence é limpo e a tabela Fragments é atualizada com as palavras `No sequence assigned` exibidas.
2. Clique em **Load Parent**.  
A sequência principal é exibida no painel Sequence e na guia **Parent Sequence** do painel Sequence charts.
3. Pressione **Tab** para validar a sequência principal.

Um sublinhado é adicionado à sequência para indicar que ela é válida. Um novo histograma é criado na guia Sequence Candidates, exibindo a sequência adicionada pelo usuário na linha logo acima da primeira sequência gerada automaticamente. A classificação da sequência adicionada pelo usuário será 0. A barra azul vai abranger toda a largura da tabela. No entanto, a porcentagem não será mostrada na barra. O tom de azul da linha de sequência carregada será ligeiramente diferente do azul das linhas que contêm as sequências geradas automaticamente. O número de sequências propostas aumentará em um.

A sequência adicionada pelo usuário pode ser editada. Qualquer alteração feita na sequência será mantida na memória quando o usuário sair do painel Sequence.

## Selecionar uma sequência para exibir

Clique em uma barra azul no histograma.

A sequência correspondente é exibida no painel Sequence. A tabela Fragments é atualizada com as informações relacionadas à sequência selecionada. O rótulo acima do painel Sequence é atualizado para indicar o número da sequência e a classificação atribuída. Por exemplo, Sequência x de y, classificação = z.

## Excluir uma sequência

1. Clique em uma barra azul no histograma.  
A sequência correspondente é exibida no painel Sequence.

## Caracterizar dados MS/MS

---

2. No painel Sequence, clique em **Delete**.  
A sequência é removida do painel Sequence e a linha é removida do histograma. A sequência da linha seguinte no histograma é exibida no painel Sequence, e a tabela Fragments é atualizada com as informações relacionadas à sequência selecionada.

Quando são encontrados metabólitos potenciais em várias amostras de interesse, os resultados de cada amostra podem ser comparados. Isso permite que o usuário veja as diferenças e as semelhanças entre os metabólitos potenciais gerados por vários arquivos Results. Os metabólitos de diferentes arquivos Results serão considerados idênticos se eles corresponderem à razão massa-carga e às tolerâncias de tempo de retenção definidas na caixa de diálogo Correlate Results.

Nos fluxos de trabalho de oligonucleotídeos, o software pode agrupar metabólitos de carga múltipla com a mesma massa neutra e dentro da tolerância de tempo de retenção em uma única entrada no espaço de trabalho Correlation. Esse recurso é chamado de agrupamento. Para ativar o recurso, selecione **Group results by analyte** ao correlacionar os resultados. Quando o recurso é ativado, as espécies de carga múltipla são mescladas, facilitando a comparação em todos os arquivos Results.

---

**Nota:** ative o recurso de agrupamento antes de correlacionar os arquivos Results.

---

## Preparar a correlação

1. Clique em **File > New > Correlation**.  
É aberta a caixa de diálogo Correlate Results.
2. Clique em **Add Results**.  
É aberta a caixa de diálogo Open Results.
3. Navegue até os arquivos apropriados e os selecione.

---

**Nota:** os arquivos selecionados podem conter diferentes compostos. Os dados de análogos não são necessários à correlação.

---

4. Preencha os campos **X-axis title** e **X-axis units**.  
Isso atribui um rótulo ao eixo X dos gráficos no espaço de trabalho Correlation.
5. Digite um valor único ao lado de cada arquivo Results no campo correspondente ao rótulo do eixo X. Por exemplo, se o rótulo atribuído na etapa 4 for **Time**, digite o tempo para cada arquivo Results no campo **Time**.
6. Selecione **Include RRF in % area determination**, se for apropriado.

---

**Nota:** não selecione ambos, **Include RRF in % area determination** e **Group results by analyte**.

---

Se esta opção for selecionada, a área MS será multiplicada pelo [Fator de resposta relativa](#). A alteração na área é exibida nas exibições de gráfico linear, gráfico de barras e tabela do painel Correlations Details. A alteração não é exibida na tabela Potential Metabolites.

## Correlacionar resultados

---

7. (Fluxo de trabalho de oligonucleotídeos) Se necessário, selecione **Group results by analyte** para agrupar picos com base na massa neutra.
8. Personalizar a correlação. Consulte a seção: [Personalizar a correlação](#).
9. No campo **Correlation file name**, digite um nome para o arquivo.

---

**Nota:** não inclua espaços no nome do arquivo.

---

10. Para selecionar um local específico para salvar o arquivo de correlação, clique em **Browse** e selecione a pasta apropriada.
11. Clique em **OK**.  
O software compara os metabólitos encontrados nos arquivos selecionados e exibe os resultados no espaço de trabalho Correlation.

---

**Dica!** A mesma correlação pode ser processada usando configurações diferentes. No espaço de trabalho Correlation, clique em **Correlate Results**.

---

## Personalizar a correlação

Depois de selecionar os arquivos para correlação, edite os valores dos parâmetros na caixa de diálogo Correlation Results para melhorar os resultados.

## Melhorar o alinhamento de picos

Os tempos de retenção de arquivos Results individuais podem ser mudados para correlacionar melhor os arquivos selecionados.

1. Antes de correlacionar resultados:
  - a. Abra cada um dos arquivos Results apropriados no espaço de trabalho Results.
  - b. Analise o tempo de retenção de um metabólito específico que aparece em todos os arquivos.
2. Com base na mudança exibida no arquivo Results, na caixa de diálogo Correlate Results, digite um valor no campo **R.T. Shift (min)** ao lado do arquivo específico.

---

**Nota:** o campo **R.T. Shift (min)** aceita valores de -2,00 a 2,00 minutos.

---

## Definir mesclagem de picos

As tolerâncias específicas permitem que picos com valores semelhantes sejam considerados o mesmo pico.

1. Abra cada um dos arquivos Results no espaço de trabalho Results.
2. Identifique o tempo de retenção e a tolerância de massa de um metabólito específico exibido em todos os arquivos.
3. Na caixa de diálogo Correlate Results, no grupo Tolerances, digite um valor no campo **Retention time**.

**Nota:** o campo **Retention time** aceita valores entre 0,01 e 0,25 minutos.

4. Digite um valor no campo **MS m/z** e selecione **ppm** ou **mDa** como a unidade de medida.

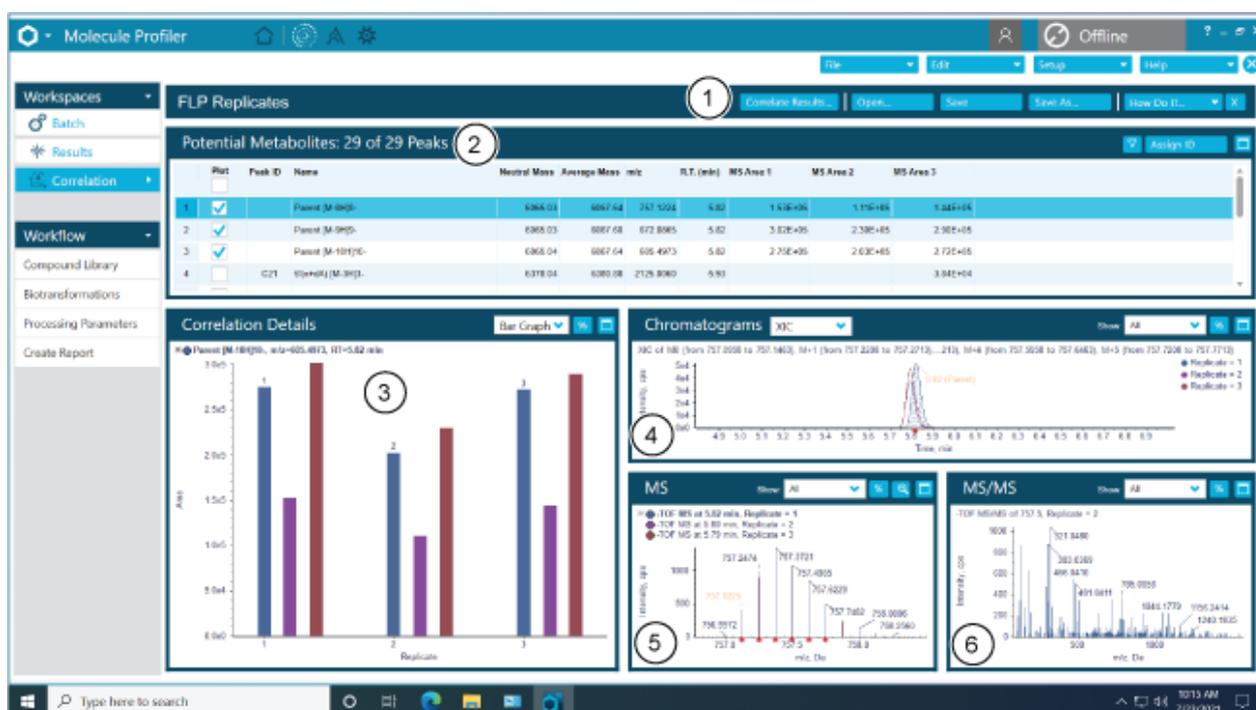
**Nota:** nos fluxos de trabalho de oligonucleotídeos, se a opção **Group results by analyte** for selecionada, apenas **ppm** estará disponível.

**Nota:** o campo **MS m/z** aceita valores entre 0,1 e 250,0.

## Sobre o espaço de trabalho Correlation

O espaço de trabalho Correlation mostra a comparação de metabólitos potenciais que foram encontrados nos arquivos Results selecionados.

Figura 9-1: Espaço de trabalho Correlation



## Correlacionar resultados

---

Item	Descrição
1	<p>Barra de menus. A barra de menus contém estes botões:</p> <ul style="list-style-type: none"><li>• <b>Correlate Results</b>: abre a caixa de diálogo Correlate Results. Consulte a seção: <a href="#">Preparar a correlação</a>.</li><li>• <b>Open</b>: abre a caixa de diálogo Open Correlation para os usuários navegarem até os arquivos de correlação apropriados.</li><li>• <b>Save</b>: salva o arquivo de correlação aberto no momento. Substitui automaticamente a versão existente.</li><li>• <b>Save As</b> : salva o arquivo de correlação aberto no momento. Opcionalmente, selecione a pasta de destino e atribua um novo nome ao arquivo de correlação.</li></ul>
2	<p>Painel Potential Metabolites. Lista todos os picos correlacionados com base nas tolerâncias definidas. Cada linha lista um metabólito potencial correlacionado, a <b>MS Area</b> e a <b>Analog Area</b>, se aplicável, dos arquivos Results. Uma célula de <b>MS Area</b> vazia indica que o metabólito não foi encontrado no arquivo Results específico. Uma célula de <b>Analog Area</b> vazia indica que o metabólito não foi encontrado no arquivo Results ou que a resposta de análogos foi zero.</p> <p>O painel contém estes botões:</p> <ul style="list-style-type: none"><li>• <b>Select values to filter peaks from the results.</b> (): abre a caixa de diálogo Correlation Filters para os usuários definirem valores que vão filtrar informações que não atenderem aos critérios dos resultados. Consulte a seção: <a href="#">Sobre os filtros de correlação</a>.</li><li>• <b>Assign ID</b>: atribui um identificador único a cada pico na tabela Potential Metabolites com base no tempo de retenção e no valor de <i>m/z</i>.</li></ul>

Item	Descrição
3	<p>Painel Correlation Details. Permite que os usuários comparem metabólitos correlacionados. Consulte a seção: <a href="#">Comparar metabólitos correlacionados</a>. Diferentes metabólitos e arquivos Results podem ser selecionados. Os dados MS e de análogos podem estar presentes nos seguintes formatos:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Linear Graph</b> ou <b>Bar Graph</b>: compara a intensidade de cada metabólito em cada um dos arquivos Results nos quais eles foram encontrados.</li> <li>• <b>Table</b>: identifica os arquivos Results nos quais cada metabólito foi encontrado. Os usuários podem também selecionar para mostrar a ocorrência, o ID de pico ou a área de pico na tabela.</li> </ul> <hr/> <p><b>Nota:</b> se um fator de resposta relativa tiver sido aplicado na preparação da correlação, os dados MS quantitativos serão mostrados nos gráficos lineares e nos gráficos de barras.</p> <hr/>
4	Painel Chromatograms: mostra um cromatograma de íons extraídos (XIC) ou um cromatograma de análogos do metabólito selecionado. Os cromatogramas podem incluir dados de um ou de todos os arquivos Results que contêm o metabólito.
5	Painel MS: mostra o espectro MS da amostra de interesse de um ou de todos os arquivos Results que contêm o metabólito selecionado.
6	Painel MS/MS: mostra o espectro MS/MS do metabólito selecionado de um ou de todos os arquivos Results que contêm esse metabólito.

**Nota:** se os resultados da correlação forem agrupados, não serão mostrados os espectros MS e MS/MS cromatográficos.

## Editar o nome de um metabólito correlacionado

1. No painel Workspace, clique em **Correlation**.  
É aberto o espaço de trabalho Correlation.
2. Clique em **Open**.  
É aberta a caixa de diálogo Open Correlation.
3. Navegue até o arquivo de correlação apropriado e o selecione.
4. Selecione uma linha na tabela Potential Metabolites.
5. Clique em **Edit > Edit Name**.  
É aberta a caixa de diálogo Edit Name.
6. Digite o novo nome do metabólito.
7. Clique em **OK**.

## Correlacionar resultados

---

O nome do metabólito muda para o novo valor.

# Comparar metabólitos correlacionados

Depois de correlacionar os metabólitos contidos em vários arquivos Results, os usuários podem comparar os metabólitos específicos selecionados mais detalhadamente.

1. No painel Workspace, clique em **Correlation**.  
É aberto o espaço de trabalho Correlation.
2. Clique em **Open**.  
É aberta a caixa de diálogo Open Correlation.
3. Navegue até o arquivo apropriado e o selecione.
4. Na tabela Potential Metabolites, marque a caixa de seleção **Plot** ao lado dos metabólitos potenciais que vão ser comparados.  
Os metabólitos são exibidos no painel Correlation Details.
5. Para alterar o fator de resposta relativa de um metabólito específico, digite um valor no campo **RRF**.

No gráfico linear e gráfico de barras, a área MS e a área de análogos, se aplicável, são multiplicadas pelo valor RRF.

---

**Nota:** este campo só será exibido se um fator de resposta relativa tiver sido usado na preparação da correlação.

---

6. Para exibir dados de análogos no painel Correlation Details, clique em **Analog data**.
7. Para identificar os arquivos que contêm os metabólitos selecionados, selecione **Table** no painel Correlation Details.
8. Para exibir dados normalizados, clique em .

---

**Dica!** Os dados normalizados podem ser exibidos no gráfico linear, gráfico de barras, XIC, cromatograma de análogos, espectro MS e espectro MS/MS.

---

9. Para reatribuir os IDs de pico dos metabólitos potenciais nos arquivos correlacionados, com base no tempo de retenção e no valor de  $m/z$ , clique em **Assign ID**.

## Sobre os filtros de correlação

Aplique filtros para refinar mais os dados mostrados na tabela Correlation. Clique no ícone  para abrir a caixa de diálogo Correlation Filters ou clique em **Setup > Filters > Correlation**.

Filtro	Descrição
<b>Mass Range</b>	
<b>m/z from</b> __ <b>to</b> __	Mostra somente picos com um valor de $m/z$ que está dentro do intervalo especificado.

---

Filtro	Descrição
<b>Retention Time</b>	
R.T. from __ to __	Mostra somente picos com um tempo de retenção que está dentro do intervalo especificado.
<b>Occurrence</b>	
Peaks in __ or more results files	Mostra somente picos que são exibidos no número especificado de arquivos Results. <b>Nota:</b> o valor máximo depende do número de arquivos selecionados para a correlação. Por exemplo, se forem selecionados cinco arquivos Results para a correlação, poderão ser selecionados, no máximo, cinco ocorrências de pico.

Para gerar relatórios com o software, o Microsoft Word 2010 ou superior precisa estar instalado no computador.

Os usuários podem criar relatórios no Adobe PDF, Microsoft Word e HTML. Um relatório também pode ser enviado diretamente para uma impressora.

Os seguintes modelos de relatório estão instalados com o software na pasta C:\ProgramData\SCIEX\Molecule Profiler\Report Templates:

- Pasta Correlation
  - Relatório detalhado da correlação
  - Relatório resumido da correlação
  - Relatório de grupo de correlação
- Pasta ResultsAndInterpret
  - Relatório detalhado da interpretação
  - Relatório resumido da interpretação
  - Relatório detalhado dos resultados
  - Relatório resumido dos resultados
- Pasta ResultsAndInterpret\_ADC
  - Relatório detalhado da interpretação
  - Relatório resumido da interpretação
  - Relatório detalhado dos resultados
  - Relatório resumido dos resultados
- Pasta ResultsAndInterpret\_Peptides
  - Relatório detalhado da interpretação
  - Relatório resumido da interpretação
  - Relatório detalhado dos resultados
  - Relatório resumido dos resultados
- Pasta ResultsAndInterpret\_Oligo
  - Relatório detalhado da interpretação
  - Relatório resumido da interpretação
  - Relatório detalhado dos resultados
  - Relatório resumido dos resultados

Embora cada relatório possa conter várias informações, ele só exibe o conteúdo do arquivo Results que está sendo usado no momento em que o relatório é gerado. Se o arquivo Results não contiver informações específicas, por exemplo, enriquecimento isotópico, o relatório gerado não apresentará esse conteúdo e, na maioria dos casos, não conterá um rótulo de campo ou cabeçalho desse conteúdo. Todos os filtros aplicados à tabela Potential Metabolites ou Fragments são refletidos no relatório. Por exemplo, se a tabela Potential Metabolites for filtrada para exibir somente os 5 primeiros dos 23 picos, apenas esses 5 serão incluídos no relatório.

Todos os gráficos ou espectros incluídos no relatório são exibidos no nível de zoom padrão, independentemente do nível de zoom selecionado na interface do usuário. Todos os gráficos de correlação são relatados com dados não normalizados.

---

**Nota:** ao criar modelos personalizados de relatório de correlação para usar com dados agrupados, certifique-se de incluir "grouped" no nome do arquivo.

---

## Criar um relatório no espaço de trabalho Results

É possível criar um relatório para cada um dos resultados de moléculas pequenas, peptídeos e ADC.

1. No painel Workspace, clique em **Results**.  
É aberto o espaço de trabalho Results.
2. Clique em **Open**.  
É aberta a caixa de diálogo Open Results.
3. Navegue até o arquivo apropriado e o selecione.
4. Clique em **OK**.  
É aberta a exibição Results.
5. Na coluna **Report**, marque a caixa de seleção correspondente a cada metabólito a ser incluído no relatório.  
Os metabólitos que não são selecionados não são incluídos no relatório gerado.
6. No painel Workflow, clique em **Create Report**.  
A caixa de diálogo Create Report é aberta.
7. Selecione um modelo para o relatório no campo **Available templates**.  
Para obter uma lista de modelos, consulte a seção: [Relatórios](#).
8. Marque as caixas de seleção **Formats** apropriadas para criar as versões necessárias dos arquivos de relatório ou para imprimir o relatório.

---

**Nota:** é possível selecionar vários formatos.

---

9. Para cada versão de formato selecionada, clique em **Browse** e, na caixa de diálogo Browse For Folder, navegue até um local de armazenamento específico e selecione-o para o arquivo de relatório.

## Relatórios

---

10. Clique em **OK**.  
A caixa de diálogo Browse For Folder é fechada.
11. Para cada versão de formato selecionada, digite um nome para o relatório no campo fornecido.
12. (Fluxo de trabalho de oligonucleotídeos) Marque ou desmarque a caixa de seleção **Report grouping table for Results**, conforme necessário.
13. Clique em **Generate Report**.
14. Se a opção **Print report** for marcada, selecione as opções de impressão necessárias na caixa de diálogo Print e clique em **OK**.  
O software gera o relatório.

## Criar um relatório no espaço de trabalho Correlation

É possível criar um relatório de correlação para cada um dos resultados de moléculas pequenas, peptídeos e ADC.

1. No painel Workspace, clique em **Correlation**.  
É aberto o espaço de trabalho Correlation.
2. Clique em **Open**.  
É aberta a caixa de diálogo Open Correlation.
3. Navegue até o arquivo apropriado e o selecione.
4. Clique em **Open**.  
É aberta a exibição Correlation Results.
5. Para incluir os detalhes da correlação do metabólito de interesse no relatório, marque a caixa de seleção **Plot**.
6. No painel Workflow, clique em **Create Report**.  
A caixa de diálogo Create Report é aberta.
7. Selecione um modelo para o relatório no campo **Available templates**.

Para obter uma lista de modelos, consulte a seção: [Relatórios](#).

---

**Nota:** se o arquivo de correlação não contiver dados agrupados, estarão disponíveis apenas os modelos de relatório não agrupados. Se o arquivo de correlação contiver dados agrupados, serão exibidos apenas os modelos de relatório com "grouped" no nome do arquivo.

---

8. Marque as caixas de seleção **Formats** apropriadas para criar as versões necessárias dos arquivos de relatório ou para imprimir o relatório.

---

**Nota:** é possível selecionar vários formatos.

---

9. Para cada versão de formato selecionada, clique em **Browse** e, na caixa de diálogo Browse For Folder, navegue até um local de armazenamento específico e selecione-o para o arquivo de relatório.
10. Clique em **OK**.  
A caixa de diálogo Browse For Folder é fechada.
11. Para cada versão de formato selecionada, digite um nome para o relatório no campo fornecido.
12. Clique em **Generate Report**.
13. Se a opção **Print report** for marcada, selecione as opções de impressão necessárias na caixa de diálogo Print e clique em **OK**.  
O software gera o relatório.

## Copiar e colar um gráfico

Os gráficos podem ser copiados do espaço de trabalho Results e caixas de diálogo Compound Library e Processing Parameters.

1. Clique com o botão direito no gráfico a ser copiado e clique em **Copiar gráfico selecionado**.  
O gráfico é copiado para a área de transferência.
2. Cole o gráfico em outro aplicativo, por exemplo, Microsoft Word.

## Copiar e colar a tabela Potential Metabolites

1. Clique com o botão direito na tabela e clique em **Copy Table** no espaço de trabalho Results.  
A tabela é copiada para a área de transferência.
2. Cole a tabela no Excel.

Os dados de análogos são usados para confirmar se os metabólitos encontrados usando o espectrômetro de massa são reais e não falsos positivos. Os usuários que usam análogos de acordo com o espectrômetro de massa usarão este recurso para otimizar a integração da área de análogos e exibir melhor a associação de picos MS com picos de análogos.

Se for aberto um arquivo Results que contém dados de análogos, o botão **Analog Integration** será habilitado na tabela Potential Metabolites.

Ao clicar em **Analog Integration**, é exibida a caixa de diálogo Analog Integration.

É exibida a tabela Potential Metabolites original do espaço de trabalho Results com as seguintes exceções:

- Os picos de análogos que não têm picos de massa associados são exibidos, mas as colunas relacionadas ao MS ficam vazias.
- Uma coluna adicional, **Analog Signal in Control**, será exibida logo após a coluna **Analog - R.T. (min)** se existirem dados de controle de análogos. Se não houver dados de controle de análogos, essa coluna não será exibida.

A coluna **Analog Signal in Control** fornece as seguintes informações:

- Se o coeficiente de amostra para controle do pico de análogos for maior que o valor especificado nos parâmetros de processamento, será exibido um "x" na coluna.
- Se o coeficiente de amostra para controle do pico de análogos for menor que o valor especificado nos parâmetros de processamento, será exibida uma marca de seleção na coluna.

## Integrar dados de análogos manualmente

<b>Pré-requisitos:</b>
<ul style="list-style-type: none"><li>• Os resultados foram processados com dados de análogos.</li></ul>



1. No painel Workspace, clique em **Results**.  
É aberto o espaço de trabalho Results.
2. Clique em **Open**.  
É aberta a caixa de diálogo Open Results.
3. Navegue até o arquivo apropriado e o selecione.

---

**Nota:** o arquivo Results precisa conter um cromatograma de análogos.

---

4. Clique em **OK**.

É aberta a exibição Results. Se o arquivo Results contiver dados de análogos, o botão **Analog Integration** será habilitado na tabela Potential Metabolites. Se o arquivo Results não contiver dados de análogos, o botão não ficará disponível.

5. Clique em **Analog Integration**.

É aberta a caixa de diálogo Analog Integration.

Além da tabela Potential Metabolites, são exibidos dois cromatogramas. O primeiro cromatograma, Analog Sample, exibe todos os picos de análogos dentro do intervalo de tempos de retenção especificado na guia Chromatographic Data dos parâmetros de processamento genéricos. Consulte a seção: [Guia Chromatographic Data](#). O segundo cromatograma, o cromatograma de íons extraídos (XIC) da MS Sample, exibe todos os picos da linha selecionada. O XIC é atualizado toda vez que uma linha diferente é selecionada na tabela Potential Metabolites.

6. Selecione o cromatograma Analog Sample e conclua as seguintes tarefas, se necessário, para integrar os dados:

- integrar picos manualmente
- modificar a integração existente de picos
- remover picos

Quando são feitas alterações, o software atualiza automaticamente o cromatograma Analog Sample.

7. (Opcional) Marque a caixa de seleção **Show Controls**.

É exibido o máximo de cinco amostras de controle abaixo do título do cromatograma Analog Sample. Consulte a seção: [Mostrar controles](#).

8. (Opcional) Clique em **Baseline Subtract**.

A subtração de linha de base é aplicada à amostra de análogos e aos controles. A frase "baseline subtracted" é acrescentada ao título do cromatograma Analog Sample e aos controles. Consulte a seção: [Realizar uma subtração de linha de base](#).

9. (Opcional) Altere o **R.T. Offset**. Consulte a seção: [Alterar o desvio do tempo de retenção](#).

O desvio do tempo de retenção se aplica à amostra de análogos e aos rastreamentos de controle.

10. (Opcional) Aplique as **Options** de integração de análogos. Consulte a seção: [Definir opções de integração de análogos](#).

11. Escolha uma das seguintes opções:

- Clique em **Update Table**. Consulte a seção: [Atualizar tabela](#).
- Clique em **Update Results and Close**. Consulte a seção: [Atualizar resultados e fechar](#).

12. Escolha uma das seguintes opções:

- Clique em **Save** para salvar o arquivo Results aberto no momento e sobrescrever a versão existente.

- Clique em **Save As** para salvar o arquivo Results aberto no momento com um novo nome. O arquivo Results existente não é atualizado.

## Mostrar controles

1. No painel Chromatograms da caixa de diálogo Analog Integration, marque a caixa de seleção **Show controls**.  
Se aplicável, será exibido o máximo de cinco controles abaixo do título Analog Sample no painel Chromatograms. Se aplicável, será exibido o máximo de cinco controles abaixo do título MS Sample no painel XIC.
2. Clique no ícone  para expandir a lista e exibir a amostra e o controle de análogos ou a amostra e o controle MS.
3. Clique no ícone  para recolher a lista e exibir somente a amostra de análogos ou a amostra MS.
4. Marque a caixa de seleção **Show controls** novamente para remover os controles da exibição.

## Realizar uma subtração de linha de base

1. No painel Chromatograms da caixa de diálogo Analog Integration, clique em **Baseline Subtract**.  
O cromatograma Analog Sample tem subtração de linha de base. A subtração de linha de base é aplicada à amostra de análogos e aos rastreamentos de controle. A frase "baseline subtracted" é acrescentada ao nome do cromatograma Analog Sample.
2. Clique novamente em **Baseline Subtract** para remover a subtração de linha de base. A frase "baseline subtracted" é removida do nome do cromatograma Analog Sample.

## Alterar o desvio do tempo de retenção

No painel Chromatograms da caixa de diálogo Analog Integration, use as setas para cima e para baixo no campo **R.T. Offset** para alterar o desvio do tempo de retenção. Os picos no cromatograma da amostra de análogos são alterados pelo desvio do tempo de retenção especificado. Quando a tabela Potential Metabolites ou os resultados são atualizados, os valores na coluna **Analog R.T. (min)** são atualizados para refletir a mudança no desvio do tempo de retenção especificado. O desvio se aplica à amostra de análogos e às amostras de controle.

## Definir opções de integração de análogos

1. No painel Chromatograms da caixa de diálogo Analog Integration, clique em **Options**. É aberta a caixa de diálogo Analog Integration Options.
2. Marque a caixa de seleção de cada opção a ser aplicada.

---

Opção	Descrição
<b>Overlay XIC for peaks at the same analog retention time</b>	Sobre põe XICs da amostra MS desses traços com tempos de retenção de análogos idênticos.
<b>Link x-axis</b>	Liga o eixo X do cromatograma Analog Sample e o cromatograma XIC.

3. Clique em **OK**.

## Atualizar tabela

Quando são feitas alterações na caixa de diálogo Analog Integration, a opção **Update Table** é habilitada.

Clique em **Update Table**.

As informações das seguintes colunas da tabela Potential Metabolites são atualizadas para refletir as alterações feitas na integração de pico de análogos, tempo de retenção de análogos e subtração de linha de base:

- O **Peak ID** atribuído ao cromatograma Analog Sample pode ser atualizado para refletir qualquer integração manual. O pico de análogos será considerado correspondente a um pico MS se o tempo de retenção do pico de análogos corresponder à retenção do pico MS, com uma tolerância especificada.
- O **Analog - Peak Area** é atualizado para refletir toda nova área integrada.
- O **Analog - % Area** é atualizado para refletir todas as alterações no algoritmo. O **Analog - % Area** é calculado com base em todos os picos de análogos, os associados aos picos MS e os não associados aos picos MS, dentro do intervalo de tempo especificado nos parâmetros de processamento. Se um pico de análogos estiver associado a mais de um pico MS, a área de pico de análogos listada para um M# específico será calculada proporcionalmente com base na área XIC MS desse M#, usando como o total as áreas de pico de todos os picos MS associados.
- O **Analog - R.T. (min)** é atualizado para refletir todas as alterações no desvio do tempo de retenção.

---

**Nota:** essas alterações não são salvas no arquivo Results e podem ser revertidas clicando em **Cancel**.

---

## Atualizar resultados e fechar

Quando são feitas alterações na caixa de diálogo Analog Integration, a opção **Update Results and Close** é habilitada.

1. Clique em **Update Results and Close**.  
É exibida uma mensagem solicitando para o usuário confirmar se as informações de análogos devem ser atualizadas de acordo com as alterações feitas.

## Integração de análogos

---

### 2. Clique em **Yes**.

A caixa de diálogo Analog Integration é fechada. As informações das seguintes colunas da tabela Potential Metabolites são atualizadas para refletir as alterações feitas na integração de pico de análogos, tempo de retenção de análogos e subtração de linha de base:

- O **Peak ID** atribuído ao cromatograma Analog Sample pode ser atualizado para refletir qualquer integração manual. O pico de análogos será considerado correspondente a um pico MS se o tempo de retenção do pico de análogos corresponder à retenção do pico MS, com uma tolerância especificada.
- O **Analog - Peak Area** é atualizado para refletir toda nova área integrada.
- O **Analog - % Area** é atualizado para refletir todas as alterações no algoritmo. O **Analog - % Area** é calculado com base em todos os picos de análogos, os associados aos picos MS e os não associados aos picos MS, dentro do intervalo de tempo especificado nos parâmetros de processamento. Se um pico de análogos estiver associado a mais de um pico MS, a área de pico de análogos listada para um M# específico será calculada proporcionalmente com base na área XIC MS desse M# (usando como o total as áreas de pico de todos os picos MS associados).
- O **Analog - R.T. (min)** é atualizado para refletir todas as alterações no desvio do tempo de retenção.

Para obter ajuda na solução de um problema específico, selecione o link apropriado:

- [Não é possível abrir um arquivo de estrutura](#)
- [Alterar permissões do usuário](#)
- [Nenhum metabólito potencial encontrado](#)
- [Excesso de metabólitos potenciais encontrados](#)
- [Tempos longos de processamento](#)
- [Mostrar a pasta ProgramData](#)
- [Limitações e problemas conhecidos](#)

## Não é possível abrir um arquivo de estrutura

Certifique-se de que o arquivo de estrutura siga estas convenções:

- Formato: mol
- Versão: v2000 ou v3000
- Conteúdo: não contém texto

## Alterar permissões do usuário

Quando o software Molecule Profiler não está instalado, todos os usuários têm permissão para ler, gravar e excluir arquivos da pasta de dados do usuário instalada. Se as permissões forem alteradas, o software poderá não funcionar corretamente.

---

**Nota:** o local padrão da pasta do usuário instalada é `C:\ProgramData\SCIEX\Molecule Profiler Data`.

---

## Nenhum metabólito potencial encontrado

Para encontrar mais metabólitos na amostra de interesse:

- Selecione uma estratégia de busca de pico diferente. Consulte a seção: [Sobre estratégias de busca de pico](#).
- Diminua a intensidade cromatográfica mínima na guia Chromatographic Data. Consulte a seção: [Guia Chromatographic Data](#).
- Aumente a **MS m/z tolerance** no grupo m/z Tolerance da guia MS Parameters. Consulte a seção: [Guia MS Parameters](#).
- Diminua a **Minimum MS peak intensity** no grupo m/z Tolerance da guia MS Parameters. Consulte a seção: [Guia MS Parameters](#).

- (Fluxo de trabalho de oligonucleotídeos) Aumente a **Intensity tolerance** no grupo Isotope Pattern Tolerances da guia MS Parameters.

## Excesso de metabólitos potenciais encontrados

Para reduzir o número de metabólitos potenciais encontrados:

- Selecione uma estratégia de busca de pico diferente. Consulte a seção: [Sobre estratégias de busca de pico](#).
- Aumente a intensidade cromatográfica mínima na guia Chromatographic Data. Consulte a seção: [Guia Chromatographic Data](#).
- Reduza a janela de tempo de retenção na guia Chromatographic Data. Consulte a seção: [Guia Chromatographic Data](#).
- Reduza a janela de intervalo de massa na guia MS Parameters. Consulte a seção: [Guia MS Parameters](#).
- Aumente a **Minimum MS peak intensity** no grupo Isotope Pattern Tolerances da guia MS Parameters. Consulte a seção: [Guia MS Parameters](#).

## Tempos longos de processamento

O tempo de processamento é afetado por vários fatores, inclusive a complexidade dos dados, os parâmetros de processamento, a estação de trabalho e o sistema operacional.

Para reduzir o tempo necessário de processamento:

1. Feche todos os outros aplicativos que estiverem em execução na estação de trabalho.
2. Altere os valores de parâmetro de processamento. Por exemplo:
  - Reduza o número de algoritmos selecionados.
  - Aumente a intensidade cromatográfica mínima na guia Chromatographic Data.
  - Reduza a janela de tempo de retenção na guia Chromatographic Data.
  - Aumente a intensidade mínima de pico MS na guia MS Parameters.
  - Reduza a janela de intervalo de massa na guia MS Parameters.
  - Reduza o número de filtros de defeito de massa selecionados (somente para moléculas pequenas).
  - Reduza o número de biotransformações.
  - (Fluxos de trabalho de peptídeos, oligonucleotídeos ou ADC) Reduza o número de catabólitos gerados ajustando os parâmetros específicos do composto.

## Mostrar a pasta ProgramData

O sistema operacional Microsoft Windows pode ocultar a pasta `C:\ProgramData`. Após a instalação do software Molecule Profiler, certifique-se de que todos os usuários conseguem exibir a pasta `C:\ProgramData\SCIEX\Molecule Profiler Data`. Se a pasta não estiver visível, conclua o seguinte procedimento:

1. No File Explorer, clique em **View > Options**.  
É aberta a caixa de diálogo Folder Options.
2. Selecione a guia View.
3. Clique em **Hidden files and folder > Show hidden files, folders, or drives**.
4. Clique em **Apply**.
5. Clique em **OK**.

## Limitações e problemas conhecidos

### Dados de resultados

- Na determinação da área de pico MS, um fator de conversão de tempo 60 está agora sendo aplicado aos cálculos.

### Interpretação

- Na preparação da atribuição estrutural, sempre clique em **Find** depois de fazer alterações na caixa de diálogo Interpret Data. O software recalcula a lista de fórmulas disponíveis com base nas configurações selecionadas.

### Correlação

- Quando o fator de resposta relativa (RRF) de um metabólito específico é alterado, a área MS é multiplicada por esse valor. A área MS atualizada do metabólito selecionado é exibida no painel de detalhes da correlação, em cada um dos gráficos lineares, gráficos de barras e tabelas.

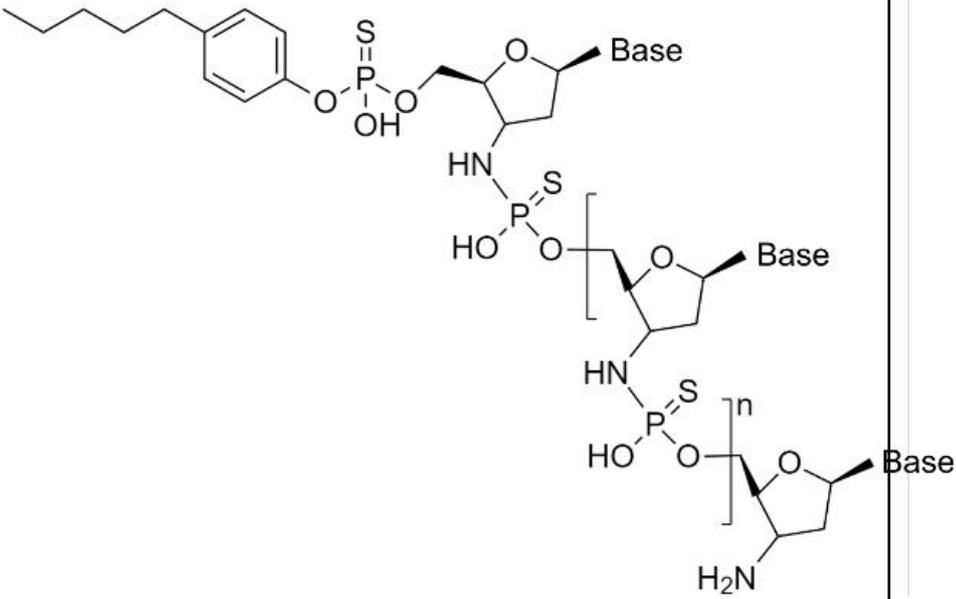
### Relatórios

- Se ocorrerem conflitos com os modelos de relatório do Microsoft Word quando os relatórios forem criados, feche todos os aplicativos do Microsoft Office e tente novamente.

# Exemplo de oligonucleotídeo personalizado

# A

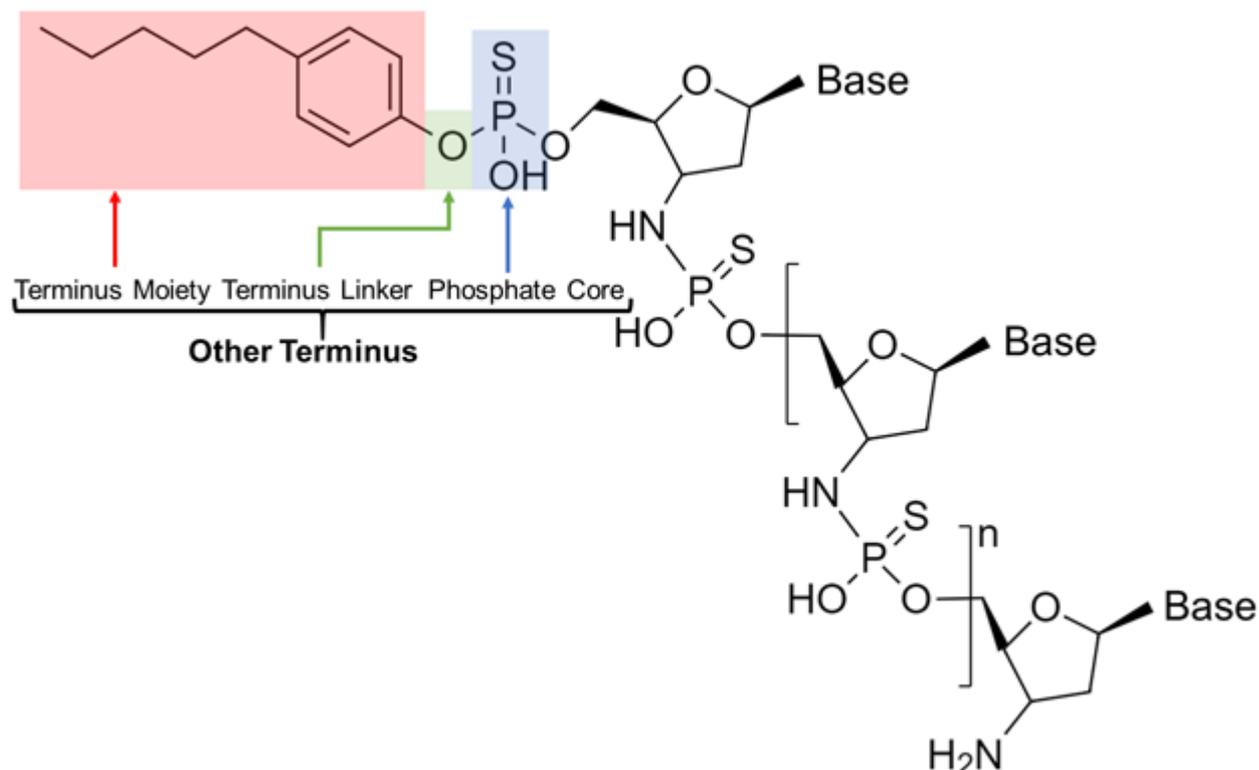
Um oligonucleotídeo tiosforamidato conjugado a um ligante benzil pentano preso à extremidade 5'-tiosfato.

Sequência	Estrutura química, fórmula e massa monoisotópica
5'- ATCGATCGTTTAAA- 3'	<b>Figura A-1: <math>C_{149}H_{203}N_{65}O_{57}P_{14}S_{14}</math> ( 4695.7400)</b> 

## Criar o outro terminal

Siga o esquema geral para identificar as subestruturas que compõem a fração ligante 5'.

Figura A-2: Outro terminal



1. Clique em **Edit > Custom Elements**.
2. Na guia Oligo List, clique em **New**.  
É aberta a caixa de diálogo New Oligo Residue or Terminus.
3. No campo **Name**, digite um nome, por exemplo 5' benzyl-pentane terminus.
4. No campo **Symbol**, digite um símbolo, por exemplo /CustomBP/.
5. No campo **Composition Type**, selecione **Other Terminus**.
6. Preencha os campos do outro terminal.

Tabela A-1: Campos de outro terminal

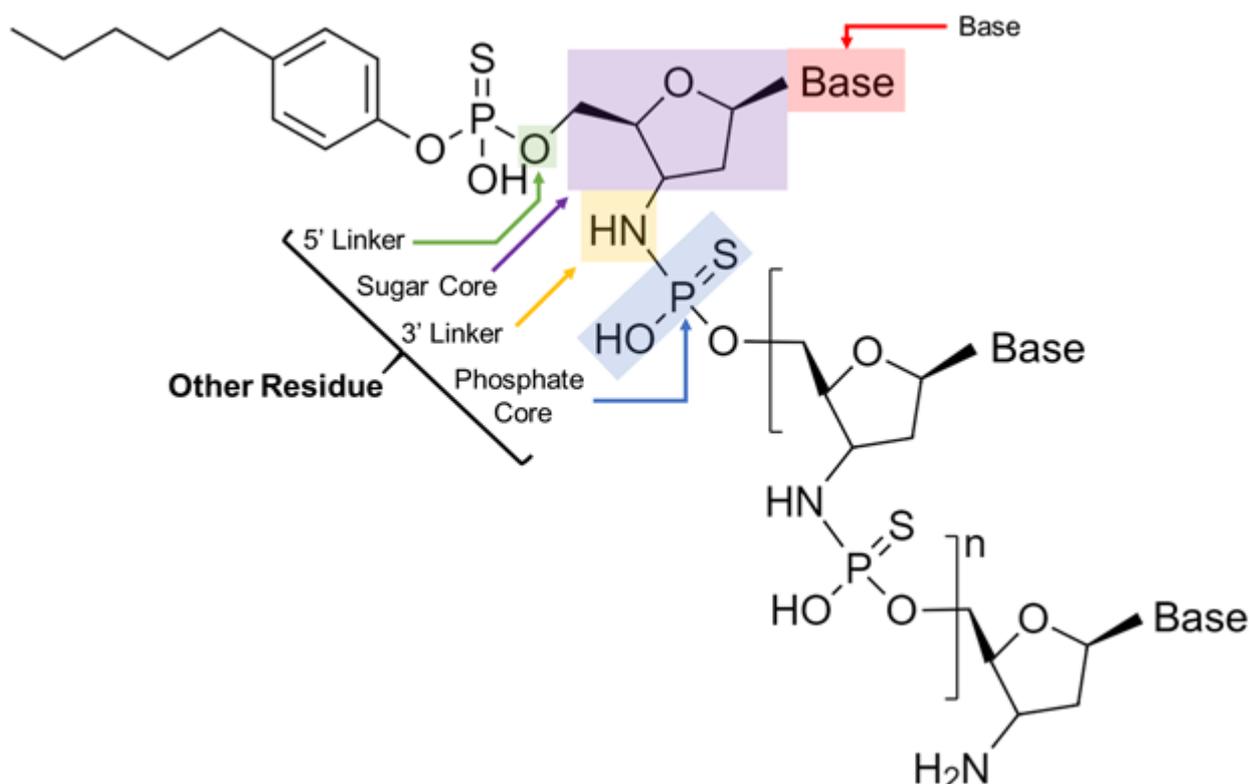
Campo	Valor
Terminus Moiety	C11H15
Terminus Linker	O
Phosphate Core	HOPS

7. Clique em **OK**.  
É exibida uma caixa de diálogo Warning com a mensagem The "Terminus Moiety" field is usually odd electron. Do you want to continue?
8. Clique em **OK**.

## Criar os resíduos internos como outros resíduos

Siga o esquema geral para identificar as subestruturas que compõem as bases personalizadas.

Figura A-3: Outro resíduo



1. Clique em **Edit > Custom Elements**.
2. Na guia Oligo List, clique em **New**.

**Dica!** Ao criar resíduos personalizados, defina os quatro nucleotídeos. É recomendável criar um só nucleotídeo e depois clicar em **New From** para criar os três nucleotídeos restantes.

É aberta a caixa de diálogo New Oligo Residue or Terminus.

3. Para o nucleotídeo de base adenina, siga estas etapas:
  - a. No campo **Name**, digite `Custom dA`.
  - b. No campo **Symbol**, digite `/CustomdA/`.
  - c. No campo **Composition Type**, selecione **Other Residue**.
  - d. Preencha os campos do outro resíduo.

Tabela A-2: Campos de outro resíduo

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

- e. Clique em **OK**.  
É exibida uma caixa de diálogo Warning com a mensagem The "Sugar Core" field is usually odd electron. Do you want to continue?
  - f. Clique em **OK**.
4. Para cada um dos três nucleotídeos restantes, faça o seguinte:
    - a. Selecione **/CustomdA/** e clique em **New From**.  
É aberta a caixa de diálogo New Oligo Residue or Terminus.
    - b. Digite **Name**, **Symbol** e **Base**. Para obter as fórmulas de base, consulte a seguinte tabela:

Tabela A-3: Fórmulas de base

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

- c. Clique em **OK**.

## Escrever uma sequência personalizada

1. Clique em **New > Oligonucleotide**.
2. No painel Sequence, digite:  
/CustomBP/ /CustomdA//CustomdT//CustomdC/ /CustomdG//CustomdA//CustomdT/ /  
CustomdC//CustomdG//CustomdT/ /CustomdT//CustomdT//CustomdA/ /CustomdA//  
CustomdA/
3. Clique no campo **Chemical formula**.  
C149H203N65O57P14S14 é exibido no campo.

## Como os metabólitos são nomeados pelo software

Os nomes são atribuídos aos metabólitos potenciais de duas maneiras: se o pico for um metabólito previsto, o nome terá como base a biotransformação correspondente, o metabólito de clivagem ou uma combinação dos dois; se o pico for um metabólito imprevisto, será chamado de Loss of ou Gain of.

O software também atribui uma fórmula potencial a cada metabólito. Os usuários podem alterar a fórmula selecionando uma fórmula diferente em uma lista de fórmulas sugeridas pelo software ou inserindo uma fórmula manualmente.

## IDA

Um método IDA encontra íons nos espectros de varredura completa durante a aquisição e decide em tempo real quais íons serão analisados por MS/MS.

## IDs de pico

O software identifica os metabólitos potenciais usando M1, M2, M3 e assim por diante, com base no tempo de retenção e valor de  $m/z$ .

## Fator de resposta relativa

O fator de resposta relativa (RRF) é um valor pelo qual a área de pico é multiplicada para aumentar ou diminuir artificialmente a área de pico. Ele pode alterar o traçado dessa área de pico no gráfico de detalhes da correlação.

## Espectro de referência

O espectro MS/MS de um composto específico que é utilizado ao identificar potenciais metabólitos.

# Entre em contato conosco

---

## Treinamento do consumidor

- Na América do Norte: [NA.CustomerTraining@sciex.com](mailto:NA.CustomerTraining@sciex.com)
- Na Europa: [Europe.CustomerTraining@sciex.com](mailto:Europe.CustomerTraining@sciex.com)
- Fora da União Europeia e da América do Norte, visite [sciex.com/education](http://sciex.com/education) para obter informações de contato.

## Centro de aprendizagem online

- [SCIEX Now Learning Hub](#)

## Suporte da SCIEX

A SCIEX e seus representantes mantêm uma equipe de atendimento totalmente treinada e especialistas técnicos localizados em todo o mundo. Eles podem responder perguntas sobre o sistema ou quaisquer problemas técnicos que possam surgir. Para obter mais informações, visite o site da SCIEX em [sciex.com](http://sciex.com) ou entre em contato conosco através de uma das seguintes maneiras:

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

## Segurança cibernética

Para obter informações sobre as orientações mais recentes sobre cibersegurança para produtos da SCIEX, visite [sciex.com/productsecurity](http://sciex.com/productsecurity).

## Documentação

Esta versão do documento substitui todas as versões anteriores deste documento.

Para visualizar este documento eletronicamente é necessário o Adobe Acrobat Reader. Para fazer download da versão mais recente, acesse <https://get.adobe.com/reader>.

As versões mais recentes da documentação estão disponíveis no site da SCIEX, em [sciex.com/customer-documents](http://sciex.com/customer-documents).

---

**Nota:** Para solicitar uma versão impressa gratuita, entre em contato com [sciex.com/contact-us](http://sciex.com/contact-us).

---