



Explorer
SCIEX OS용
자습서



본 문서는 SCIEX 장비를 구매한 고객들이 SCIEX 장비를 작동하는 데 이용할 수 있도록 제공됩니다. 본 문서는 저작권 보호를 받으며 본 문서 또는 본 문서의 어느 일부에 대한 복제도 엄격히 금지됩니다. 단, SCIEX가 서면으로 허가한 경우는 제외됩니다.

이 문서에서 설명될 수 있는 소프트웨어는 사용권 하에 제공됩니다. 사용권에서 특별히 허용된 경우를 제외하고 어떠한 수단으로든 소프트웨어를 복사, 수정 또는 배포하는 것은 법률 위반입니다. 또한, 사용권은 소프트웨어를 어떠한 목적으로든 디어셈블하거나 리버스 엔지니어링하거나 디컴파일하는 것을 금할 수 있습니다. 제품 보증은 그 안에 명시되어 있습니다.

이 문서의 일부는 다른 제조업체 및/또는 제조업체의 제품의 참조자료가 될 수 있으며, 여기에는 각 소유자의 상표에 따라 상표 및/또는 기능으로 등록된 부품의 이름이 포함될 수 있습니다. 이러한 이용의 목적은 SCIEX가 장비에 포함시키기 위해 공급하는 해당 제조업체 제품을 지명하는 것에만 국한되며, 이는 타인이 이러한 제조업체 및/또는 제조업체의 제품 이름을 상표로 이용할 수 있는 권한 및/또는 허가를 의미하거나 타인이 이러한 이름을 상표로 이용하도록 허용하지 않습니다.

SCIEX 보증은 제품 판매 또는 허가 시점에 제공되는 명시적 보증에만 국한되며 SCIEX의 독자적 및 독점적 진술, 보증 및 의무입니다. SCIEX는 법령이나 그 외의 법률 또는 거래 과정이나 거래의 관습으로 인한 발생 여부와 관계없이 상품성 보증 또는 특정 목적에 대한 적합성 보증을 포함하나 이에 국한되지 않는 명시적 혹은 암묵적 보증 등 기타 어떤 종류의 보증도 제공하지 않습니다. 이와 같은 모든 보증은 명확히 부인되며 직간접적 손해를 포함해 구매자가 여기에 설명된 장비를 사용할 수 있는 모든 용도 또는 이로 인해 발생한 모든 불리한 상황에 대해 어떠한 책임 또는 불확정 책임도 지지 않습니다.

연구 전용. 진단 절차에 사용하지 마십시오.

AB Sciex는 SCIEX로 사업을 운영하고 있습니다.

여기에서 언급된 상표는 AB Sciex Pte. Ltd. 또는 각 소유주의 재산입니다.

AB SCIEX™는 사용 허가를 받아 사용되고 있습니다.

© 2018년 AB Sciex



AB Sciex Pte. Ltd.
Blk 33, #04-06
Marsiling Ind Estate Road 3
Woodlands Central Indus. Estate.
SINGAPORE 739256

목차

1 소개	5
구성	5
옵션	6
창	6
일반 창 도구 모음	7
두 개창 도구 모음	9
그래프	11
그래프별 도구 모음	12
스펙트럼별 도구 모음	17
오버레이	18
파일 열기	19
한 샘플 파일 열기	19
여러 샘플 파일 열기	20
크로마토그램 및 스펙트럼	21
총 이온 크로마토그램(TIC)	21
스펙트럼	22
이온 추출 크로마토그램(XIC)	23
등고선 플롯 및 히트맵	23
2 크로마토그램 및 스펙트럼을 통해 작업	27
데이터 파일 열기	27
하나의 실험에 적합한 TIC 표시	29
알고 있는 분자식에 대한 XIC 나타내기	30
스펙트럼 생성 및 상호 작용	34
등고선 플롯 사용	40
요약	43
3 IDA 탐색기로 작업	45
스펙트럼 표시 및 병합	45
IDA 데이터 필터링	50
기준 스펙트럼 사용	51
요약	52
4 구조 도구로 작업	54
구조를 MS/MS 스펙트럼으로 연결	54
단편으로 사용	57
하위 구조를 스펙트럼으로 추가	62
관련된 MS/MS 스펙트럼으로 작업	63
요약	66
5 여러 샘플로 작업	67
샘플 두 개로 작업	67
두 개 이상 샘플로 작업	73

목차

요약.....	80
6 바이오 도구 키트 기능으로 작업.....	81
수동 시퀀스.....	81
펩타이드 단편과 연결된 수동 시퀀스.....	87
수동 재구성 하이라이트 추가 및 제거.....	91
단백질 소화.....	95
도구 모음.....	95
이론적인 단백질 소화.....	96
LCMS 펩타이드 재구성.....	101
도구 모음.....	105
단백질 소화를 통한 LCMS 펩타이드 재구성.....	107
단백질 재구성.....	108
요약.....	112

이 문서는 일부 도구 및 소프트웨어에서 사용 가능한 기능에 대한 사용 지침 프로그램 개요를 제공합니다. 사용 가능한 모든 작동에 대한 세부 설명을 제공하지는 않지만 소프트웨어가 해결할 수 있는 보다 일반적인 작업 흐름의 일부를 설명합니다.

구성

일부 기능 및 작업은 특정 어플리케이션 및 작업에 적합하지만 대부분은 일반적이며 정성적 데이터를 분석할 때 자주 사용됩니다. 이 섹션의 문서는 소프트웨어 개념에 대한 간략한 소개 및 가장 일반적인 일부 및 필수적인 작업에 대한 설명을 제공합니다. 시퀀스 섹션은 특정 작업 흐름에 대한 접근법을 설명하며, 소프트웨어와 공급된 샘플 데이터 파일을 사용합니다.

샘플 파일은 SCIEX OS 폴더의 SCIEX OS DVD로 분배됩니다. 전체 프로젝트가 컴퓨터의 D:\SCIEX OS DATA 폴더로 복사됩니다. 다음 샘플 파일들은 본 자습서의 예시에서 사용됩니다.

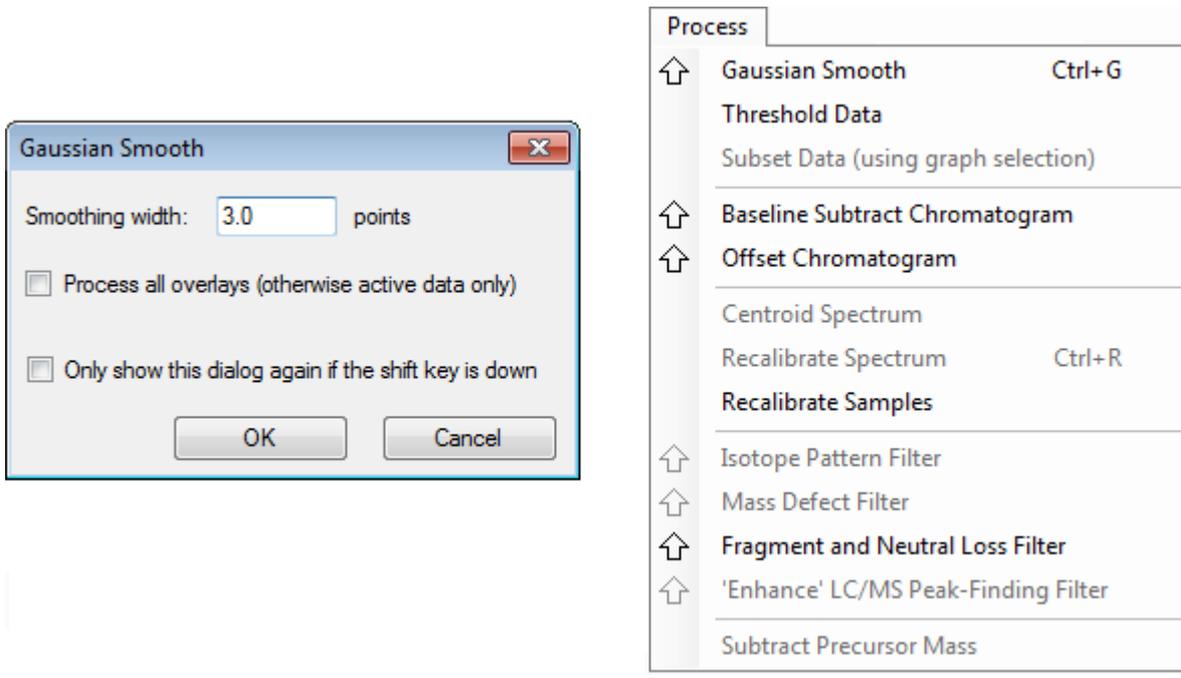
- Bromocrip_IDA-DBS alone_T=1.wiff
- Bromocrip_IDA-DBS in plasma_T=0.wiff
- Bromocrip_IDA-DBS in plasma_T=1.wiff
- DataSET61.wiff
- DataSET62.wiff
- DataSET63.wiff
- DataSET64.wiff
- DataSET65.wiff
- DataSET66.wiff
- RP_digests.wiff
- RP_Intact.wiff
- Bromocriptine.mol

브로모크립틴 파일은 쥐 간 마이크로솜을 통한 네거티브 모드 IDA 잠복기 분석에서 비롯되었습니다. Bromocrip_IDA-DBS alone_T=1.wiff는 한 시간 지점에서 확보되었지만 나머지 두 개는 혈장에 투여된 0 및 한 시간 지점에 적합했습니다. Bromocriptine.mol 파일에는 브로모크립틴에 적합한 분자 구조가 포함되어 있습니다. DataSET61 ~ DataSET66 파일은 로라타딘 및 그 불순물을 수집함으로써 만들어 졌습니다. 다른 데이터세트는 다른 농도 레벨을 나타냅니다. RP_Intact.wiff 파일은 온전한 미오글로빈을 분석함으로써 만들어 졌습니다. RP_digests.wiff 파일은 트립신을 통해 소화되는 미오글로빈을 분석함으로써 만들어 졌습니다.

옵션

소프트웨어는 명령에 따라 수행할 수 있는 방법을 미세 조정하는 많은 옵션을 제공합니다. [그림 1-1](#)에서 볼 수 있는 것과 같이 일부 소프트웨어는 **Shift** 키를 누르고 있는 경우에만 대화 상자를 표시할 수 있는 체크 박스를 제공합니다. 이를 통해 매개 변수를 변경할 필요가 없는 경우 대화 상자와 상호 작용할 필요를 없애줍니다. 이런 명령 메뉴에는 위쪽을 가리키는 화살표가 포함되어 있습니다.

그림 1-1 옵션



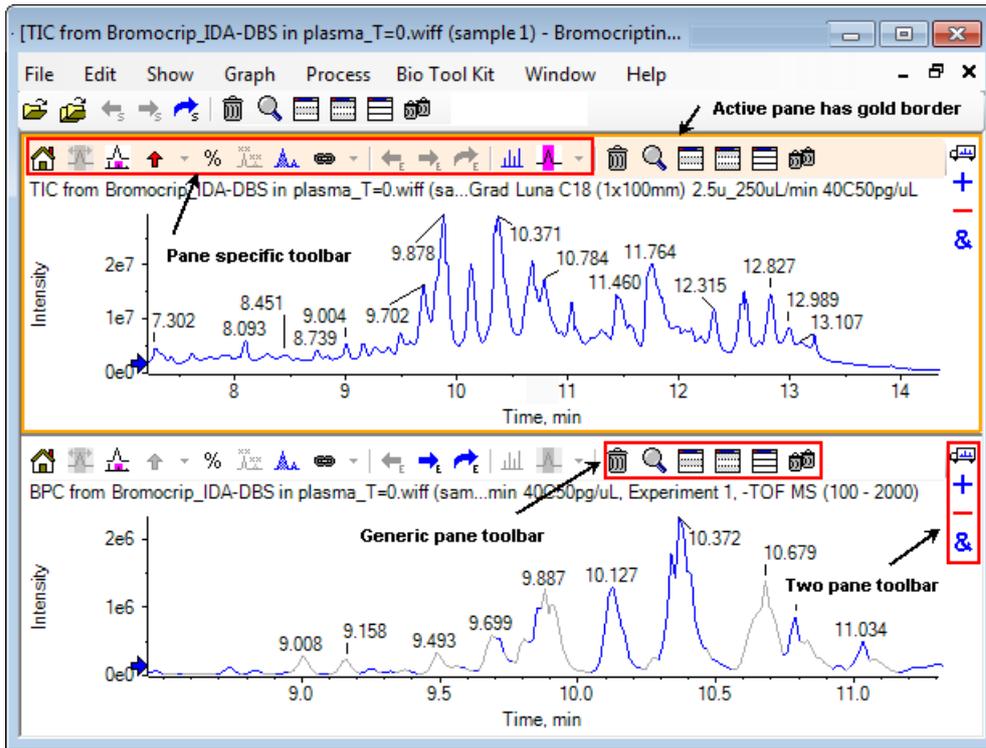
창

소프트웨어는 정보 노출 및 수신에 창(window)을 사용하지만 기본 사용자 인터페이스 구성 요소는 창(pane)입니다. 창(window)은 하나 이상의 창(pane)을 포함할 수 있지만 창(pane)은 한 번에 하나만 활성화할 수 있습니다. 창은 메뉴 및 도구 모음에서 명령을 수신합니다. 메뉴 및 도구 모음은 이들이 포함하고 있는 창 및 데이터를 이용할 수 있는 방법을 제공합니다.

창은 스펙트럼 및 크로마토그램, 히트맵 또는 표뿐만 아니라 보다 특별한 화면 등의 그래프를 포함할 수 있습니다. 일반 처리 작업에 있어 정보를 보여주기 위해 창을 생성하거나 창 내에 표시된 데이터에 작업을 합니다. 모든 창은 일반적인 단일 및 두 개 창 도구를 포함합니다. 대부분의 창은 창의 유형에 따라 지정된 추가 도구가 있습니다. 추가 도구는 보다 일반적인 명령에 액세스를 제공합니다.

일반적인 창의 사례는 [그림 1-2](#)에서 확인할 수 있습니다. window에는 두 개의 활성 pane, 크로마토그램 및 색채를 입힌 테두리와 도구 모음이 있습니다.

그림 1-2 Panes Within a Window에 대한 사례



일반적인 창 작업은 **일반 창 도구 모음** 및 **두 개창 도구 모음**에 요약되어 있습니다. 창별 작업은 **그래프**에 요약되어 있습니다.

일반 창 도구 모음



일반 단일 창 작업을 사용하려면 아이콘을 클릭합니다.

표 1-1 일반 창 도구 모음 아이콘

아이콘	이름(들팁)
	이 창 삭제
	활성 창을 확장해 창을 채움
	이 창 숨김
	다른 모든 창 숨김

표 1-1 일반 창 도구 모음 아이콘 (계속)

아이콘	이름(툴팁)
	현재 숨겨진 모든 창 표시
	다른 모든 창 삭제(해당 창 다음의 창만 삭제하려면 Ctrl 키를 누른 상태에서 수행)

참고: 메뉴 바 바로 아래에 위치한 마스터 도구 모음에서 유사한 아이콘 또한 사용할 수 있습니다. 마스터 도구 모음에 있는 아이콘들 중 하나를 클릭하는 것은 활성 창에 있는 아이콘을 클릭하는 것과 동일한 효과가 있습니다. 이 도구 모음은 활성 창 크기를 조정할 후 아이콘 중 일부가 보이지 않을 때 유용하게 사용할 수 있습니다.

이 창 삭제

창이 여러 개 열려 있는 경우 이 아이콘을 사용하여 해당 창을 삭제합니다. 창이 하나만 열려 있을 때는 아이콘을 사용할 수 없습니다.

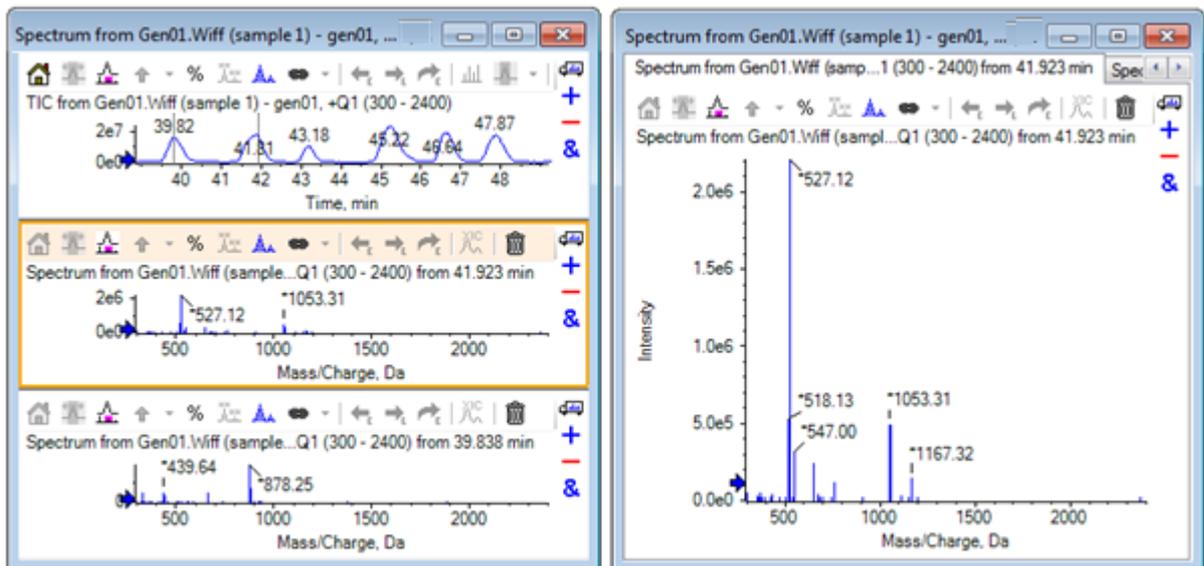
활성 창을 확장해 창을 채움

이 아이콘을 사용해 전체 창을 채우기 위해 창을 확장하거나 기존 크기 창으로 되돌아갑니다. 창에 여러 내부 창이 있는 경우 이 아이콘은 일시적으로 내부 창 하나에 초점을 맞춥니다.

각 창의 경우 창의 상단에 별도 탭이 표시됩니다. 적절한 탭을 클릭해 창 간에 전환합니다.

참고: 창의 제목이 긴 경우 모든 탭이 보이지 않을 수 있습니다. 탭의 오른쪽의 화살표 버튼을 사용해 스크롤합니다. 모든 창을 표시하는 기존 화면으로 돌아가려면 아이콘을 다시 클릭합니다.

그림 1-3 확장된 창에 대한 사례



이 창 숨김

이 아이콘을 사용해 창(window) 내의 나머지 창(pane)들이 사용 가능한 공간을 채울 수 있도록 해당 창(pane)을 숨깁니다. 이 아이콘은 창의 하위 세트를 보기만 하고 다른 창을 영구적으로 삭제하고 싶지 않을 때 유용합니다.

다른 모든 창 숨김

해당 창을 제외한 모든 창을 숨기려면 이 아이콘을 사용합니다. 결과는 **활성 창을 확장해 창을 채움** 아이콘을 클릭했을 때와 유사합니다. 그 이유는 두 경우 모두 해당 창을 유지한 상태에서 공간만을 채우기 때문입니다. 또 다른 창이 이후에 생성되는 경우 차이점은 명백합니다. 확장된 창의 경우에 새로운 창이 활성화되어 사용 가능한 공간을 채웁니다. 숨겨진 창의 경우에 두 개의 창(기존 활성 창 및 새로운 창)을 모두 볼 수 있습니다.

현재 숨겨진 모든 창 표시

이 아이콘을 사용해 숨겨진 모든 창을 표시합니다.

다른 모든 창 삭제

Ctrl 키를 누르지 않은 경우 이 아이콘은 해당 창을 제외한 모든 창을 삭제합니다. 이 옵션은 샘플을 정리 및 재처리하는 데 유용합니다. 현재 숨겨진 어떠한 창도 삭제됩니다.

Ctrl 키를 누른 경우는 해당 창 다음에 있는 창만 삭제됩니다. 이 옵션은 창이 여러 개 열려 있는 경우 초기에 연 창 몇 개만 필요할 때 유용합니다. 이 경우에 숨겨진 창은 삭제되지 않습니다.

두 개창 도구 모음



아이콘을 드래그하여 두 개창 작업을 합니다(사용 가능 여부는 창 유형에 의해 좌우됨). 소스 창은 선택한 아이콘이 포함된 창이고 대상 창은 두 번째 창입니다.

표 1-2 두 개창 도구 모음 아이콘

아이콘	이름(툴팁)
	드래그 및 드롭으로 창을 재배포합니다.
	또 다른 그래프에 드래그하여 활성 데이터를 그래프의 활성 데이터에 추가합니다 (다른 그래프의 모든 데이터 세트에 활성 데이터를 추가하려면 Ctrl 키를 누른 상태에서 수행).

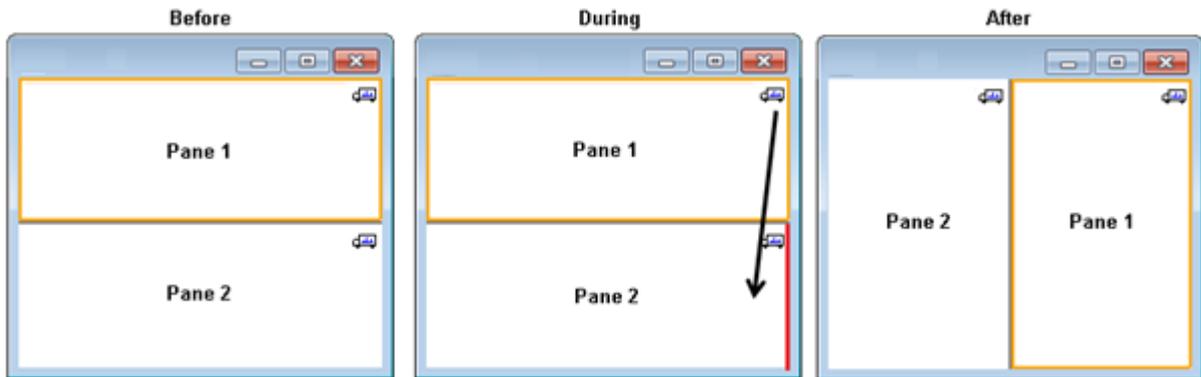
표 1-2 두 개 창 도구 모음 아이콘 (계속)

아이콘	이름(툴팁)
-	또 다른 그래프에 드래그하여 목표 그래프의 활성 데이터에서 활성 데이터를 뺍니다 (목표 그래프의 모든 데이터 세트에서 활성 데이터를 빼려면 Ctrl 키를 누른 상태에서 수행하고 Shift 키를 길게 눌러 음의 값을 유지.)
&	또 다른 그래프에 드래그하여 목표 그래프에 있는 활성 데이터에 겹치도록 합니다 (활성 데이터 하나가 아닌 모든 데이터 세트에 겹치도록 하려면 Ctrl 키를 누른 상태에서 수행).

드래그 및 드롭으로 창을 재배열

이 아이콘은 각 창의 상단 오른쪽 모서리에서 볼 수 있으며 관련된 창의 위치를 변경하는데 사용됩니다. 내부 창 하나의 아이콘을 클릭하여 두 번째 내부 창의 상단, 하단, 왼쪽 또는 오른쪽 부분으로 끌어옵니다. 마우스를 놓는 위치에 따라 첫 번째 내부 창의 위치가 두 번째 내부 창을 기준으로 변경됩니다. 커서를 끌 때 두 번째 내부 창의 한 면이 빨간색으로 강조 표시되어 첫 번째 내부 창이 표시된 위치를 나타냅니다. **그림 1-4**는 상단 창의 아이콘을 하단 창의 오른쪽 부분으로 드래그 했을 때의 결과를 보여줍니다.

그림 1-4 상단 창의 아이콘을 하단 창의 오른쪽 부분으로 드래그 했을 때의 결과



참고: 내부 창은 한 창에서 다른 창으로 드래그 할 수 있습니다.

다른 그래프에 드래그하여 다른 그래프의 활성 데이터에 활성 데이터를 추가

이 아이콘을 사용해 두 개의 데이터 세트를 하나씩 합산합니다. 소스 데이터(원래 클릭했던 창에서 얻음)가 목표 데이터(아이콘에서 손을 뗄 때 위의 창)에 추가되었습니다. 수정 데이터의 제목이 업데이트되어 수정되었다는 것을 표시합니다.

참고: 유형이 동일한 두 데이터 세트만 하나로 결합할 수 있습니다. 예를 들어 스펙트럼은 크로마토그램에 추가할 수 없습니다.

참고: 목표 그래프에 하나 이상의 중첩된 추적이 포함되어 있는 경우 소스 데이터는 기본적으로 활성 목표 데이터에만 추가됩니다. Ctrl 키를 누른 경우 소스 데이터는 목표 내 모든 데이터 세트에 추가됩니다.

다른 그래프에 드래그하여 목표의 활성 데이터에서 활성 데이터를 빼기

이 아이콘을 사용해 목표 데이터에서 소스 데이터를 뺍니다. 이 아이콘은 배경에서 질량 스펙트럼을 빼는 경우에 가장 유용합니다.

참고: 목표 그래프에 하나 이상의 중첩된 추적이 포함된 경우 소스 데이터는 자동으로 활성 목표 데이터에서만 차감됩니다. Ctrl 키를 누른 경우 소스는 목표 내 모든 데이터 세트에서 차감됩니다.

팁! 일반적으로 소스의 강도가 목표보다 큰 경우의 모든 데이터 포인트는 기록되지 않습니다. 이는 음의 y값이 폐기된다는 것을 의미합니다. Shift 키를 누른 경우 음의 강도를 가진 포인트가 기록됩니다.

목표 그래프에서 활성 데이터에 겹치도록 또 다른 그래프에 드래그하기

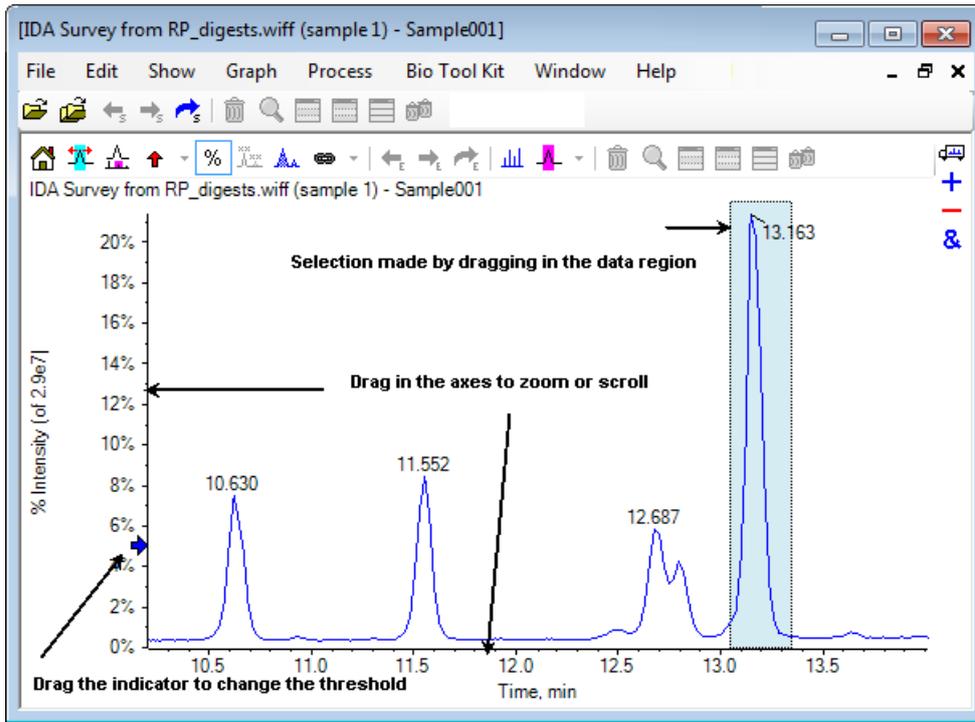
이 아이콘을 사용하여 목표 그래프에서 소스 그래프 내 활성 데이터를 겹치도록 합니다. 작업을 완료한 후 목표 그래프에는 목표 데이터의 사본이 들어 있는 새로운 시리즈가 포함되어 있습니다.

참고: 소스 그래프에 하나 이상의 중첩된 추적이 포함된 경우 자동으로 활성 데이터 사본만 목표 그래프로 이동합니다. Ctrl 키를 누르고 있는 경우 소스 그래프 내의 모든 데이터 세트 사본이 목표 그래프에 겹쳐집니다.

그래프

그래프는 데이터 시각화 및 상호 작용을 가능하게 하는 창입니다. 여러 작업은 모든 그래프에 일반적이지만 다른 작업은 나타나는 데이터 유형에 좌우됩니다.

그림 1-5 그래프



일반 명령은 다음과 같이 요약됩니다.

- 커서를 그래프의 x축 또는 y축 영역에 드래그함으로써 확대/축소 및 스크롤을 수행할 수 있습니다. 더블 클릭하여 축을 기존 범위로 재설정하고 **Shift** 키를 누르면서 축을 클릭하면 그래프가 이전 화면으로 전환합니다(확대/축소 및 스크롤의 경우 취소)
- 드래그하여 임계값 표시기를 배치할 수 있습니다. 임계값은 일반적으로 어떤 피크에 라벨이 붙는지 결정하고 어떤 피크가 처리되는지 결정하는데 사용됩니다.
- 데이터 영역에서 드래그함으로써 선택할 수 있습니다. 선택 영역을 통해 데이터의 일부가 사용되거나 처리되도록 정의합니다. 드래그하면서 **Shift** 키를 눌러 여러 영역을 선택합니다. **Ctrl** 키를 눌러 x 및 y축 모두에서 선택합니다.

그래프별 도구 모음



표 1-3 그래프별 도구 모음 아이콘

아이콘	이름(툴팁)
	확대/축소된 그래프가 홈 화면으로 되돌아 감
	확대/축소 선택으로 전체 보기

표 1-3 그래프별 도구 모음 아이콘 (계속)

아이콘	이름(툴팁)
	'확대/축소' 그래프 표시(현재 확대/축소 추적용). 그림 1-6 내용을 참조하십시오.
	선택된 피크에 적합한 화살표 기호 추가
	백분율 y축을 사용합니다.
	모든 중첩된 추적에 라벨링
	피크 채우기
	창에서 그래프의 x축을 다른 축(동일한 단위 가짐)에 연결(Control 키를 길게 눌러 현재 모든 그래프에 적용)
	이전 실험을 사용하기 위해 데이터 전환
	다음 실험을 사용하기 위해 데이터 전환
	선택된 실험을 사용하기 위해 데이터 전환
	선택한 스펙트럼 표시
	배경 분리 범위 설정

참고: 창 아이콘 삭제로 시작하는 이 도구 모음 내 최종 여섯 개 아이콘은 [일반 창 도구 모음](#)에서 설명합니다.

확대/축소된 그래프가 홈 화면으로 되돌아 감

등고선도를 확대/축소한 경우 이 아이콘을 사용해 x 및 y축이 기본 범위를 표시하고 사용 가능한 모든 데이터를 볼 수 있는 홈 화면으로 되돌아 갑니다. x축을 더블 클릭하면 그래프가 홈 화면으로 되돌아 갑니다. y축을 더블 클릭하면 이 축만 전체 범위로 되돌아 갑니다.

확대/축소 선택으로 전체 보기

이 아이콘을 사용해 등고선도를 확대/축소하여 선택된 영역이 전체 가용 공간을 채우도록 합니다. 이 아이콘을 선택하기 전에 등고선도 내에 드래그하여 선택을 합니다. 등고선도의 x축(또는 y축)에서 직접 드래그하여 확대/축소할 수도 있습니다.

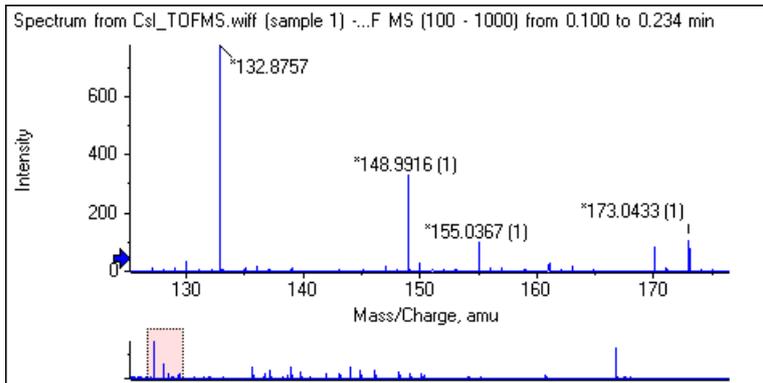
'확대/축소' 그래프 표시(현재 확대/축소 추적용)

이 아이콘을 사용해 [그림 1-6](#)에서 표시된 것과 같이 기본 그래프 아래에서 작은 그래프 사본을 표시합니다. 이 개요 그래프는 사용 가능한 전체 범위를 항상 나타내며 분홍색 선택 부분을 통해 기본 그래프 확대/축소 영역을 표시합니다. 기본 그래프가 확대/축소되면 선택 영역도 이에 따라 업데이트됩니다.

피크 선택 부분을 새 위치로 드래그하면서 필요에 따라 기본 그래프를 스크롤합니다. 선택 부분의 왼쪽 또는 오른쪽 가장자리 부근을 드래그하여 폭을 조정합니다. 이 때 주 그래프를 필요에 따라 확대/축소합니다.

필요한 세부 사항을 보기 위해 꽤 멀리 확대/축소해야 할 때가 종종 있기 때문에 이 기능은 고분해능 질량 스펙트럼에 유용합니다. 개요 그래프는 확대/축소된 영역을 전체 질량 범위와 관련해 추적하는 데에도 사용할 수 있습니다.

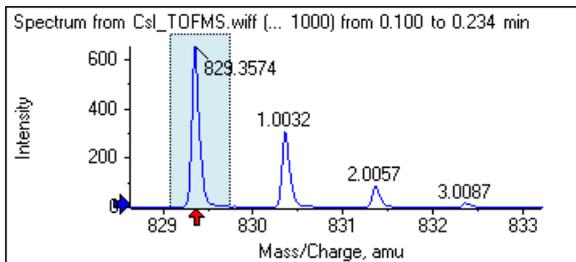
그림 1-6 개요 그래프 표시



선택된 피크에 적합한 화살표 기호 추가

이 아이콘을 사용해 지금 선택한 그래프 영역 내에서 가장 큰 피크에 화살표를 추가합니다. [그림 1-7](#)은 보여지는 바와 같이 829 피크(대략)를 선택한 경우 이 아이콘을 클릭하는 결과를 보여줍니다.

그림 1-7 단일 화살표 기호 추가

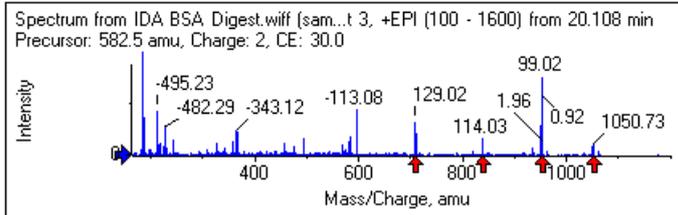


화살표는 데이터에서 참조점의 역할을 합니다. 화살표와 인접하지 않은 피크는 가장 가까운 화살표에서의 거리로 자동으로 레이블이 붙습니다. 가장 큰 x값을 가진 화살표 인근 피크는 실제 x값으로 레이블이 붙습니다. 마지막이 아닌 화살표 인근의 피크는 보다 높은 x값을 가진 화살표에 관련하여 라벨이 붙습니다. [그림 1-7](#)에서 약 829 Da에서 피크는 실제 m/z 값으로 라벨이 붙고 동위 원소 피크는 이 피크에서의 거리로 라벨이 붙습니다. 화살표 왼쪽 피크(보이지 않음)는 음 라벨 값을 가지게 됩니다.

화살표는 대부분 스펙트럼을 통해 사용되며 MS/MS 스펙트럼 등에서 동위 원소, 중성 손실 등 질량 차이 기대치를 찾기 위한 편리한 방법을 제공합니다. [그림 1-8](#)은 화살표가 아미노산 잔기 중성 손실과 일치하는 값에 추가되었던 MS/MS 펩타이드 스펙트럼을 보여줍니다. 예를 들어 99.02

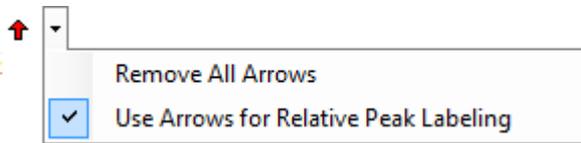
로 라벨이 붙은 피크는 1050.73 Da 피크에서 발린 손실이 있을 수 있고 114.03으로 라벨이 붙은 다음 피크는 아스파라긴 등의 추가 손실이 있을 수 있습니다. -113.08로 라벨이 붙은 피크는 129.02로 라벨이 붙은 피크로부터 류신 또는 이소류신 손실이 있을 수 있습니다(709 Da에 가까운 실제 m/z 속도 갯춤).

그림 1-8 여러 화살표 기호 추가



이 상대 피크 라벨링이 사용되지 않으면 의 **Use Arrows for Relative Peak Labeling** 메뉴 항목을 지웁니다.그림 1-9 이 경우 특정 관심 피크를 표시하는데 화살표를 사용합니다.

그림 1-9 Add Arrow Marker Menu



사용자는 화살표를 새 위치로 드래그할 수 있습니다. 화살표를 등고선도 안으로 드래그하면 드래그 동작이 취소됩니다. 화살표를 그래프 외부로 드래그하면 화살표가 삭제됩니다. 의 메뉴에서 **Remove All Arrows**를 선택하여 화살표를 삭제할 수도 있습니다.그림 1-9

퍼센트 Y축 사용

이 아이콘은 y축 스케일링을 측정합니다. 선택된 경우 중첩된 추적을 측정해 각 추적에 대한 최대값이 100%가 되도록 합니다. 중첩된 추적의 절대 등급이 매우 다른 경우 퍼센트 y축을 사용하는 것이 편리합니다.

모든 중첩된 추적에 라벨링

여러 추적이 중첩된 경우 활성 추적에 라벨이 자동으로 붙습니다. 이 아이콘을 클릭해 모든 추적에 라벨을 붙입니다. 다시 아이콘을 클릭하여 라벨을 제거하고 기존 화면으로 전환합니다.

피크 채우기

이 아이콘을 클릭해 어둡게 채우거나 밝게 채우는 것을 교대로 하여 활성 데이터의 피크를 채웁니다. 이 기능은 피크의 시작점과 중지점을 정확하게 찾는 데 유용합니다. 다시 아이콘을 클릭하여 채우기를 제거하고 기존 화면으로 전환합니다.

창에서 그래프의 x축을 다른 축(동일한 단위 가짐)에 연결

한 그래프에서 축을 확대/축소하는 경우 나머지 축이 동일한 범위를 표시하기 위해 자동 조정될 수 있도록 두 개 이상의 그래프 축을 연결할 수 있습니다. 이 기능을 사용하면 이러한 그래프에

서 데이터를 비교할 때 유용할 수 있습니다. 동일한 그래프에서 데이터 세트를 중첩되도록 하는 것이 대안이 됩니다. 하지만 이것이 반드시 바라는 결과는 아닙니다.

연결할 각 그래프에서 **창에서 그래프의 x축을 다른 축(동일한 단위 가짐)에 연결** 아이콘을 클릭합니다. **Ctrl** 키를 누른 상태에서 이 아이콘을 클릭하면 같은 창에서 x축 단위가 동일한 현재 그래프의 모든 x축이 활성 그래프로 연결됩니다. 예를 들어 스펙트럼이 3개가 표시된 경우 이 항목 중 하나에서 **Ctrl** 키와 **창에서 그래프의 x축을 다른 축(동일한 단위 가짐)에 연결** 아이콘을 동시에 클릭하면 스펙트럼 3개가 모두 하나로 연결됩니다.

참고: 이 사례에서 새로운 스펙트럼이 이후에 생성되는 경우 나머지 스펙트럼에 연결되지 않습니다. 새로 생성된 스펙트럼을 연결하려면 연결된 **그래프의 x축을 다른 축(동일한 단위 가짐)에 연결** 아이콘을 클릭합니다.

그래프의 x축만 자동으로 연결됩니다. 이 경우 한 그래프가 수동으로 확대/축소된 경우 나머지 그래프들은 y축을 자동 확대/축소하여 화면 내에서 피크가 가용 공간을 채울 수 있도록 합니다.

연결된 그래프를 연결 해제하려면 적절한 그래프에서 **그래프의 x축을 다른 축(동일한 단위 가짐)에 연결** 아이콘을 클릭합니다. 이렇게 작업을 진행하는 동안 **Ctrl** 키를 눌러 동일한 창에서 동일한 x축 단위를 가진 모든 그래프에 대해 연결 해제를 합니다.

다음 실험을 사용하기 위해 데이터 전환

그래프의 활성 데이터가 마지막이 아닌 특정 실험과 관련 있는 경우 이 아이콘은 데이터를 다음 실험이 아닌 동일한 유형의 데이터로 교체합니다.

예를 들어 실험 2의 TIC가 활성 상태이면 이 아이콘을 클릭해 실험 3의 TIC로 전환합니다. 주어진 시간에서의 스펙트럼이 실험 2에 대해 활성 상태인 경우 이 아이콘을 클릭해 실험 3에 대해 동일한 시간의 스펙트럼으로 전환합니다.

이전 실험을 사용하기 위해 데이터 전환

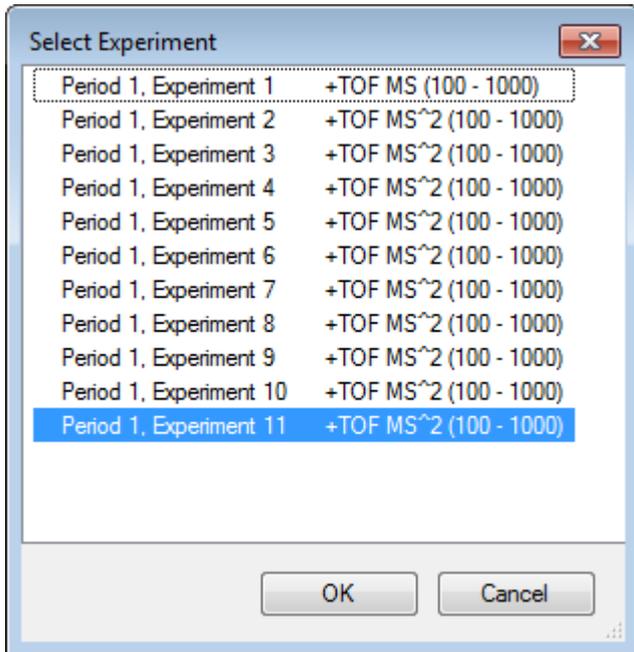
그래프의 활성 데이터가 첫 번째 실험을 제외한 특정 실험과 관련이 있는 경우 이 아이콘은 데이터를 동일한 유형의 데이터로 대체하지만 이전 실험의 경우로 제한합니다.

예를 들어 실험 3의 TIC가 활성인 경우 이 아이콘을 클릭해 실험 2의 TIC로 전환합니다. 실험 3에 해당하는 주어진 시간에서의 스펙트럼이 활성인 경우 이 아이콘을 클릭해 실험 2에 해당하는 동일한 시간의 스펙트럼으로 전환합니다.

선택된 실험을 사용하기 위해 데이터 전환

이 아이콘을 사용하면 실험을 하나씩 스크롤하지 않고 사용할 특정 실험을 선택할 수 있습니다. 아이콘을 클릭하면 사용 가능한 모든 실험이 나열되는 대화 상자가 열립니다. 활성 샘플이 강조됩니다. 목록 내 실험을 클릭해 선택한 후 **OK**를 클릭합니다. [그림 1-10](#) 내용을 참조하십시오.

그림 1-10 Select Experiment 대화 상자



선택한 스펙트럼 표시

이 아이콘을 사용해 그래프에서 현재 선택한 시간 범위의 평균 질량 스펙트럼을 생성합니다. 선택 영역 내에서 더블 클릭하여 동일한 결과를 달성할 수 있습니다.

배경 분리 범위 설정

이 아이콘을 사용해 크로마토그램에서 생성된 스펙트럼용 자동 배경 분리를 수행합니다.

스펙트럼별 도구 모음

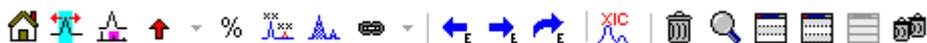


표 1-4 스펙트럼별 도구 모음 아이콘

아이콘	이름(툴팁)
	선택할 수 있는 XIC 표시

참고: 확대/축소된 그래프를 홈 화면 아이콘으로 돌려 보내기로 시작하는 이 도구 모음의 첫 열 한 개 아이콘은 [그래프별 도구 모음](#)에서 설명합니다.

참고: 창 아이콘 삭제로 시작하는 이 도구 모음 내 최종 여섯 개 아이콘은 [일반 창 도구 모음](#)에서 설명합니다.

선택한 XIC 표시

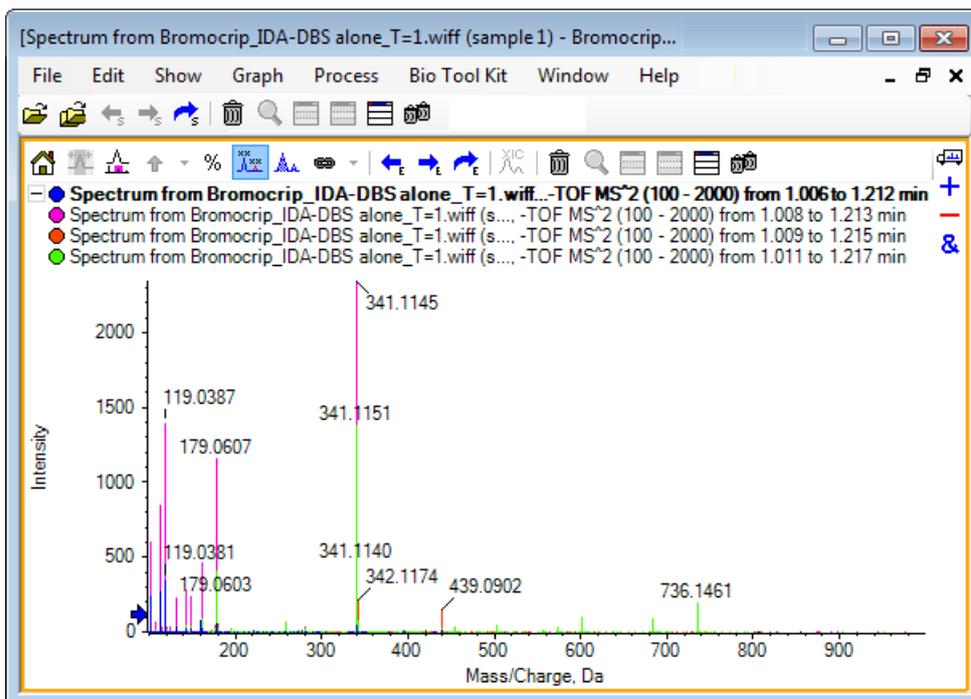
이 아이콘을 사용해 그래프에서 현재 선택한 질량 범위에 걸쳐 총합인 이온 추출 크로마토그램 (XIC)을 생성합니다.

오버레이

그래프는 동일한 축을 공유하며 중첩이라고 불리는 다른 추적을 포함할 수 있어 쉽게 비교가 가능하도록 합니다. **Drag to another graph to overlay the active data in the target graph**를 드래그함으로써 그래프를 생성할 수 있고 일부 창 생성 명령을 통해 자동으로 생산됩니다. [크로마토그램 및 스펙트럼](#) 내용을 참조하십시오.

그림 1-11에서 그래프는 선택된 **모든 중첩된 추적에 라벨링** 아이콘이 있는 네 개의 스펙트럼을 포함합니다. 그래프의 헤더 영역은 두 개의 스펙트럼 및 채색된 원에 대한 제목을 나타내며 추적 컬러를 표시합니다. 활성 추적은 볼드체로 표시됩니다. 이 추적은 임계값 데이터, 다듬기 등의 모든 처리 작업에 대한 목표이며 일반적으로 라벨이 붙은 유일한 작업입니다. 제목 왼쪽의 아이콘을 클릭함으로써 아이콘이 변경되며 활성 추적 제목만 표기되도록 합니다. 이 기능은 중첩이 여러 개일 때 유용합니다. 아이콘을 다시 클릭해 프로세스를 역순으로 진행합니다. 많은 추적이 있고 커서가 제목 위로 이동하는 경우 커서는 양방향 화살표로 변경되며 드래그하는 경우 스크롤 막대의 기능을 하여 모든 제목에 액세스할 수 있도록 합니다.

그림 1-11 선택된 모든 중첩된 추적 아이콘 라벨링을 갖춘 네 개의 스펙트럼이 포함된 그래프



활성 추적을 전환하는 여러 방법이 있습니다.

- 채색된 원을 제목 옆에 클릭

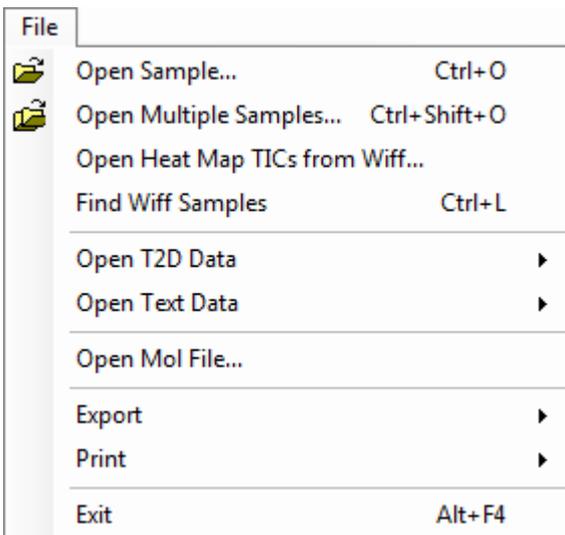
- 제목 자체 클릭
- 추적에 데이터 지점 클릭(추적 자체가 아님)

중첩된 그래프에 오른쪽 버튼을 클릭하면 사용 가능한 명령이 포함된 컨텍스트 메뉴가 나타나 표시된 추적을 시각적으로 편집할 수 있습니다. **Remove Active Trace** 및 **Remove All Traces Except Active** 옵션이 예상대로 작동합니다.

파일 열기

그림 1-12에서 확인할 수 있는 바와 같이 소프트웨어는 다른 유형의 데이터 파일을 열 수 있으며 명령을 통해 단일 또는 여러 샘플을 열 수 있습니다.

그림 1-12 파일 메뉴

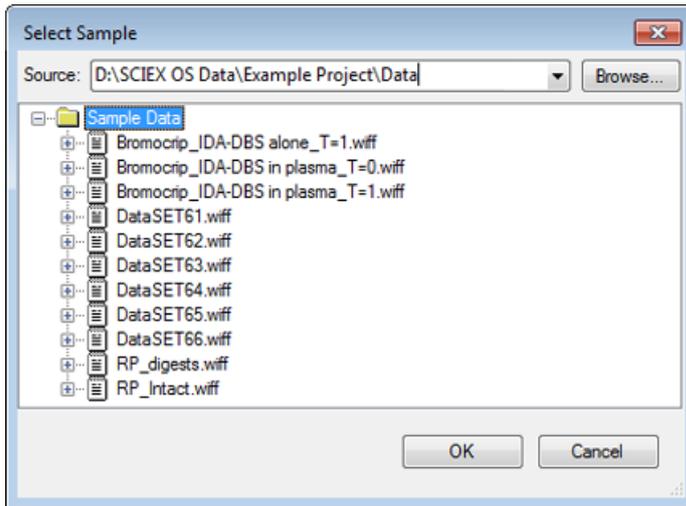


한 샘플 파일 열기

Open Sample 옵션으로 **Select Sample** 대화 상자를 엽니다. 그림 1-13 내용을 참조하십시오.

이 대화 상자를 통해 단일 파일을 선택할 수 있습니다. 결과 화면은 선택한 명령에 좌우되는데 single .scan 파일은 스펙트럼 또는 총 이온 크로마토그램(TIC)을 표시하고 multiple scan .wiff 파일은 TIC(하나 이상의 실험이 있는 경우 모든 실험의 총합)를 표시합니다.

그림 1-13 Select Sample 대화 상자



.wiff 파일의 왼쪽에 있는 아이콘을 클릭하면 파일 내 모든 샘플이 나타나며 이후 필요한 파일명을 선택합니다. 파일 내 하나의 샘플만 있는 경우 파일명을 선택하고 **OK**를 클릭합니다.

여러 샘플 파일 열기

Open Multiple Samples 및 **Open Heat Map TICs from Wiff** 옵션으로 **Select Samples** 대화 상자가 열립니다. 그림 1-14 내용을 참조하십시오.

왼쪽 패널은 폴더를 탐색하고 파일을 지정할 수 있는 **Open** 대화 상자에 해당하며 오른쪽 패널은 **OK**를 클릭하면 열리는 파일을 표시합니다. 다음과 같이 샘플을 왼쪽에서 오른쪽으로 전송할 수 있습니다.

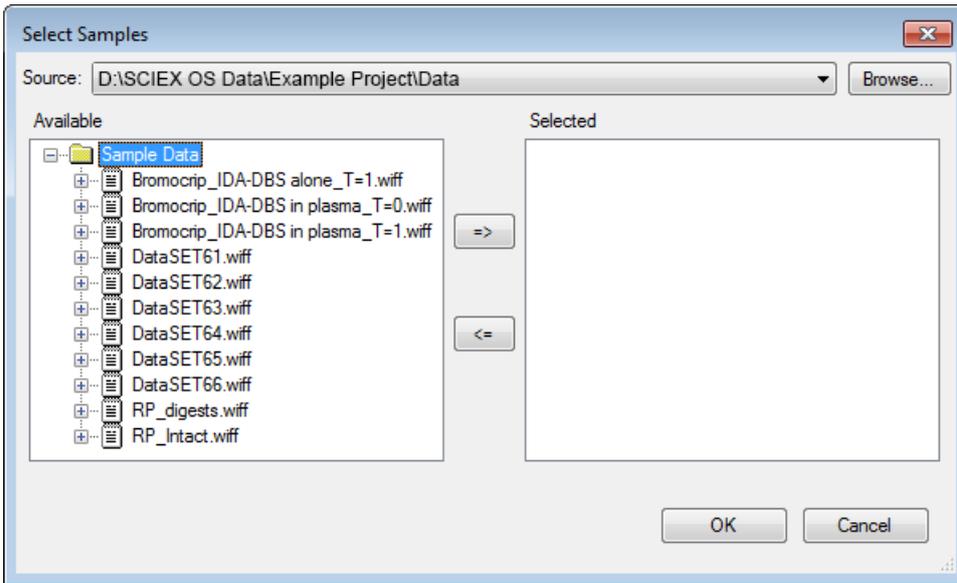
- wiff 파일을 확장하고 샘플을 선택한 후 오른쪽 방향의 화살표를 클릭합니다.
- wiff 파일을 확장하고 샘플을 선택한 후 오른쪽 패널로 드래그합니다.
- wiff 파일을 확장한 후 샘플을 더블 클릭합니다.

파일에 여러 샘플이 포함된 경우 wiff 파일을 선택하고 오른쪽 방향 화살표를 클릭함으로써 또는 .wiff 파일을 선택한 후 오른쪽 패널에 드래그함으로써 샘플 모두를 전송할 수 있습니다.

다음과 같이 샘플을 오른쪽에서 왼쪽으로 전송할 수 있습니다.

- wiff 파일을 확장하고 샘플을 선택한 후 왼쪽 방향의 화살표를 클릭합니다.
- wiff 파일을 확장하고 샘플을 선택한 후 왼쪽 패널로 드래그합니다.
- 샘플을 더블 클릭합니다.

그림 1-14 샘플 대화 상자 선택



크로마토그램 및 스펙트럼

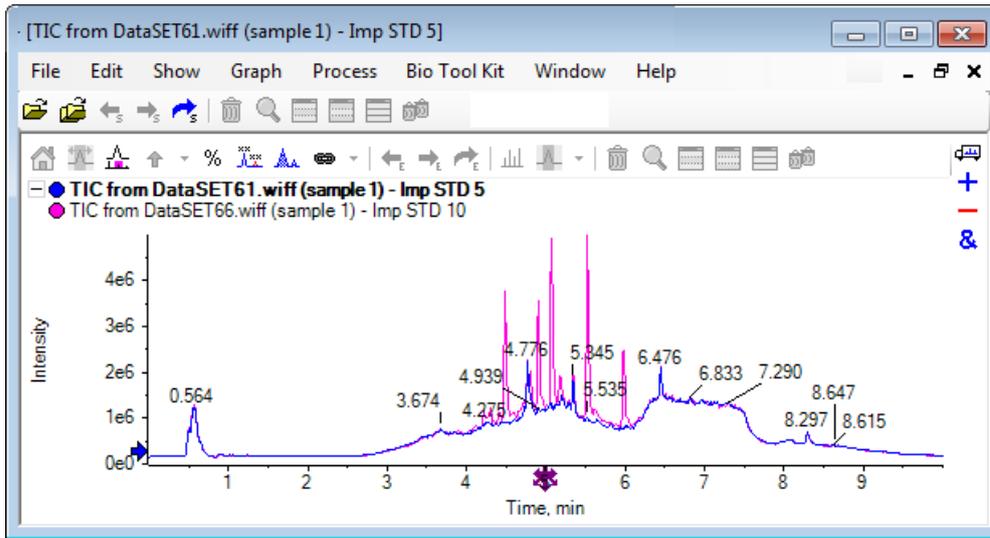
총 이온 크로마토그램(TIC), 스펙트럼 및 이온 추출 크로마토그램(XIC)은 데이터를 탐색 및 검토하는 데 가장 널리 사용되는 데이터 보기입니다. 소프트웨어는 이런 데이터 화면 간 연결을 제공해 사용자가 빠르게 스펙트럼 및 XIC를 생성하여 스펙트럼 내 피크가 하나 이상의 크로마토그래피 피크에서 비롯되는지의 여부를 측정할 수 있도록 합니다.

총 이온 크로마토그램(TIC)

이것은 스캔 또는 멀티 스캔 .wiff 파일이 열린 경우에 표시되는 기본 화면입니다. 표시된 TIC는 각 스펙트럼에서 모든 이온의 강도를 합산하고 합계를 머무름 시간의 함수 그래프로 나타냄으로써 생성된 크로마토그램과 일치합니다.

루프 실험을 통해 샘플이 확보된 경우 표시된 TIC는 두 실험의 강도 합계와 일치하며 이것을 표시하기 위해 x축에서 특별한 화살표 표시가 그려집니다. [그림 1-15](#) 내용을 참조하십시오. 화살표 표시를 더블 클릭하는 경우 각 실험에 대해 증첩된 개별 TIC를 표시하는 새로운 창이 나타납니다.

그림 1-15 TIC



샘플에 IDA 데이터가 포함된 경우 선택된 전구체의 질량 및 머무름 시간을 표시하는 그래픽 방식인 IDA 탐색기 또는 기존 TIC를 선택합니다. 기존 TIC 옵션을 선택하면 IDA 조사 및 IDA 종속 합계에 대한 별도의 TIC가 표시됩니다.

Show > Total Ion Chromatogram (TIC)을 클릭하여 언제든지 TIC를 표시함으로써 어떠한 실험이든 선택할 수 있는 대화 상자가 열립니다. 기간 1 선택은 모든 실험에 대한 TIC를 표시하지만 나머지 입력 항목은 개별 TIC에 해당합니다. 하나 이상 선택하려면 **Shift+** 또는 **Ctrl+** 클릭을 사용합니다.

스펙트럼

파일에 단일 스펙트럼만 포함된 경우 파일이 열린 시기를 스펙트럼이 보여줍니다.

스캔이 여러 개 포함된 데이터의 경우는 크로마토그램을 선택하고 크로마토그램 안쪽을 두 번 클릭하거나 **선택한 스펙트럼 표시** 아이콘을 클릭해 크로마토그램에서 스펙트럼을 표시합니다. 새로운 영역을 보여주는 스펙트럼을 업데이트하려면 크로마토그램에서 선택 직사각형을 드래그합니다.

첫 번째 선택을 완료한 후 **Shift** 키를 눌러 여러 영역을 선택합니다. 중첩된 스펙트럼이 포함된 새로운 스펙트럼 창을 생성하려면 이런 선택에서 더블 클릭하거나 **선택한 스펙트럼 표시** 아이콘을 클릭합니다.

IDA의 경우 안내를 통해 모든 종속 스펙트럼을 중첩되게 하거나 첫 번째 스펙트럼 오픈을 보여줍니다. 후자의 경우 나머지 스펙트럼을 나타내려면 왼쪽 및 오른쪽 화살표 키를 사용합니다.

참고: 이 대화 상자에는 shift 키를 눌렀을 때만 창을 표시하는 체크 박스가 있습니다.

두 가지 방법으로 배경이 없는 스펙트럼을 생성합니다.

- 피크 및 배경 영역에 적합한 별도의 스펙트럼을 생성한 후 배경 스펙트럼에서 배경이 없는 두 개창 아이콘을 피크 스펙트럼으로 드래그합니다.

- 크로마토그램에서 하나 또는 두개를 선택하고 **배경 분리 범위 설정** 아이콘을 클릭함으로써 함으로써 배경 영역을 정의합니다. 배경 영역이 정의될 때 생성된 모든 스펙트럼은 자동으로 배경 분리됩니다. 배경 영역은 크로마토그램에서 빨간 선택 직사각형으로 표시되며 표시된 데이터를 변경하기 위해 이 뿐 아니라 모든 스펙트럼 선택 영역을 이동시킬 수 있습니다. 배경 영역이 정의된 경우 아이콘 옆의 화살표를 클릭한 후 **분리 범위 지우기**를 선택하여 제거할 수 있습니다.

참고: 피크 라벨은 화살표로 표시된 가장 가까운 피크와 관련이 있을 수 있기 때문에 화살표 기호는 스펙트럼에서 유용합니다. 여기에서 손실 또는 부가물 질량을 측정하기 위해 신속한 방법을 제공합니다. 여러 중첩이 있으며 중첩된 모든 추적에 라벨로 표시하기 아이콘을 선택한 경우 화살표와 관련하여 각 중첩에 라벨이 붙습니다.

이온 추출 크로마토그램 (XIC)

XIC를 두 가지 방법으로 생성할 수 있습니다.

- Show > Extracted Ion Chromatogram (XIC)** 을 클릭함으로써.

이 작업 진행 시 모드에 따라 시작 및 중단 질량 또는 중앙 및 폭값을 입력할 수 있는 대화 상자가 열립니다. 대화 상자 내에서 오른쪽 버튼을 클릭하여 컨텍스트 메뉴에서 이를 변경할 수 있습니다. 또한 컨텍스트 메뉴는 기본 폭 설정 및 질량 목록 가져오기 또는 내보내기 등의 다른 유용한 명령에 대한 액세스를 제공합니다. 또한 사용자는 질량값이 제거될 때까지 자동으로 사용될 수 있도록 값을 영속화할 수 있습니다.

- 스펙트럼에서 하나 이상의 선택을 한 후 여러 개 중 하나에서 더블 클릭하거나 **Displays an XIC for selection** 아이콘을 클릭함으로써.

이러한 작업은 각 선택에 해당하는 XIC를 생성합니다. 프로그램은 자동으로 각 선택 범위에서 가장 큰 피크를 측정하고 XIC를 피크에 적합한 절반 높이 로우 및 높은 질량값으로 자동 설정합니다. **Ctrl** 키를 누른 경우 전체 선택 폭을 사용할 수 있습니다.

두 가지 경우에서 각 선택에 대해 하나의 중첩을 포함하는 그래프가 표시됩니다. 선택 부분이 링크로 바뀝니다. 링크를 드래그하여 XIC를 업데이트합니다.

참고: XIC는 일반적으로 계산되며 전체 크로마토그래피 범위에 맞게 표시되는데 여러 선택을 할 수 있으며 고분해능 기기로부터 데이터를 얻거나 및 많은 스캔을 포함하는 경우 프로세스가 느리게 진행될 수 있습니다. XIC 범위를 생성하는데 사용되는 스펙트럼의 머무름 시간에 있어 이 범위를 작은 창으로 제한하는 것이 유용한 기능입니다. **편집 > 옵션 > XIC** 탭을 클릭한 후에 나타나는 대화 상자의 XIC 탭에서 이를 설정할 수 있습니다.

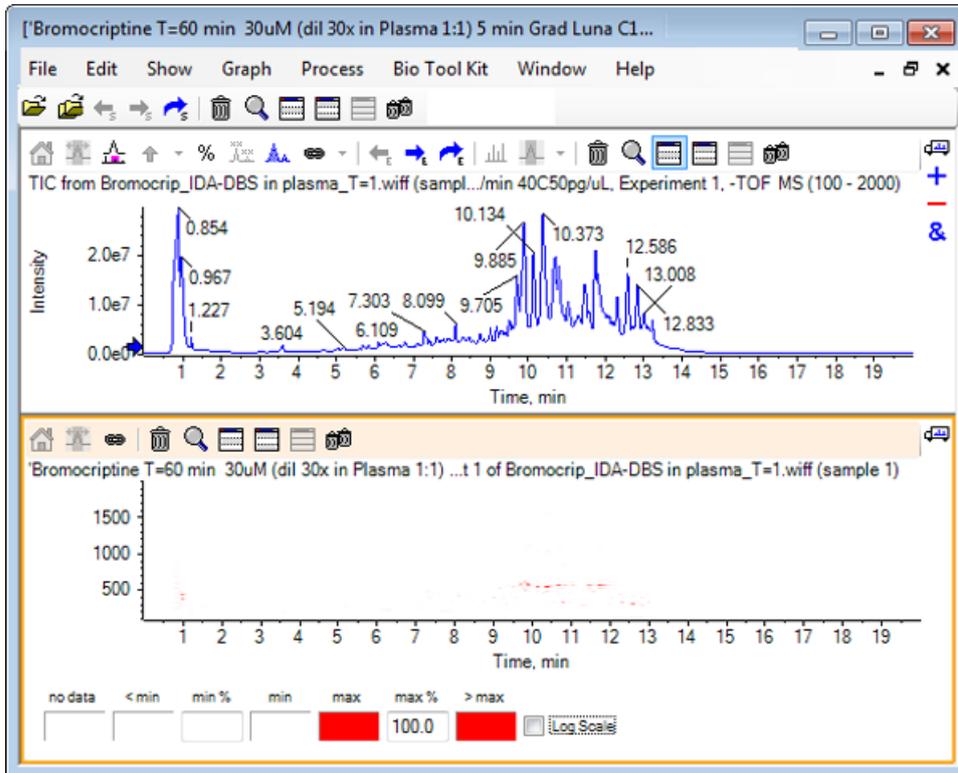
등고선 플롯 및 히트맵

LC/MS 등고선도(**Show > LC/MS Contour Pane**)는 단일 창의 LC/MS 샘플에서 모든 데이터를 표시합니다. **그림 1-16**의 사례는 TIC 및 강도 컬러 코드화를 나타내며 이는 코딩된 강도 색상으로 머무름 시간 대비 m/z 속도 지도를 보여줍니다. 이 경우에 색상 제어 또한 표시되지만 보기에서 오른쪽 버튼을 클릭하고 **Show Appearance Controls** 옵션을 지움으로써 숨길 수 있습니다. 등

소개

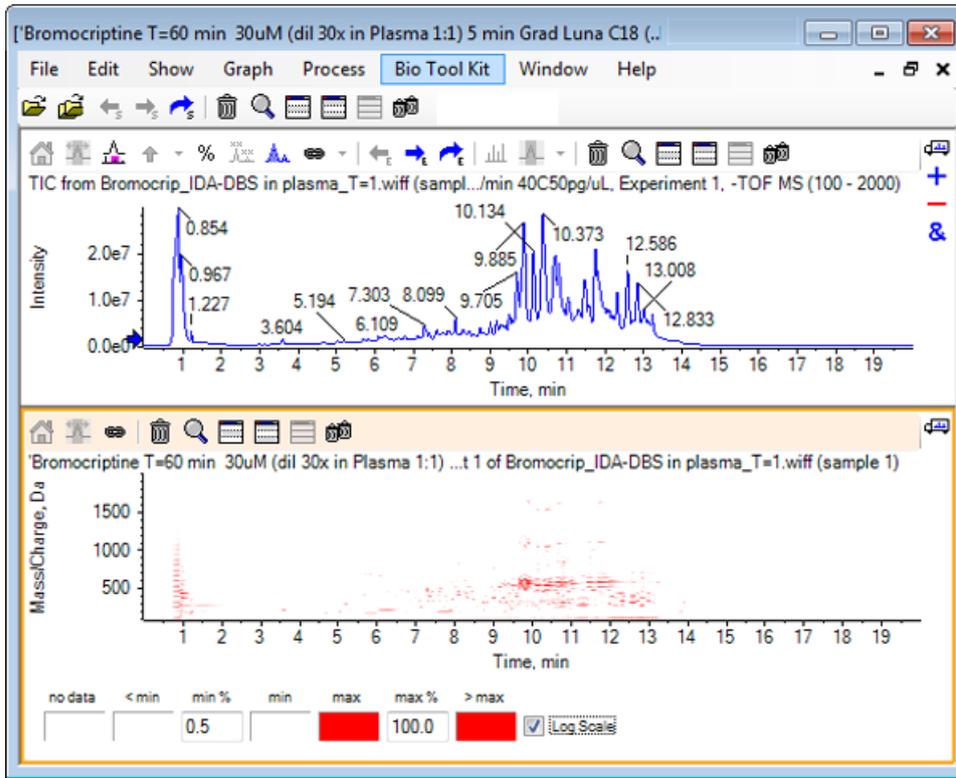
고선도 및 크로마토그램이 동일한 x축을 가지고 있기 때문에 비교 용도로 확대/축소 및 스크롤이 두 화면에 유사하게 영향을 미칠 수 있도록 함께 연결할 수 있습니다.

그림 1-16 TIC 및 해당 등고선 지도



색상 제어는 **min %** 및 **max %**로 정의된 범위 내 강도를 표시하기 위해 256 색상 팔레트를 사용합니다. **min %** 이하의 강도는 **< min**를 사용해 그려지며 **max %** 이상의 강도는 **> max**를 사용해 그려집니다. **< min**에 사용된 색상과 데이터가 동일하지 않은 경우(여기에서) **min %** 이하의 어떠한 데이터 포인트도 사라집니다. 이것은 시각 임계화의 형식으로 그림 1-17에서 확인할 수 있는 것과 같이 등고선도를 단순화할 수 있으며 여기에서 **min %** 값이 0.5%로 증가되었습니다. 색상 제어에 대한 자세한 정보는 시스템 사용자 안내서를 참조하십시오.

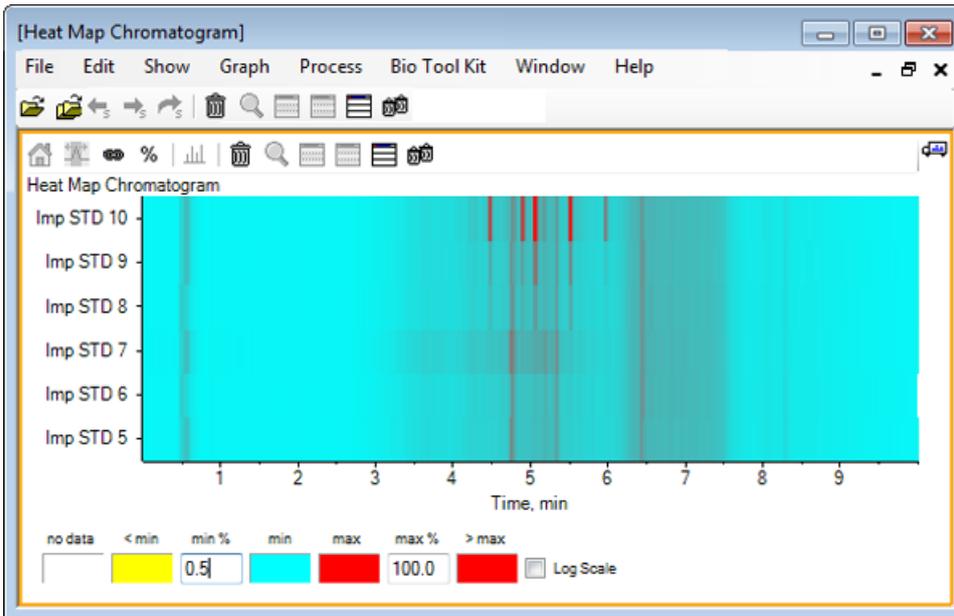
그림 1-17 최소 % 값이 0.5% 증가된 등고선 지도



색상 팔레트가 보다 작은 강도 범위를 포괄할 수 있도록 **max %**를 줄임으로써 저강도 피크를 강조할 수 있지만 이 값보다 큰 모든 피크는 동일한 색상을 갖습니다. **Log Scale** 체크 박스를 선택함으로써 이것 또한 강조할 수 있습니다. **Log Scale**을 활성화 하는데 있어 **min %**(예, 1 또는 0.1)에 대한 0이 아닌 값이 필요하며 이후 색상을 퍼센트 강도의 로그에 표시합니다.

소프트웨어 내 멀티 샘플 시각화 도구에는 TIC, XIC 및 개별 히트맵 시리즈로서 여러 샘플에 대한 스펙트럼을 표시하는 기능이 포함되어 있어 샘플 비교를 지원할 수 있습니다. **그림 1-18**은 여섯 개의 분석 물질에서 비롯된 TOF 크로마토그램 시리즈용입니다. **여러 샘플로 작업** 내용을 참조하십시오.

그림 1-18 히트맵 크로마토그램



크로마토그램 및 스펙트럼을 통해 작업

2

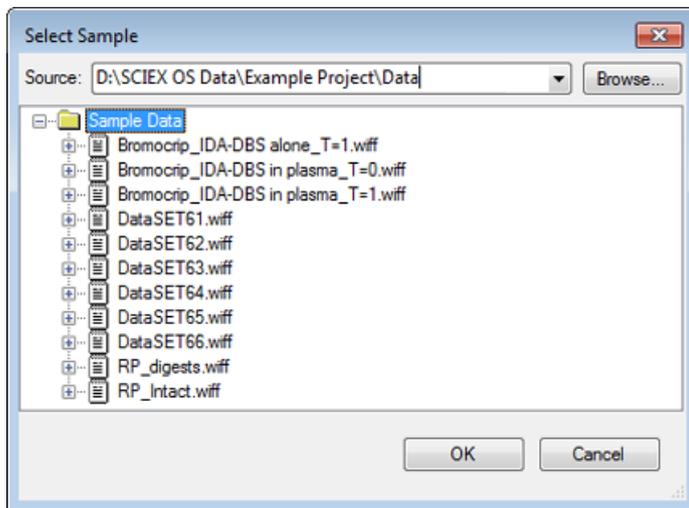
이 섹션은 가장 일반적인 처리 옵션 중 일부를 설명합니다. 사용된 파일은 많은 루프 실험을 거친 IDA 파일이지만 이 사례에서는 첫 번째 조사 실험을 사용하여 간단한 LC/MS 분석을 시뮬레이션합니다. 다음 섹션에서 IDA 기능에 대해 알아봅니다.

데이터 파일 열기

1. 메인 도구 모음에서 **Open Sample** 아이콘을 클릭합니다.

Select Sample 대화 상자가 열립니다.

그림 2-1 Select Sample 대화 상자



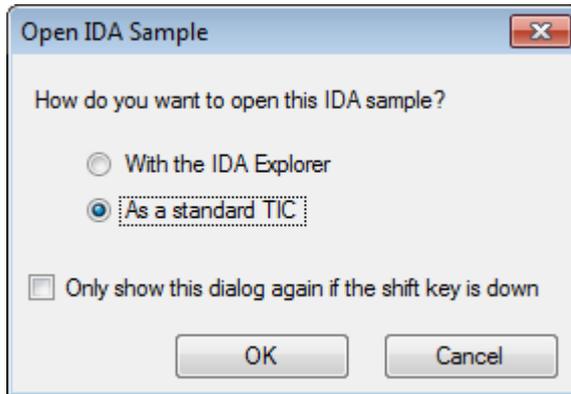
2. **Sample Data** 폴더가 아직 선택되지 않은 경우 **Browse**를 클릭하여 **Sample Data** 폴더를 탐색합니다. 설치 데이터 파일 위치에 대한 정보는 구성을 참조하십시오.
3. 파일 내 모든 샘플을 나타내려면 Bromocrip_IDA-DBS alone_T=1.wiff 파일의 왼쪽에 있는 아이콘을 클릭합니다.

Bromocrip_IDA-DBS alone_T=1.wiff 파일에 하나의 샘플만 있습니다.

4. 샘플 이름을 선택한 후 **OK**를 클릭합니다.

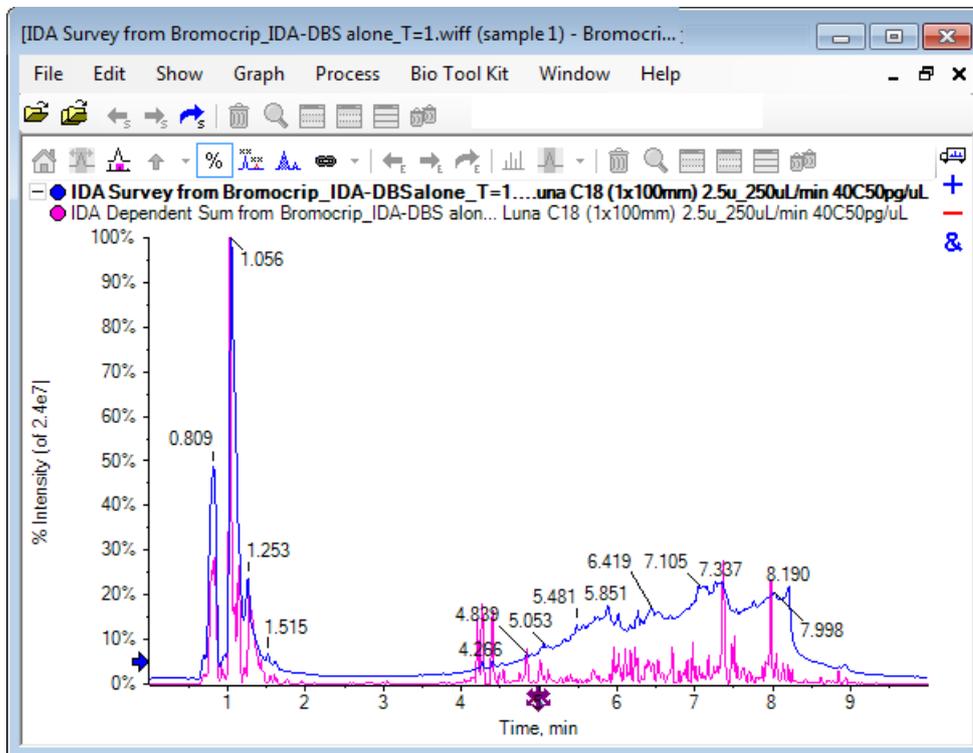
이것은 IDA 파일이기 때문에 소프트웨어는 선택된 샘플을 여는 방법을 지정할 수 있도록 안내합니다.

그림 2-2 Open IDA Sample



5. **As a standard TIC**를 클릭한 후(선택되지 않은 경우) **OK**를 클릭하여 그림 2-3과 같이 TIC를 생성합니다.

그림 2-3 TIC



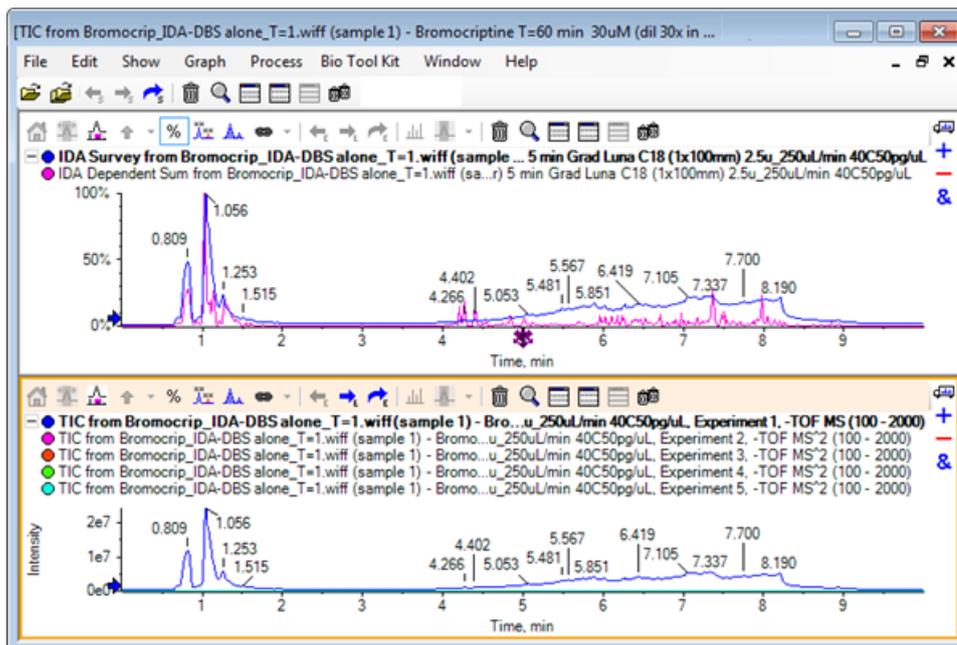
이 창에는 조사 스캔 TIC(파란색)에 대해 하나의 중첩이 있고 종속(생성 이온) 스캔 총합에 대해 또 다른 중첩이 있습니다. 이 경우에 조사 TIC만 나타내는 조사 데이터를 처리하기 원합니다.

하나의 실험에 적합한 TIC 표시

1. x축 중앙에 있는 **Double-click to overlay individual TICs for all experiments** 아이콘을 더블 클릭해 모든 실험에 적합한 중첩된 TIC를 생성합니다.

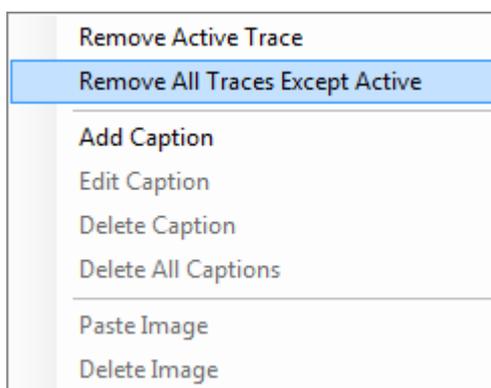
새로운 크로마토그램은 활성 창입니다. 조사는 첫 번째 실험이기 때문에 활성 추적은 헤더의 볼드 제목을 통해 표시됩니다.

그림 2-4 중첩된 TIC



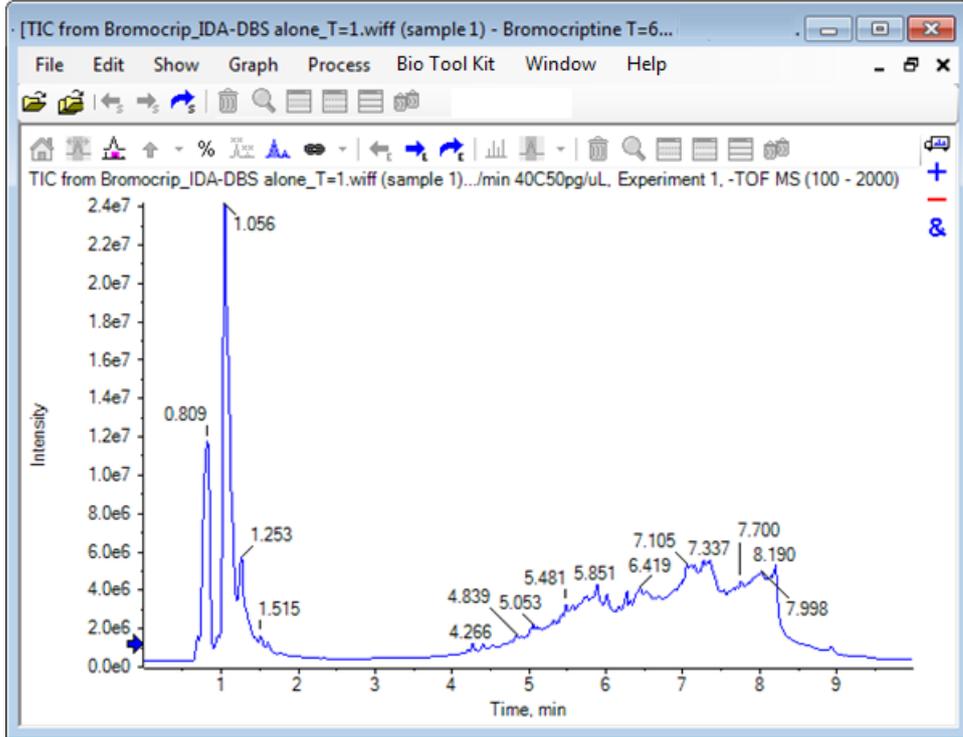
2. 활성 크로마토그램 창 내에서 오른쪽 버튼을 클릭한 후 **Remove All Traces Except Active**를 클릭해 조사 TIC만 남도록 합니다.

그림 2-5 오른쪽 버튼 클릭 메뉴



3. 동일한 창에서 조사 TIC만 남겨두려면 다른 모든 창 삭제 아이콘을 클릭합니다.

그림 2-6 조사 TIC



알고 있는 분자식에 대한 XIC 나타내기

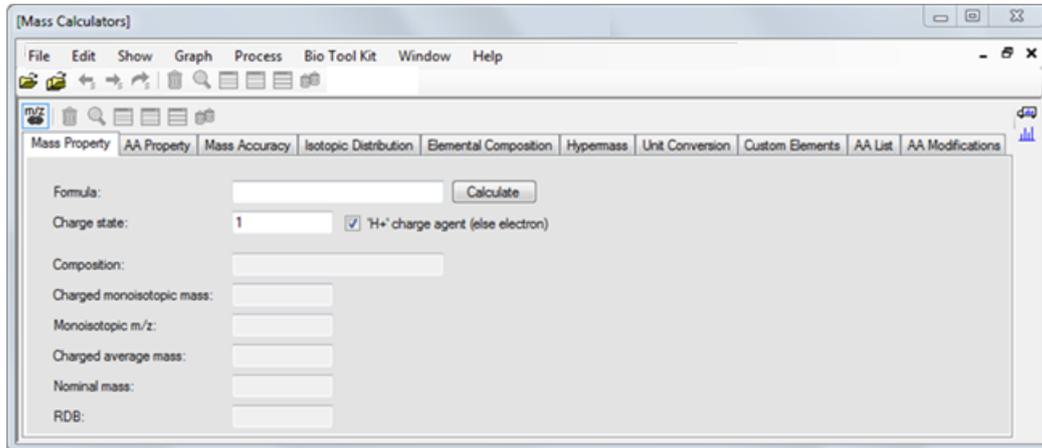
이 데이터에서 4분에서 7분 범위는 작은 피크 몇 개가 확실하게 보이지만 많은 피크가 꽤 강렬한 배경 신호에 의해 모호해 졌을 수 있습니다. 이 샘플은 브로모크립틴의 마이크로솜 잠복기에 해당하므로 피크 위치에 대한 초기 안내서로 예상되는 분자 이온의 m/z 속도를 사용하십시오. 브로모크립틴의 분자식은 $C_{32}H_{40}N_5O_5Br$ 이고 이 데이터가 네거티브 모드 데이터이므로 $(M - H)^-$ 이온을 볼 수 있을 것으로 예상됩니다.

1. **Show > Mass Calculators**를 클릭합니다.
2. **Mass Calculators**창에서 **Mass Property** 탭을 클릭합니다.
3. **Formula** 필드에서 분자 식을 입력합니다.
4. **Charge state** 필드에서 유형 **-1**을 입력합니다.
5. **'H+' charge agent (else electron)**를 선택합니다.
6. **Calculate**를 클릭합니다.

참고: 분자식에서 수동으로 하나의 전자를 제거하고 'H+' 전하 매개체(이외 전자) 체크 박스를 선택하지 않는 것 또한 가능합니다

다음과 같은 단일 동위 원소 포함, 평균 등 많은 질량값을 보여주기 위해 대화 상자가 새로 고침됩니다.

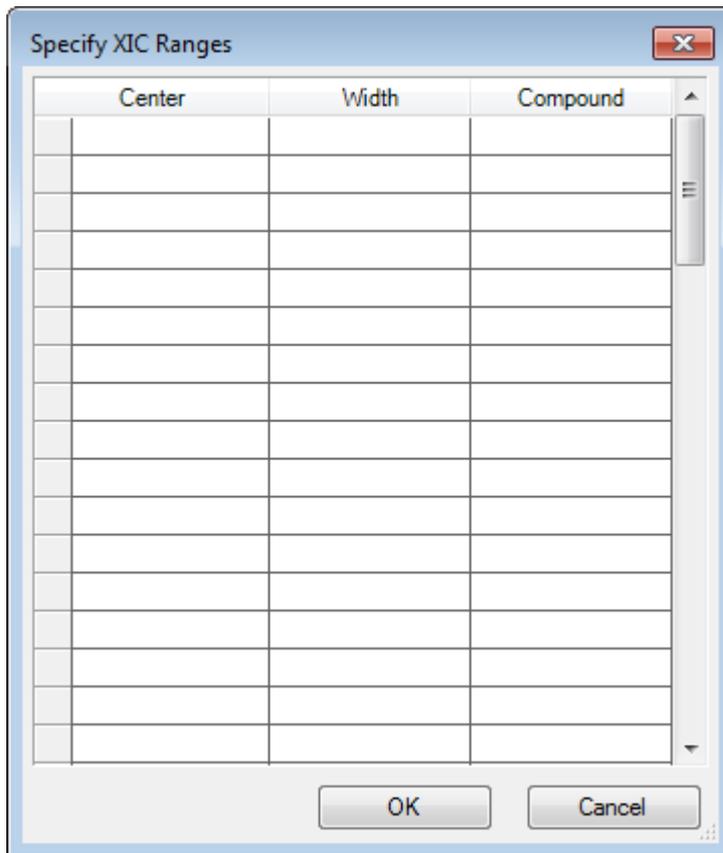
그림 2-7 질량 계산기 창



참고: 이러한 질량값으로 동위 원소가 쉽게 해결됩니다. 따라서 동위 원소 포함 m/z 값이 가장 적합한 값입니다.

7. **Monoisotopic m/z**을 선택한 후 **Ctrl+C**를 눌러 값을 클립보드에 복사합니다.
8. **Deletes this pane** 아이콘을 클릭해 **Mass Calculators** 창을 삭제하거나 **Hides this pane** 아이콘을 클릭해 창을 숨깁니다.
9. **Show > Extracted Ion Chromatogram (XIC)** 을 클릭해 **Specify XIC Ranges** 대화 상자를 엽니다.

그림 2-8 Specify XIC Ranges 대화 상자

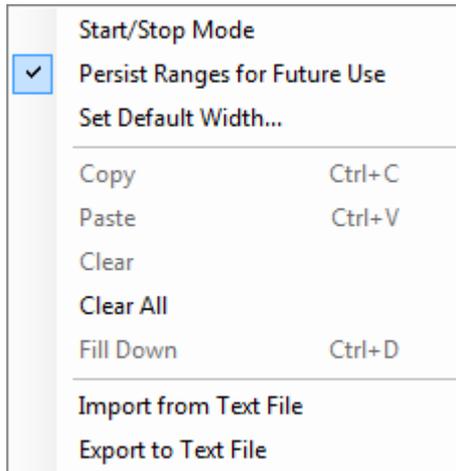


10. **Specify XIC Ranges** 대화 상자에서 오른쪽 버튼을 클릭해 컨텍스트 메뉴를 엽니다.

11. 컨텍스트 메뉴에서 다음을 행합니다.

- a. **Start/Stop Mode** 옵션이 선택되지 않았는지 확인하여 XIC 값이 중앙값 및 폭으로 입력되도록 합니다.
- b. **Set Default Width**를 클릭한 후, **0.05**를 입력하고 **OK**를 클릭합니다.
- c. **Persist Ranges for Future Use**를 클릭하여 다음 대화 상자 사용 시에 값을 기억하도록 합니다.

그림 2-9 콘텍스트 메뉴



12. **Specify XIC Ranges** 대화 상자로 돌아갑니다.

각 관심 XIC에 대해 하나의 질량만 입력하고 기본 폭이 사용되도록 지금 대화 상자를 설정합니다.

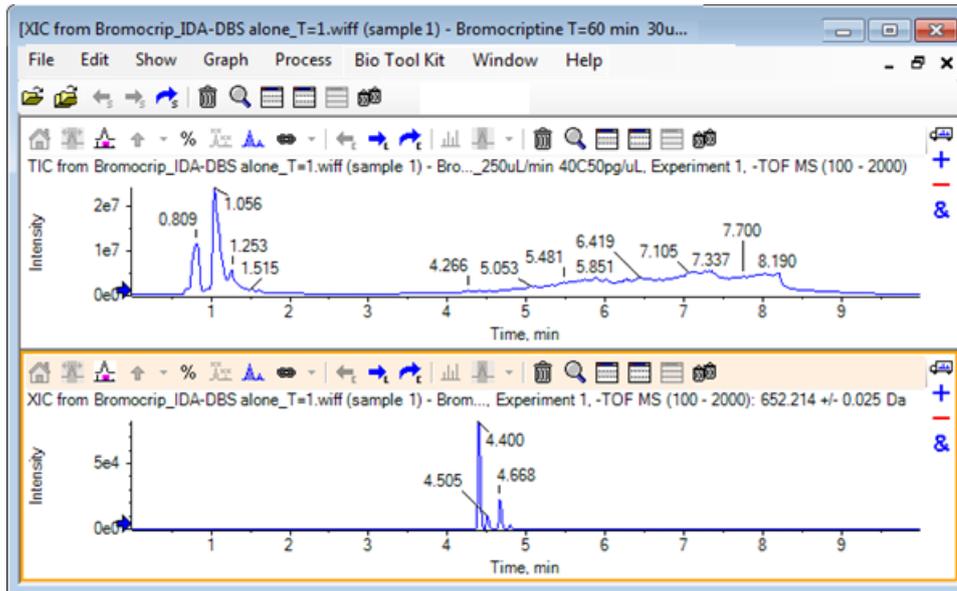
13. **Center** 아래에 있는 첫 번째 셀을 선택한 후 **Ctrl+V**를 눌러 7단계의 질량값을 붙여넣기합니다.

14. **OK**를 클릭합니다.

참고: 기본 폭이 설정되었기 때문에 개별값을 입력할 필요가 없습니다.

창에는 여러 피크를 보여주는 브로모크립틴의 예상 분자 이온에 대한 TIC 및 XIC가 포함되어 있습니다.

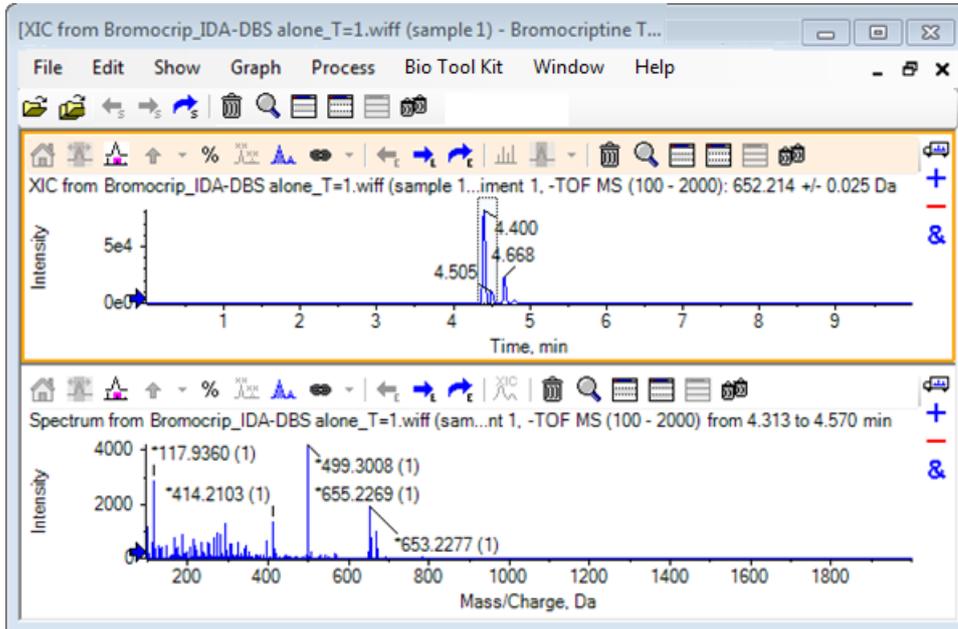
그림 2-10 브로모크립틴의 예상 분자 이온에 대한 TIC 및 XIC



스펙트럼 생성 및 상호 작용

1. TIC 창을 숨기고 XIC에서 가장 큰 피크 주위를 선택한 후 **Displays a spectrum for selection** 아이콘을 클릭해 이 영역에 적합한 평균 스펙트럼을 생성합니다.

그림 2-11 XIC 내 가장 큰 피크에서 발생한 스펙트럼



참고: 그림 2-11에서, **Options** 대화상자(**Edit > Options**에서 사용 가능)의 **Peak Labeling & Finding** 탭에서 **Label** 필드는 **Mass (Charge)**로 설정되어 있습니다.

2. x축을 630 Da에서 700 Da로 드래그하여 스펙트럼을 이 영역으로 확대/축소합니다.

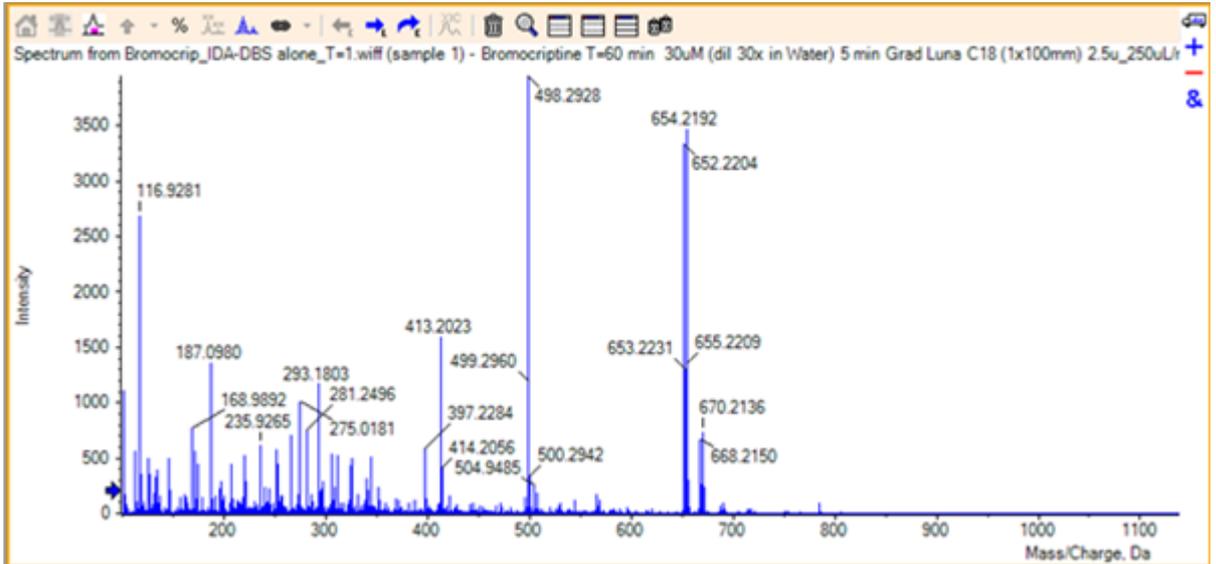
참고: 여기에는 두 가지 단계가 완료되어야 합니다.

기대값인 652.2140과 매우 가까운 652.2199에 피크가 있고 이는 또한 브롬 동위 원소 유형을 표시하지만 668.2158에서 시작하는 두 번째 브롬 동위 원소 집단이 있습니다. 정확한 *m/z* 속도값은 XIC에서 선택된 정확한 머무름 시간 범위에 따라 다릅니다.

참고: 여기에서 사용된 라벨링 양식은 *m/z* 속도 및 괄호 내 전하 상태 추정치를 표시합니다 (피크 간 간격에 따름). 동위 원소가 포함된 것으로 보이는 피크는 또한 별표로 표시됩니다. 라벨링 알고리즘은 ¹³C 외의 동위 원소를 식별하지 못하고 ⁸¹Br 동위 원소가 단일 전하를 띠게 되지만 동위 원소를 포함한다는 것을 올바르게 표시하지 않습니다.

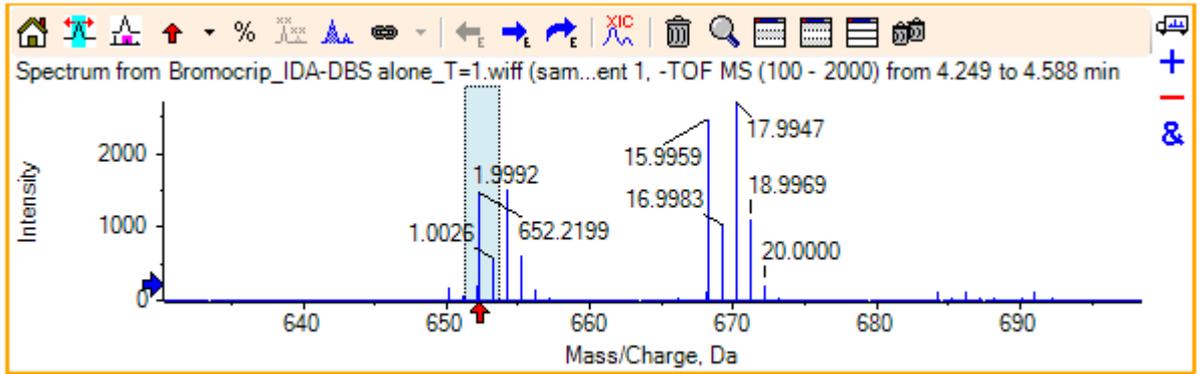
3. **Edit > Options**를 클릭하고 **Peak Labeling & Finding** 탭을 탐색 하며 **Label** 필드에서 **Mass / Charge**로 설정을 변경함으로써 라벨링 양식을 기본 양식으로 변경합니다.
4. **OK**를 클릭합니다.

그림 2-12 다른 라벨링 양식을 가진 스펙트럼



5. 확장된 스펙트럼에서 652.2199에서의 피크 주위를 선택한 후 **Adds arrow markers for selected peaks** 아이콘을 클릭합니다.

그림 2-13 선택된 피크에서 스펙트럼 표시 ↑



질량 라벨링은 선택된 피크와 관련이 있기 때문에 질량 피크 간 차이가 표시됩니다. 668.2158에 있는 피크의 라벨은 산소의 질량에 해당되는 15.9959로 표시되며, 이 피크는 히드록시 브로모크로핀 대사 물질일 가능성을 시사합니다.

팁! 화살표를 또 다른 피크로 드래그함으로써 이동시킬 수 있고 화살표 아이콘과 인접한 목록에서 **Remove All Arrows**를 선택함으로써 제거할 수 있습니다.

6. 15.9959로 피크 라벨이 표시된 주위를 선택한 후 **선택용 XIC 표시** 아이콘을 클릭합니다.
7. **XIC Selection Ranges** 대화 상자에서 **OK**를 클릭합니다.

그림 2-14 XIC 선택 범위 대화 상자

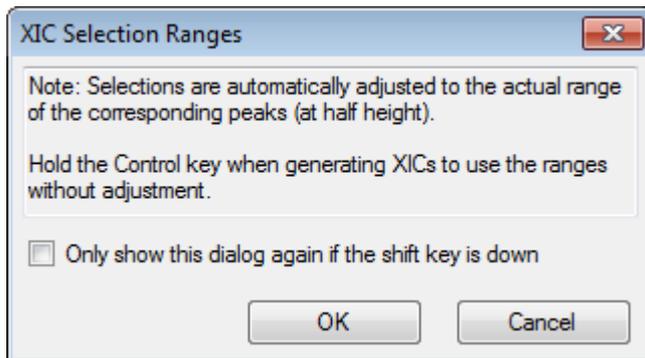
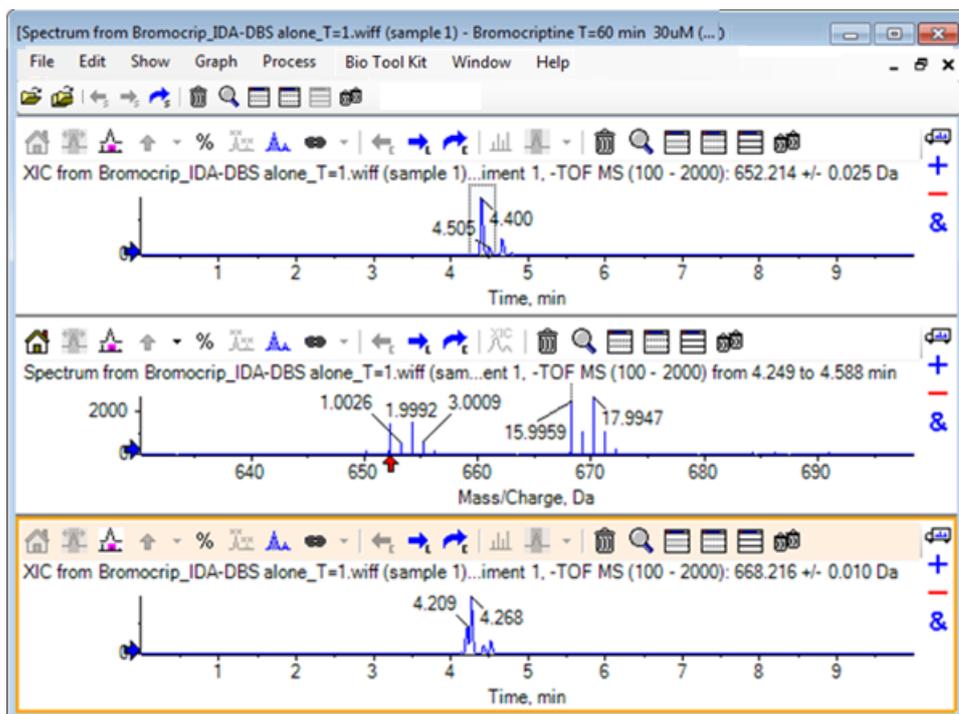


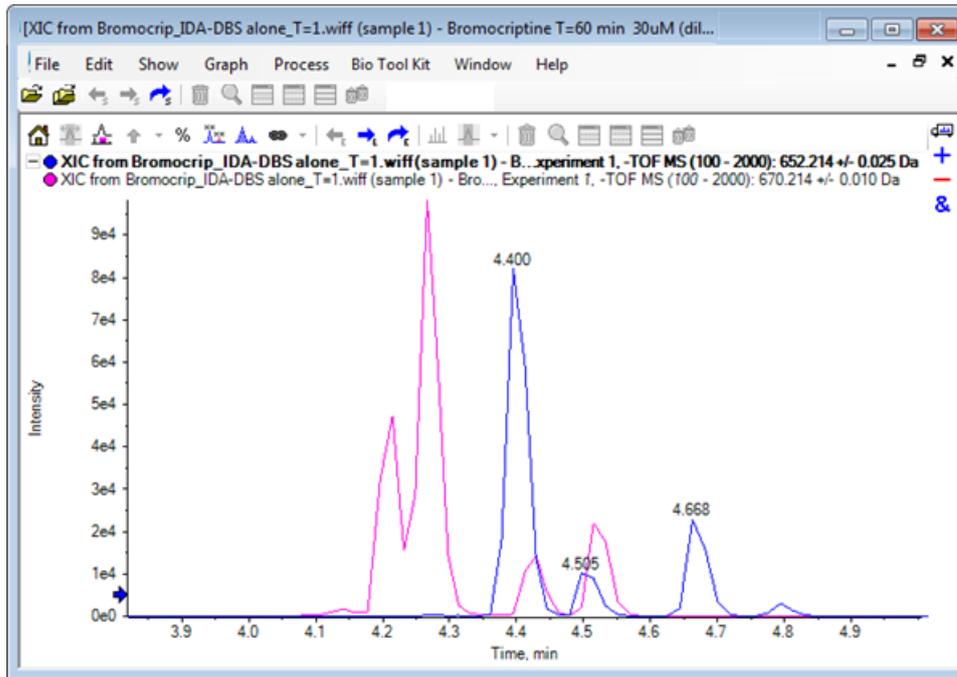
그림 2-15 XIC



이것은 XIC를 상호 생성할 수 있는 유용한 방법입니다. XIC에 사용되는 폭은 절반 높이에서의 질량 피크 폭이며 스펙트럼에서 선택 링크가 자동으로 표시됩니다.

8. 선택 링크를 드래그하여 표시된 XIC를 업데이트하고 단계를 반복함으로써 추가합니다.
9. 새로운 크로마토그램 내 **Drag to another graph to overlay the active data in the target graph** 아이콘을 클릭한 후 이들이 중첩되도록 크로마토그램을 기존 XIC 창으로 드래그합니다.

그림 2-16 중첩된 XIC

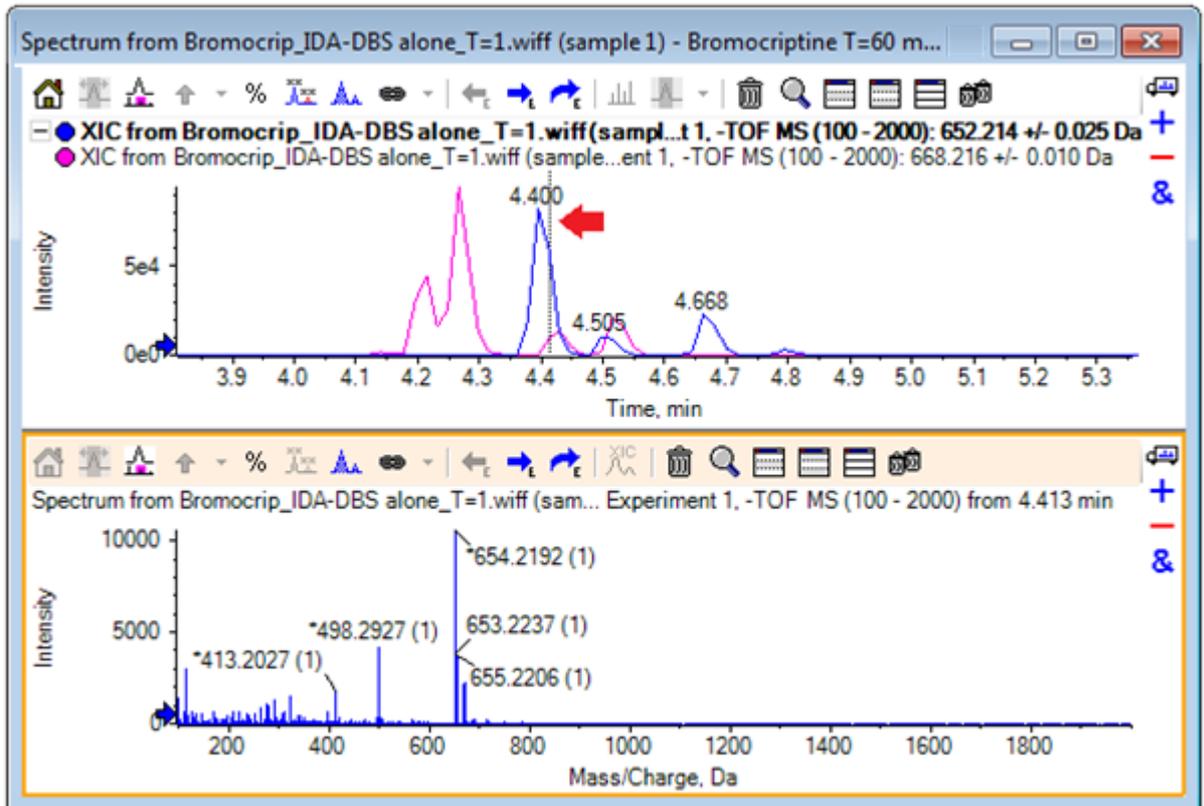


10. 두 번째 크로마토그램 창과 스펙트럼을 숨기거나 삭제한 후 4분에서 5분 주위의 영역이 표시 되도록 중첩된 크로마토그램을 확대합니다.

4.4분 주위에는 각 XIC에서 하나씩 생성된 두 개의 피크가 있으며, 가까이 용리되었지만 머무름 시간이 똑같지는 않습니다. 또한 668.216 크로마토그램에서 많은 피크가 발생했으며 이는 아마도 다른 히드록시 대사 물질의 존재가 있다는 것을 표시합니다.

11. 4.40분에서 크로마토그램 창을 두 번 클릭해 단일 스캔에서 발생한 스펙트럼을 생성합니다.

그림 2-17 단일 스캔에서 발생한 스펙트럼



XIC에서 파선은 이와 같은 스캔을 표시합니다(그림 2-17에서 화살표로 표시). 선을 드래그하면 4.40분 주위의 영역을 탐색할 수 있도록 스펙트럼이 업데이트됩니다. 한 번에 하나의 스캔을 이동시키려면 전방 및 후방 화살표 키를 사용합니다. 668.215 이온에 대한 신호가 0(여기에서 배경이 꽤 높을 수 있음)인 영역으로 파선을 이동함으로써 652.214 m/z 속도의 피크에 대해 클린 스펙트럼을 달성할 수 있지만 후자에 해당하는 클린 스펙트럼은 이 방법으로 달성할 수 없습니다.

12. 스펙트럼 창을 삭제합니다.

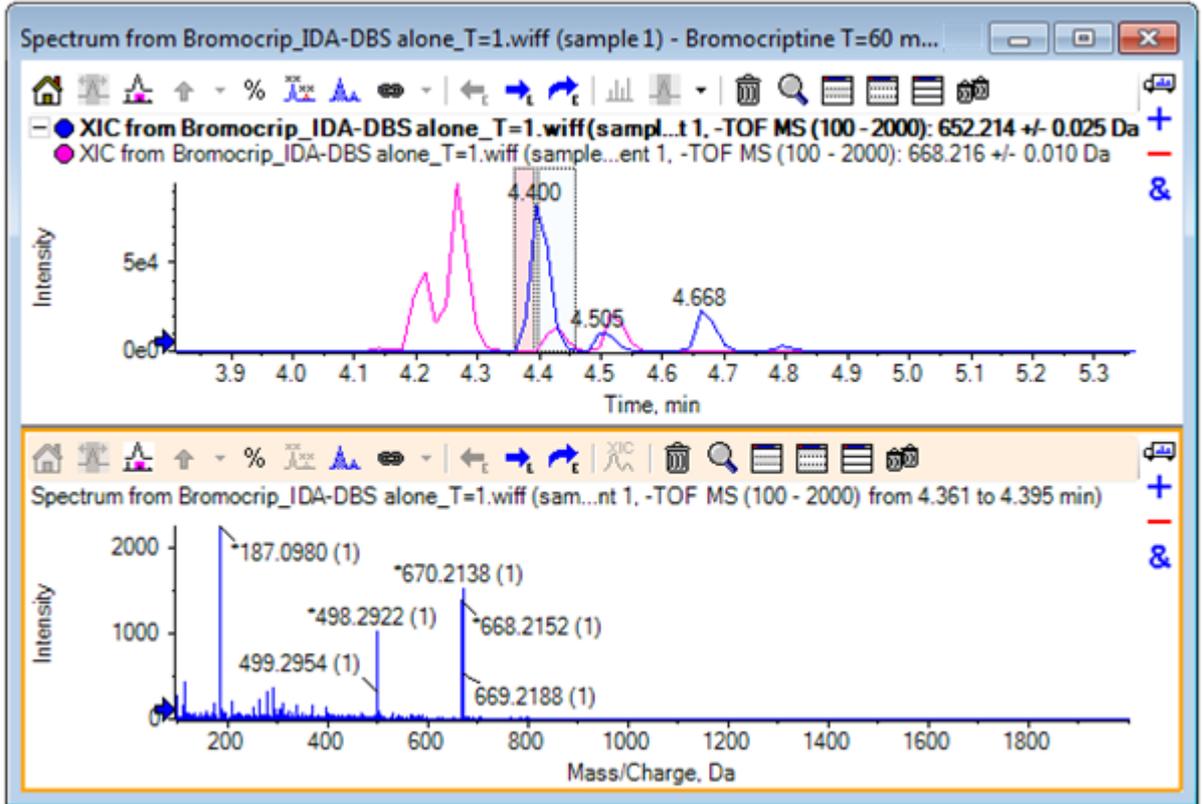
13. 크로마토그램 창에서 652 피크의 왼쪽 측면을 포함하지만 668 피크를 피해가는 좁은 영역을 선택한 후 **배경 분리 범위 설정** 아이콘을 클릭합니다.

선택 영역이 분홍색으로 변합니다.

분리 범위가 정의된 경우 이후 생성된 모든 스펙트럼에서 자동으로 분리됩니다. 분리 범위는 **분리 범위 설정** 아이콘 오른쪽의 화살표를 클릭한 후 목록에서 **분리 범위 지우기**를 선택하여 제거할 수 있습니다.

14. 크로마토그램에서 668 피크의 정점을 포함하지만 652 피크는 가능한 조금 포함하는 또 다른 영역을 선택한 후 **선택에 대한 스펙트럼 표시** 아이콘을 클릭합니다.

그림 2-18 668 피크용 배경 분리된 스펙트럼



결과는 668 피크에 대한 배경 분리된 스펙트럼으로 652 피크를 거의 포함하지 않습니다. 비록 배경이 보이지 않지만 크로마토그램에서 두 개의 선택 영역은 각 스펙트럼에 연결되어 있으며 크로마토그램의 다른 부분으로 이동할 수 있습니다. 스펙트럼 표시 영역의 이동을 통해 표시된 스펙트럼을 업데이트할 수 있지만 배경 영역은 변경되며 이후 생성된 스펙트럼에만 적용됩니다.

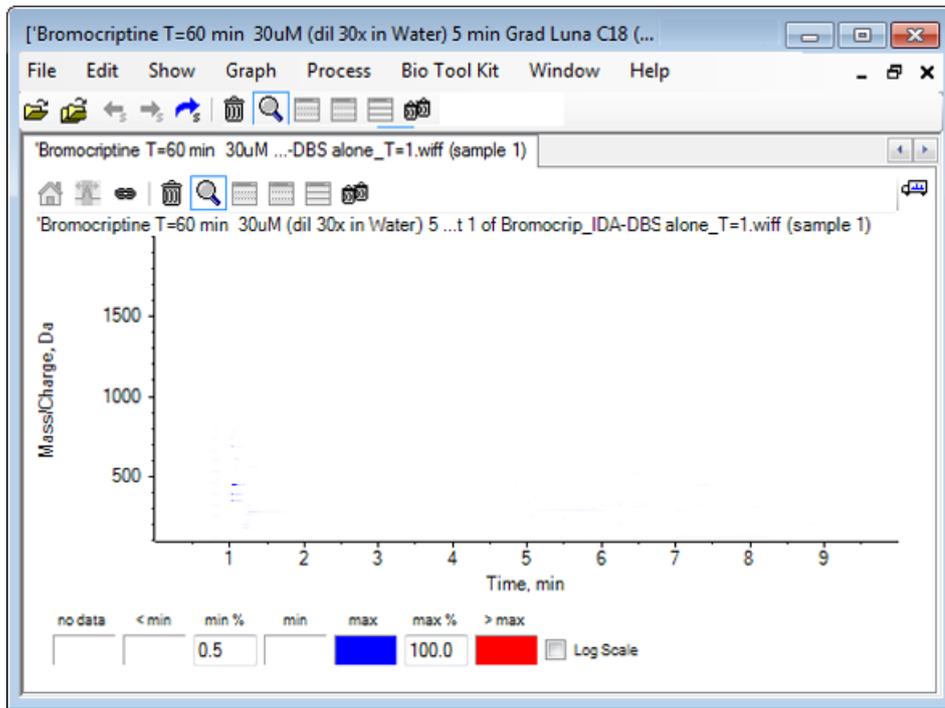
15. **Hides all other panes** 아이콘을 클릭하고 단일 스펙트럼 TIC를 클릭한 후 **Deletes all other panes** 아이콘을 클릭해 TIC만 표시되도록 합니다.
16. TIC 창이 삭제된 경우 **Show > Total Ion Chromatogram (TIC)**을 클릭하고 **Period 1, Experiment 1**을 선택한 후 **OK**를 클릭합니다.

등고선 플롯 사용

데이터 세트(크로마토그램 또는 스펙트럼)의 일부를 볼 수 있는 대안으로 등고선도를 사용해 실험의 전체 개요를 확보합니다. 등고선도는 매우 유용할 수 있지만 최고의 결과를 얻기 위해 종종 시각 매개 변수를 조절해야 합니다. 이 경우 전구물질 화합물은 브롬과 화합하며 등고선도는 브롬 동위 원소 유형을 통해 피크를 찾는 방법을 제공합니다.

1. 단일 실험 TIC 활성을 통해 **Show > LC/MS Contour Pane**을 클릭한 후 결과 등고선도 도구 모음에서 **Expands active pane to fill window** 아이콘을 클릭하여 유일 창이 보이도록 합니다.
2. 모양 제어(하단 왼쪽 모서리의 컬러 상자)가 보이지 않는 경우 창에서 오른쪽 버튼을 클릭하고 **Show Appearance Control**을 클릭합니다. **등고선 플롯 및 히트맵** 및 참조 안내서를 참조하십시오.

그림 2-19 등고선도

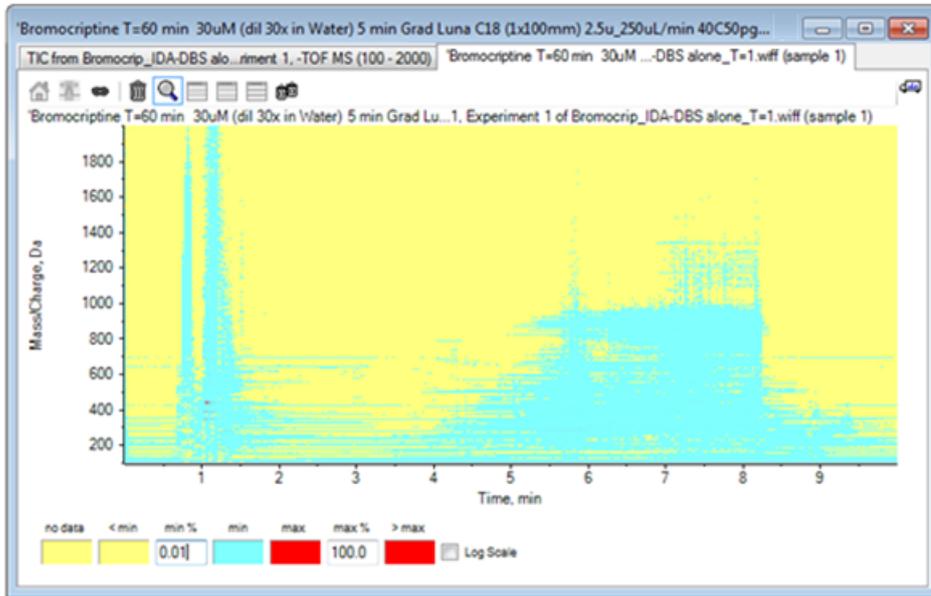


팁! 실제 피크를 어둡게 하는 낮은 수준의 피크 및 잡음이 지배하기 때문에 기본 매개 변수를 통한 보기는 매우 유용하지 않습니다. 다음을 통해 보다 나은 보기 생성:

- 표시할 최소 강도를 변경. 이를 통해 데이터를 볼 수 없는 지점과 동일한 색깔로 표기된 이 레벨 이하의 모든 데이터 포인트가 변경됩니다.
- 컬러 매핑을 변경하여 사용 가능한 컬러가 작은 피크의 가시성을 향상시키는 보다 좁은 강도 범위를 포괄하도록 합니다.

3. **min %** 값을 **0.01**로 변경합니다. 이는 기본 피크의 0.01% 이하의 강도를 가진 모든 데이터 포인트가 사라지게 합니다.

그림 2-20 등고선도



데이터에서 훨씬 더 많은 구조가 표시됩니다. 공극 부피 및 컬럼 세척 영역은 알아보기 쉽고 모든 머무름 시간에 존재하고 수직선으로 표시되는 수 많은 배경 피크가 있습니다.

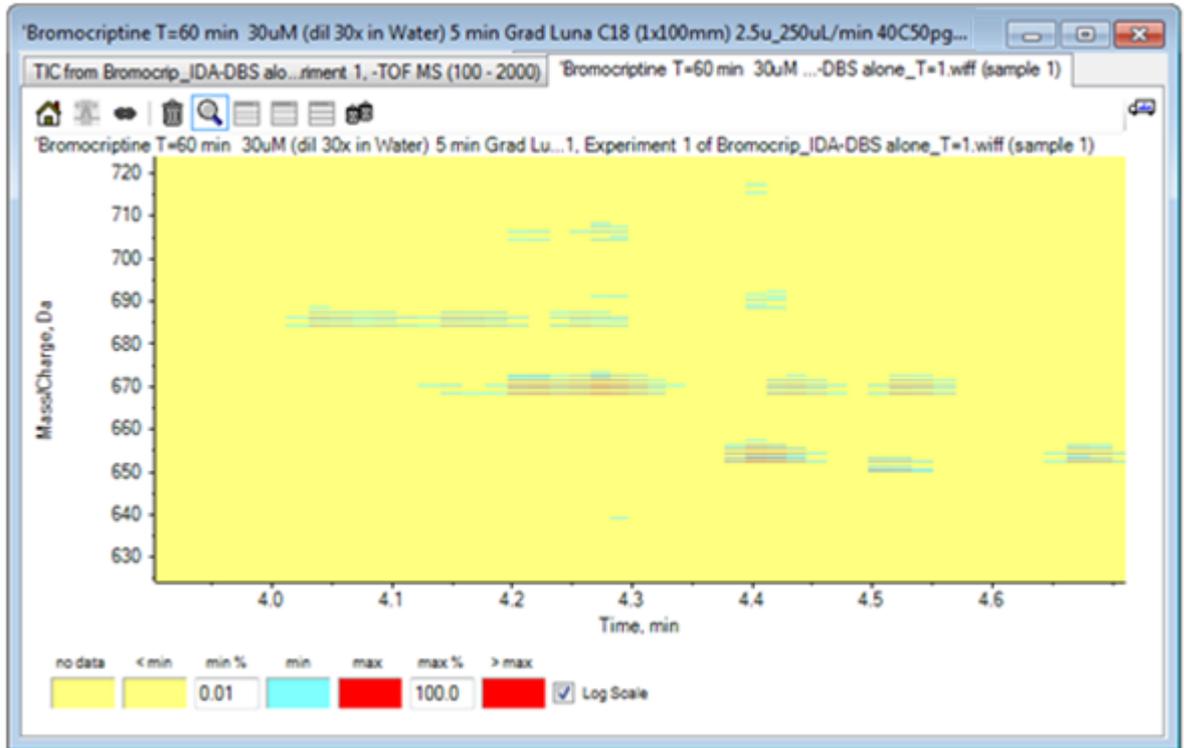
4. **Log scale** 체크 박스를 선택합니다.

낮은 피크 강도(예: 질량이 600에서 700 범위인 4분에서 4.5분 주위의 집단)를 향상시키는 효과가 있는 강도 로그에 (기본 피크 강도의 백분율로) 선택한 색상이 매핑됩니다.

5. 이 영역을 선택한 후 **Zooms selection to full view**를 클릭합니다.

팁! 어느 때와 마찬가지로 x 및 y 축을 독립적으로 확대/축소할 수도 있습니다.

그림 2-21 등고선도



화면은 이 영역에 ^{79}Br 및 ^{81}Br 동위 원소 및 ^{13}C 동위 원소와 일치하는 네 개의 평행선 세트를 통해 구별할 수 있는 수많은 브롬 처리된 피크가 있다는 것을 보여줍니다.

6. 컬러 컨트롤 설정으로 실험하고 화면 상의 효과를 관찰합니다.

7. 종료되면 창을 닫습니다.

데이터 파일도 닫습니다.

요약

이 섹션에서는 다음 작업에 대해 논의했습니다.

- TIC를 나타내는 데이터 파일 검색 및 열기
- 화면을 변경해 하나의 실험만 사용되도록 합니다.
- 질량 계산기를 사용해 요소 구조에서 이온의 질량을 확인하고 질량을 사용해 XIC를 생성합니다.
- 스펙트럼 및 크로마토그램의 양방향 생성 및 스펙트럼 상에서 화살표 기호 사용으로 피크 간 질량 차이를 표시합니다.
- 스펙트럼이 차감된 배경 생성

크로마토그램 및 스펙트럼을 통해 작업

- 등고선도를 사용해 데이터 세트의 개요를 생성합니다.
이런 작업은 표시되는 데이터 유형에 관계 없이 모든 양방향 데이터 처리의 기본입니다.

IDA 실험에서 하나 이상의 조사 스펙트럼(MS3으로 예상됨)이 특정 기준을 충족하는 경우 MS/MS 스펙트럼 데이터가 자동 수집됩니다. 특정 시간동안 전구체 질량(트리거로 작용할 수 없도록 함)을 배제함으로써 동일한 LC 피크에서 비롯된 여러 스펙트럼의 수집을 방지하기 위해 매개 변수를 설정하는 것은 일반적입니다. 가끔씩 불필요한 스펙트럼이 수집되는 경우가 있습니다. 이와 더불어 피크가 기준을 충족하는대로 IDA 트리거가 작동하기 때문에 일반적으로 LC 피크 초기에 스펙트럼을 생성하며 최고의 품질을 제공하지 않을 수 있습니다.

소프트웨어에는 IDA 데이터를 표시하고 필터링하며 처리하는 도구가 포함되어 있습니다. 이 섹션에서 일부 도구에 대해 알아보십시오.

시작 전 열린 모든 창을 닫습니다.

스펙트럼 표시 및 병합

1. 메인 도구 모음에서 **Open Sample** 아이콘을 클릭합니다.

Select Sample 대화 상자가 열립니다.

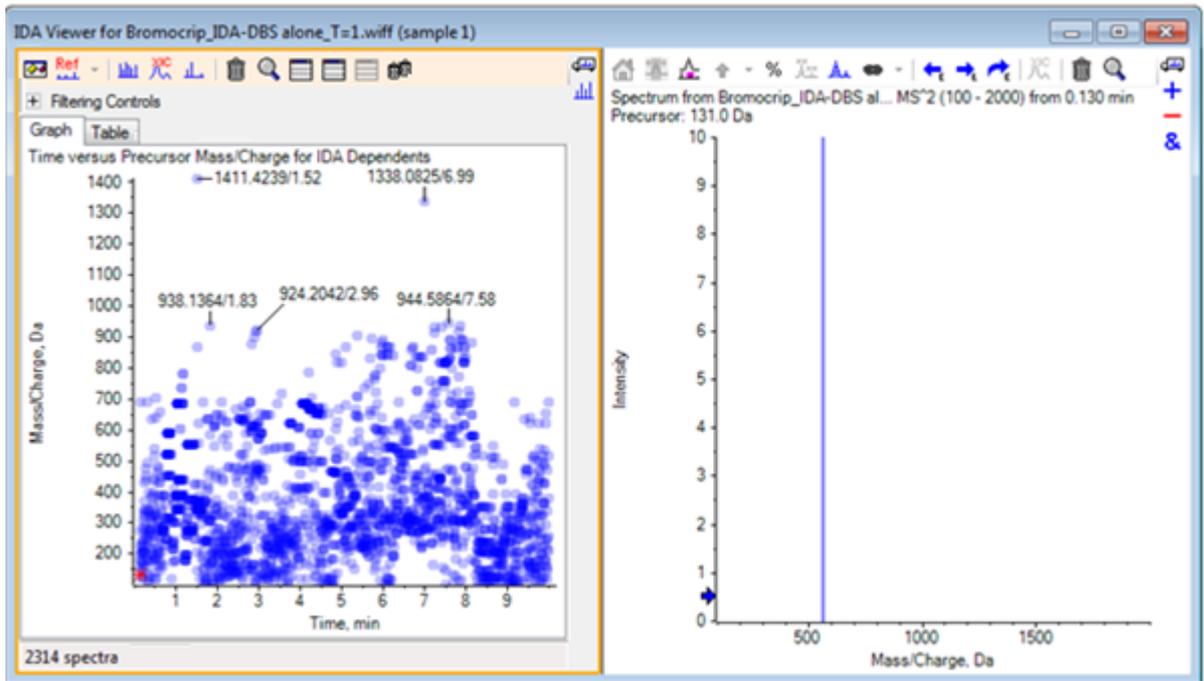
2. **Sample Data** 폴더가 아직 선택되지 않은 경우 **Browse**를 클릭하여 **Sample Data** 폴더를 탐색합니다.

3. **Bromocrip_IDA-DBS alone_T=1.wiff** 파일을 선택한 후 **OK**를 클릭합니다.

4. **Open IDA Sample** 대화 상자에서 **With the IDA Explorer**를 클릭한 후 **OK**를 클릭합니다.

프로그램은 데이터 파일 내 모든 스펙트럼을 검사한 후 다음 그래프를 생성합니다.

그림 3-1 IDA 뷰어



왼쪽 패널은 **Graph** 탭 및 **Table** 탭을 포함합니다. **Graph** 탭은 모든 데이터 포인트가 머무름 시간을 나타내며 전구체 이온으로 선택되었던 이온의 m/z 속도를 나타내는 가상 등고선도를 표시합니다. **Table** 탭은 가상 등고선도에서 데이터 포인트의 표 보기를 보여줍니다. 오른쪽 패널은 선택된 데이터 포인트의 스펙트럼을 보여줍니다. 처음에 MS/MS 스펙트럼이 나타납니다.

등고선도는 피크 강도를 반영하기 위해 컬러 강도를 사용합니다. 짙은 컬러는 강도가 더 센 피크를 표시합니다. 가능한 경우 라벨이 표기되어 데이터 포인트가 서로 중첩되지 않도록 합니다. 등고선도를 주밍해 영역을 보다 자세하게 검사하고 더 많은 라벨을 보여줍니다.

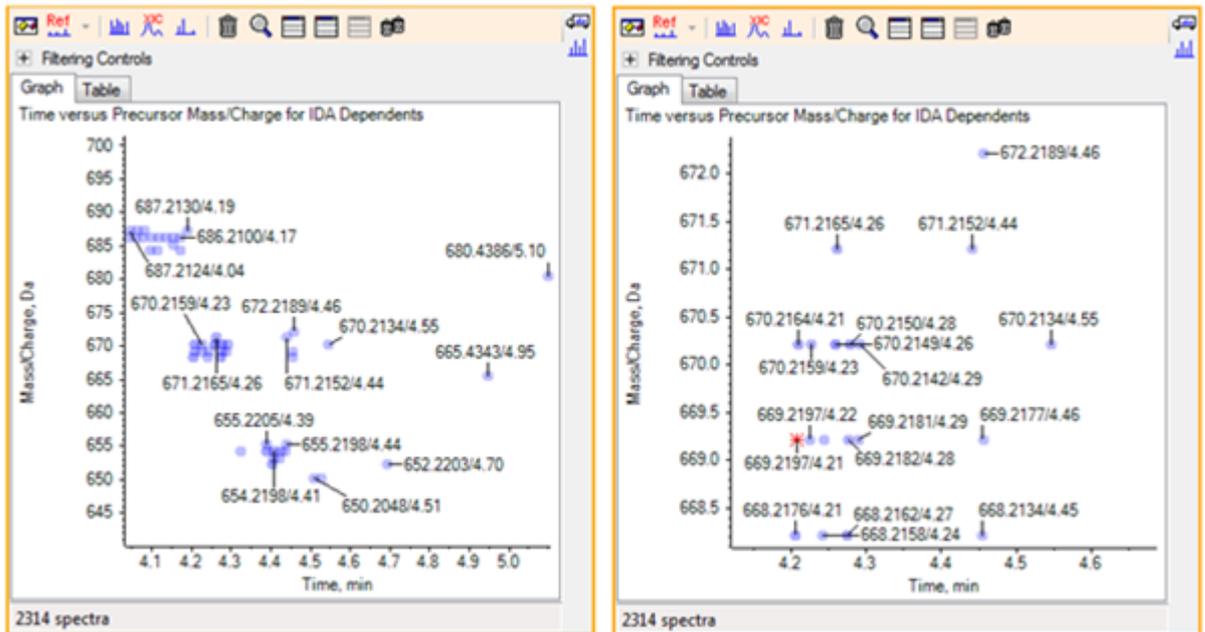
5. 왼쪽 패널에서, 이전에 브로모크립틴과 관련된 피크가 발견된 4분에서 5분까지, 640 Da에서 700 Da까지의 영역을 확대/축소합니다.

왼쪽(그림 3-2) 그림은 왼쪽 패널만 보여줍니다. 현재 화면이 다른 경우 **Show Options** 아이콘을 클릭하고 **Options**의 **General** 탭 대화 상자에서 **Merge spectra with similar precursor masses** 체크박스를 지웁니다.

많은 수의 MS/MS 스펙트럼이 이 영역에서 수집되었고 크로마토그래피 피크가 매우 협소함에도 불구하고 이런 피크는 동일한 피크에서 비롯됩니다. 또한 동위 원소 집단의 각 피크에 대해 MS/MS 스펙트럼이 수집되었습니다.

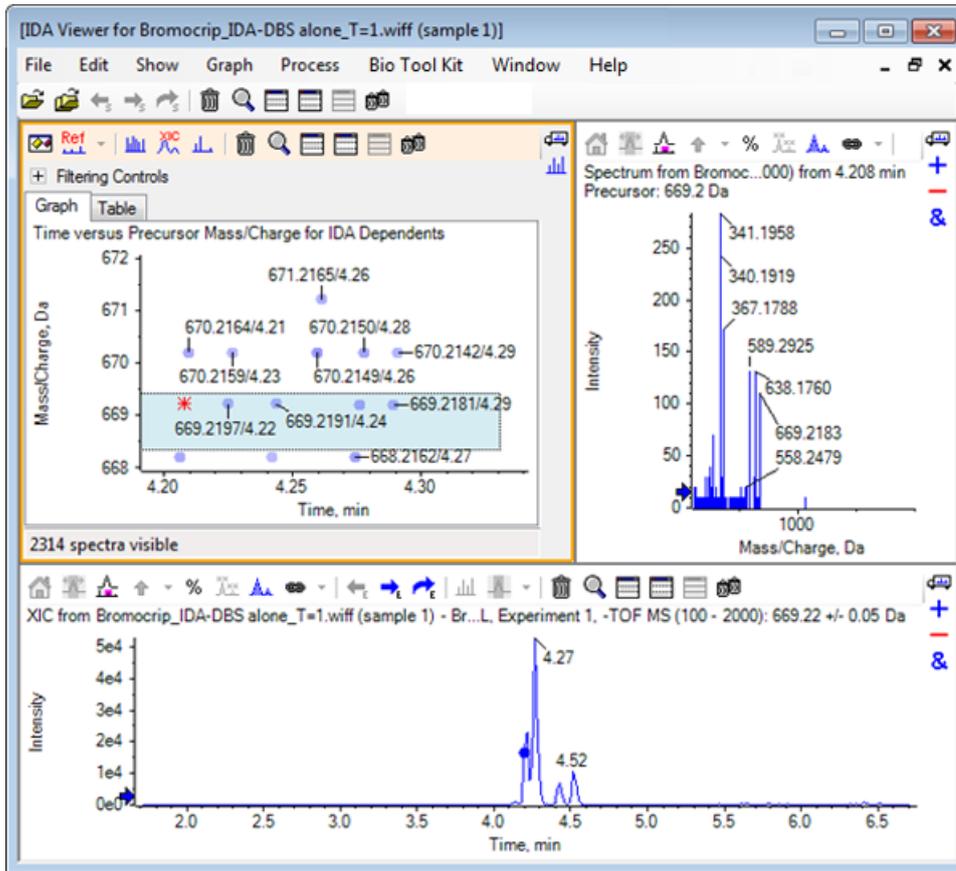
6. 그래프에 보다 자세히 확대/축소하여 668 Da ~ 672 Da m/z 의 속도로 피크 클러스터에 집중합니다. 그림 3-2의 오른쪽 패널을 참조하십시오.

그림 3-2 IDA 뷰어



7. 669.2197 피크의 처음을 선택(위의 오른쪽 패널에 별표로 표시)한 후 **Displays an XIC for selection** 아이콘을 클릭하면 조사 스캔에서 전구체 질량에 대한 XIC를 보여줍니다.
초기에 피크를 선택함으로써 해당 MS/MS 스펙트럼이 나타나게 됩니다.

그림 3-3 조사 스캔에서 전구체 질량에 대한 XIC



등고선도에서 라벨이 붙지 않은 데이터 포인트가 있는 경우 생성 이온 스캔 시간이 조사 크로마토그램과 관련되도록 커서를 옮겨 m/z 속도 및 머무름 시간 라벨을 표시하도록 합니다.

669.2 피크에서, 처음 세 개의 스캔은 4.21분의 첫 번째 XIC 피크와 관련된 것이고, 여기서 668.2 스캔도 생성되었습니다. 이후 두 개의 스캔은 4.27분의 피크와 관련된 것이고, 마지막 스캔은 4.42분의 피크(669.2177/4.46)와 관련된 것입니다. 4.52분의 669.2 피크에는 스캔이 수행되지 않았지만 670.2 피크에는 스캔이 확보되었습니다.

참고: 비록 동일한 조사 스캔에서 검출되었더라도 순서에 따라 확보되었기 때문에 스캔 시간은 약간 다릅니다. 작은 동위 원소 피크는 큰 동위 원소만큼 빨리 검출되지 않을 수 있습니다.

8. 처음 다섯 번의 669.2 스캔 주위에 선택 직사각형을 그리고 오른쪽 버튼을 클릭한 후 **Select Points in Graph Selection**을 선택합니다.

이를 통해 스펙트럼 창이 모든 MS/MS 스펙트럼을 겹치게 할 수 있습니다.

시스템이 필요한 것보다 더 많은 스캔을 확보했습니다. 너무 가까이에 있어 다른 화합물이 될 수 없는 화합물의 처리 및 융합을 위해 스펙트럼의 숫자를 줄임으로써 고품질의 결과를 확보할 수 있습니다. 이런 스캔 측정을 위해 융합 시 질량 및 머무름 시간 모두를 사용합니다.

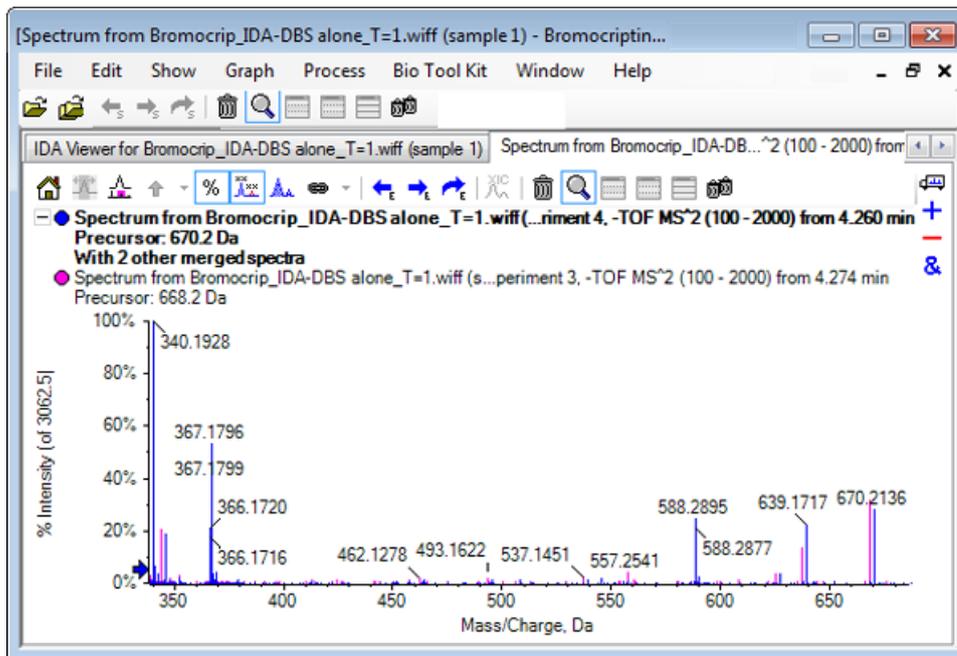
9. **Show Options** 아이콘을 클릭하고 **Merge spectra with similar precursor masses**를 선택한 후 **Mass tolerance**를 10 ppm으로 **RT gap tolerance**를 0.03분으로 설정합니다. (이 분석 내 피크는 대략 2초 간격입니다).
10. **OK**를 클릭합니다.

참고: 이 대화 상자 부분을 통해 사용자는 XIC가 추출되는 방법 또한 정의할 수 있습니다. 질량 폭은 기기의 분해능 또는 피크 폭과 일치해야 하며 이는 처리를 가속화하기 때문에 사용된 시간 범위를 제한하는 것이 유용합니다.

이러한 방법으로 데이터를 병합하면 4.21분, 4.28분, 4.46분에 세 개의 669.2 피크가 생성됩니다. IDA 보기 창 하단의 상태 표시줄은 데이터 융합 과정을 보여주고 융합이 완료된 후에 종속 스펙트럼의 총 수를 보여줍니다.

11. 670.2149/4.26에서 데이터 포인트를 클릭한 후 **Ctrl** 키를 누르고 668.2162/4.27에서 포인트를 클릭합니다.
12. MS/MS 스펙트럼 창에서 **Expands active pane to fill window** 아이콘, **Use percent y-axis** 아이콘 및 **Label all overlaid traces** 아이콘을 클릭한 후 x축에 확대/축소해 340 ~ 680의 영역을 나타낼 수 있도록 합니다.

그림 3-4 스펙트럼: 340 ~ 680 m/z 의 영역에 확대/축소



두 개의 전구체가 Br 동위 원소에 해당하기 때문에 스펙트럼은 Br 원자를 보유한 이온을 제외하고 동일해야 합니다. Br 원자는 두 개의 Da로 분리되는 한 쌍의 피크로 표시됩니다. 이 사례의 경우 344.0441, 625.1765 및 637.1712에서 단편(668.2 추적)은 Br 원자를 보유한 반면 340.1925, 367.1796 및 588.2877에서는 그러하지 못했습니다.

588.2877 피크에 화살표를 표시하면 668 피크와 670 피크가 Br 동위 원소 플러스 1의 질량으로 라벨이 표시되는 것으로 봐서 588.2877은 HBr의 손실을 나타냅니다.

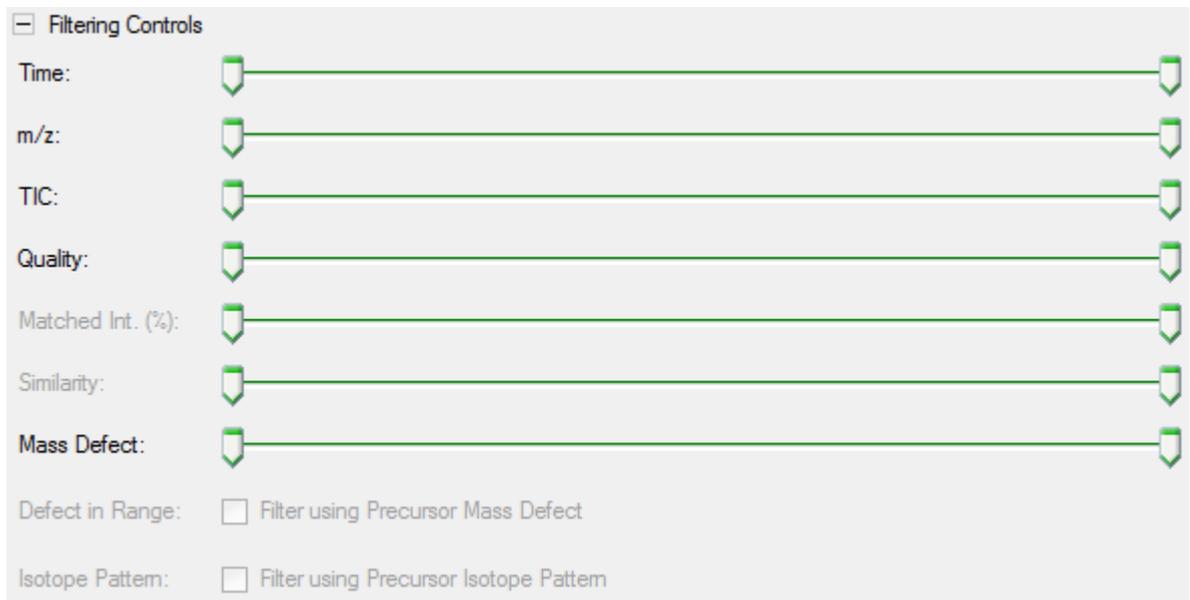
13. 스펙트럼에서 화살표를 제거하고 **Expands active pane to fill window** 아이콘을 클릭한 후 모든 데이터 포인트를 보려면 등고선도를 zoom아웃합니다.

IDA 데이터 필터링

IDA 탐색기에는 시각화하거나 처리할 수 있는 데이터의 양을 줄이는데 사용 가능한 많은 필터가 포함되어 있습니다. 이 섹션에서 이들에 대해 설명합니다.

1. 등고선도에서 **Expands active pane to fill window** 아이콘을 클릭한 후 도구 모음 바로 아래에 있는 **Filtering Controls** 옆의 아이콘을 클릭합니다.

그림 3-5 Filtering IDA Data



이 창에는 슬라이더와 체크 박스가 여러 개 표시되며, 각각은 표시되는 데이터 양을 조정하기 위해 사용할 수 있는 다양한 필터링 조건에 해당됩니다. 머무름 시간(시간) 및 m/z 속도(m/z)를 여기에서 또는 화면을 확대/축소함으로써 선택할 수 있습니다.

나머지 필터는 다음과 같습니다.

- **TIC:** MS/MS 스펙트럼에서 피크 강도 총합에 대한 제한을 설정합니다. 이것은 대개 작은 잡음 스캔을 제거하는데 사용됩니다.
- **Quality:** 1 카운트의 등가물보다 더 큰 강도 총합에 대한 일부로 잡음이 될 가능성이 거의 없으며 이를 통해 스펙트럼 품질을 추산할 수 있습니다.
- **Matched Int. (%):** **Fragment Matching**을 사용할 경우 알고 있는 단편 수와 중성 손실로 표시된 강도 총합의 일부를 평가합니다.

- **Similarity:** 기준 스펙트럼이 설정된 경우에 사용 가능합니다. 이 기능은 기준 스펙트럼에서 일반적인 단편과 중성 손실에 해당되는 강도 총합의 일부를 측정합니다. **기준 스펙트럼 사용** 내용을 참조하십시오.
- **Mass Defect:** 질량의 일부분에 대한 단일 범위를 설정합니다. 일반적인 대사 수정(0, 02 등)에서는 전구체 분자의 결손을 크게 변화시키지 못하므로 결손에 가까운 범위를 이용하면 가능한 대사 물질이 표시될 수 있어 이 기능은 대사 물질을 찾을 때 유용합니다.
- **Defect in Range:** 단일 질량 결손 범위와 더불어 소프트웨어를 통해 사용자는 다른 질량 범위에 적용되는 여러 결손을 정의할 수 있습니다. 이런 범위가 정의된 경우 이 체크 박스를 통해 사용자는 필터의 적용 여부를 결정할 수 있습니다. **Options** 대화 상자의 **Mass Defect** 탭에서 범위를 설정할 수 있습니다.
- **Isotope pattern:** 이 체크 박스를 사용해 사용자는 MS 조사 데이터에 하나 이상의 동위 원소 유형 필터를 적용할 수 있습니다. 다시 말해, 선택된 전구체 이온에 원하는 유형이 적용되어 있을 때에만 해당 데이터 포인트가 표시됩니다. 이런 유형은 **Options** 대화 상자의 **Isotope Pattern** 탭에서 정의됩니다.

각 샘플 필터에는 두 개의 슬라이더가 있어 범위를 정의할 수 있습니다. 슬라이더를 두 번 클릭한 후 값을 직접 입력합니다.

2. 슬라이더 설정을 실험하고 **TIC** (예를 들어, 1e3) 또는 **Quality** (1)값에 대한 최저 설정에서도 놀라운 결과가 발생하는지 주목합니다. 하단 **TIC** 필터는 2e3으로 나머지 모든 장치는 0으로 설정합니다.

브로모크립틴의 질량 결손은 약 0.22로서 단순 대사 물질이 이것 또는 훨씬 큰 값을 가질 가능성은 거의 없습니다.

3. **Mass Defect** 필터를 0.18과 0.23으로 설정하고 나머지 피크가 4.5분 및 650 Da 가깝이에 있고 이 범위(4.40분)에 652.2211 *m/z* 비율에서 생성된 하나의 데이터 포인트만 있는지 확인합니다.
4. **Filtering Controls** 옆에 있는 아이콘을 클릭함으로써 필터링 제어 장치를 숨깁니다.

팁! 표시할 필터를 변경하려면 필터 영역에서 마우스 오른쪽 버튼을 클릭하고 **Filters**를 선택한 후 원하는 필터를 선택합니다.

기준 스펙트럼 사용

1. 등고선도 내 652.2211/4.40(브로모크립틴 자체)에서 데이터 포인트를 클릭한 후 **기준 스펙트럼 설정(유사성 점수용)** 아이콘을 클릭합니다.

참고: 우선 그래프를 확대/축소하는 것이 필요할 수 있습니다.

2. **기준 스펙트럼 설정(유사성 점수용)** 아이콘 옆의 화살을 클릭한 후 **기준 스펙트럼 중첩**이 선택되었는지 확인하십시오.

3. 654.2185/4.39에서 데이터 포인트를 클릭합니다.

정의된 기준 스펙트럼 및 **기준 스펙트럼 중첩** 선택을 통해 표시된 어떠한 스펙트럼도 중첩된 기준 스펙트럼을 가지고 있어 쉽게 비교할 수 있도록 합니다. 이것은 피크의 이동 여부를 결정하는 빠른 방법을 제공하기 때문에 대사 물질로 작업할 때 유용합니다.

낮은 질량의 브롬 동위 원소(기준)에 대한 전구체 이온의 MS/MS 스펙트럼을 생성하고 여기에 높은 질량의 동위 원소에 대한 스펙트럼을 중첩시켰기 때문에 이전에 668.2 피크에 대해 생성된 것과 유사한 화면이 나타납니다. 즉, 두 개의 Da가 따로 떨어져 있는 피크의 존재로 브롬을 포함한 이온을 식별할 수 있습니다.

4. **활성 창을 확장해 창을 채움** 아이콘을 클릭한 후 등고선도에서 **Table Filtering Controls** 를 클릭합니다.

참고: 필요한 경우 표(드래그 및 드롭으로 창 재배열 아이콘) 아래에 있는 스펙트럼 창을 이동해 모든 칼럼이 보이도록 합니다.

표는 그래픽 탐색기와 동일한 정보를 표시하지만 추가 세부 사항을 제공합니다. 표는 또한 필터링 제어 장치에 응답해 두 화면이 동일한 스펙트럼을 포함하도록 합니다. 열 선택을 통해 스펙트럼을 업데이트할 수 있도록 표가 스펙트럼 화면에 연결되며 칼럼 헤더를 클릭함으로써 열을 분류할 수 있습니다.

기준 스펙트럼이 정의되는 경우 두 개의 추가 칼럼이 표시됩니다. **Delta m/z**는 기준 물질 전구체 질량 및 열과 일치하는 스펙트럼 간 차이점을 보여줍니다. **Similarity**는 두 스펙트럼의 유사성을 표시합니다.

5. **Delta m/z**를 클릭해 표를 분류한 후 약 15.995(산소 질량)씩 차이가 나는 여러 피크와 히드록시 브로모크로틴 대사 물질일 가능성이 있는 31.990(O₂) 피크 하나가 표에 들어 있는지 확인합니다.
6. 표에서 열을 클릭해 관련 스펙트럼을 표시합니다.

참고: 이런 스펙트럼은 전구체 질량이 포함된 스캔에서 두 개 Da 이상인 것과 같이 높은 유사값을 가지고 있으며 이는 ⁸¹ 브롬을 포함한 이온으로부터 획득되었습니다.

요약

이 섹션에서는 다음 작업에 대해 논의했습니다.

- 그래픽 및 표 형태의 IDA 탐색기 뷰어를 사용하여 IDA 파일을 검사합니다.
- 이것이 필요하다는 것을 결정한 이후에 관련 스펙트럼을 융합합니다.
- TIC 및 질량 결손 필터를 사용해 표시된 스펙트럼 수를 필터링합니다.
- 비교 가능하도록 스펙트럼을 겹칩니다.
- 기준 스펙트럼을 정의하고 표를 사용해 가능성 있는 대사 물질을 찾습니다.

이런 작업은 IDA 데이터를 처리하는데 있어 핵심입니다.

다음 섹션에서는 브로모크립틴의 MS/MS 스펙트럼을 통해 구조 도구를 사용하는 방법을 설명합니다.

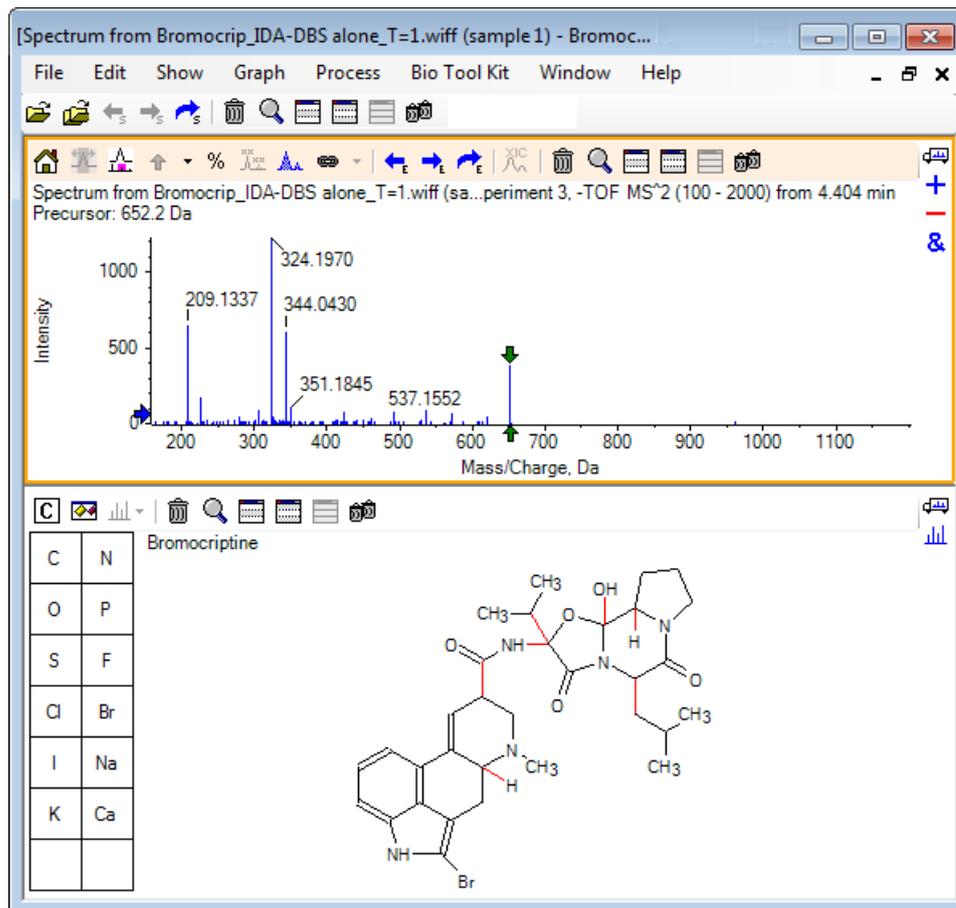
소프트웨어는 이온 질량을 구조(.mol 파일로 저장)에 연결하고 생체 내 변화에 대한 잠재적인 위치를 검색하는데 도움을 주는 도구를 포함하고 있습니다.

구조를 MS/MS 스펙트럼으로 연결

1. 브로모크립틴의 MS/MS 스펙트럼, 652.2211/4.40을 지정합니다. [IDA 탐색기로 작업](#)을 참조하십시오.
2. 등고선도에서 **Hides all other panes** 아이콘을 클릭하여 스펙트럼만 볼 수 있도록 합니다.
3. **File > Open Mol File**을 클릭합니다.
4. **Select Mol File** 대화 상자에서 **Bromocriptine.mol** 파일을 선택한 후 **Open**을 클릭합니다. 설치 데이터 파일 위치에 대한 정보는 [구성](#)을 참조하십시오.

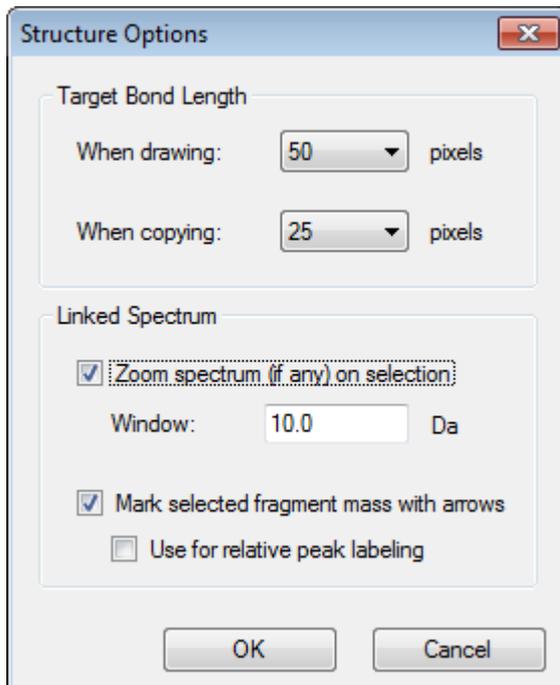
스펙트럼 아래에 구조 및 도구를 보여주는 새로운 창이 열립니다.

그림 4-1 브로모크립틴 구조



- 구조 창에서 **Show options dialog**를 클릭하고 **Zoom spectrum (if any) on selection** 및 **Mark selected fragment mass with arrows** 체크 박스를 선택했는지 확인한 후 **OK**를 클릭합니다. 다른 매개 변수는 변동 없이 그대로 있을 수 있습니다.

그림 4-2 Structure Options 대화 상자



구조 창이 생성된 경우 스펙트럼이 활성화되었기 때문에 스펙트럼 및 구조는 자동 연결됩니다. **Displays a spectrum for selection** 아이콘을 적절한 스펙트럼에 드래그함으로써 구조를 스펙트럼에 수동으로 연결합니다.

구조 창에서 드래그를 하면 커서를 따라 선(라쏘)이 이동하며 사용자가 이 선으로 구조의 일부 또는 전체를 선택하면 굵은 면이 작성됩니다. 연결된 스펙트럼이 있기 때문에 확대/축소 및 스크롤하여 선택된 하위 구조의 질량 주변 영역을 표시합니다.

6. 분자 전체 둘레에 라쏘를 그리면 $(M - H)^+$ 이온에 해당하는 652.2177의 m/z 비율에서 피크를 표시하도록 보기가 변경됩니다.

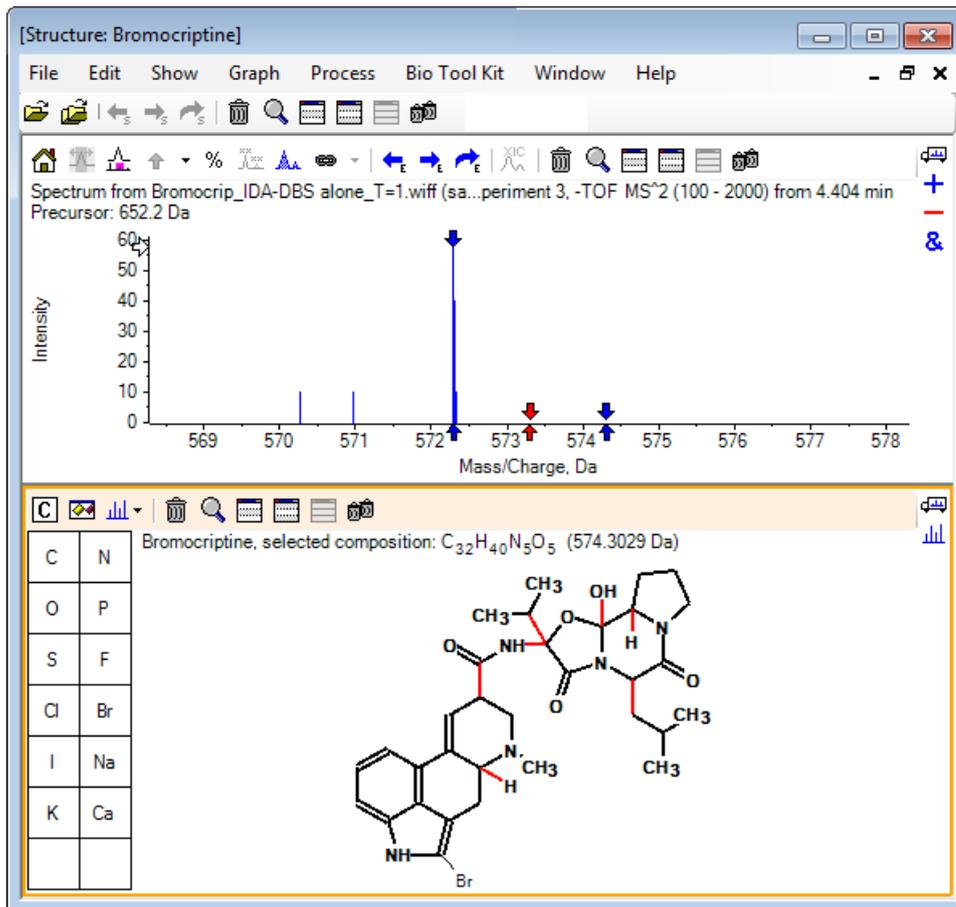
Mark selected fragment mass with arrows 체크 박스가 선택되었기 때문에 빨간 화살표를 피크 위 및 아래에 표기하여 이것이 선택된 영역과 일치하는 이온의 기대 질량임을 표시합니다(즉, $(M - H)^+$, 이 데이터가 네거티브 모드이기 때문).

참고: 구조 창의 제목은 선택과 일치하는 요소 구조 및 중성 화합물의 질량을 표시합니다(즉, 653.2213 Da 질량을 갖춘 $C_{32}H_{40}N_5O_5Br$).

Mark selected fragment mass with arrows가 선택된 경우 구조 창에 아무 것도 선택되지 않았을 때 녹색 화살표가 652.2177 피크에 표기됩니다. 이것은 녹색 화살표가 현재 선택의 보완물을 표시하며 선택되지 않은 경우 보완물이 전체 분자이기 때문입니다.

7. 브롬 원자를 제외한 전체 분자를 선택합니다. [그림 4-3](#) 내용을 참조하십시오.

그림 4-3 브로모크립틴 구조



참고: 브롬 원자는 일반 서체로 된 단 하나이며 구조 창의 제목은 질량이 574.3029 Da인 C₃₂H₄₀N₅O₅ 요소를 표시합니다. 스펙트럼에서 빨간색 화살표는 선택 부분의 예상 질량(즉, 브롬 질량을 뺀 (M-H)⁻ 분자 이온 질량)을 표시하며 양쪽에 1 Da 떨어진 곳에 화살표가 있습니다. 분열 중 추가 수소 원자가 증대 또는 손실되는 것은 일반적이며 소프트웨어는 균열된 각 결합에 대해 파란색 화살표 한 쌍을 +1 및 -1로 그림으로써 이 가능성을 표시합니다. 이 경우에서 하나의 결합이 균열됨에 따라 두 개의 추가 화살표만 남게 됩니다.

스펙트럼의 실제 피크는 이 화살표 중 하나와 일치하며, 수소 원자 즉, HBr의 추가 손실을 표시하므로 이온 질량은 (M-H-HBr)⁻을 나타냅니다.

단편으로 사용

소프트웨어에는 결합을 해제함으로써 형성된 종의 질량 및 수소 원자를 추가 또는 제거함으로써 형성된 종의 질량을 생성할 수 있는 단편 이온 예측 변수가 포함되어 있습니다.

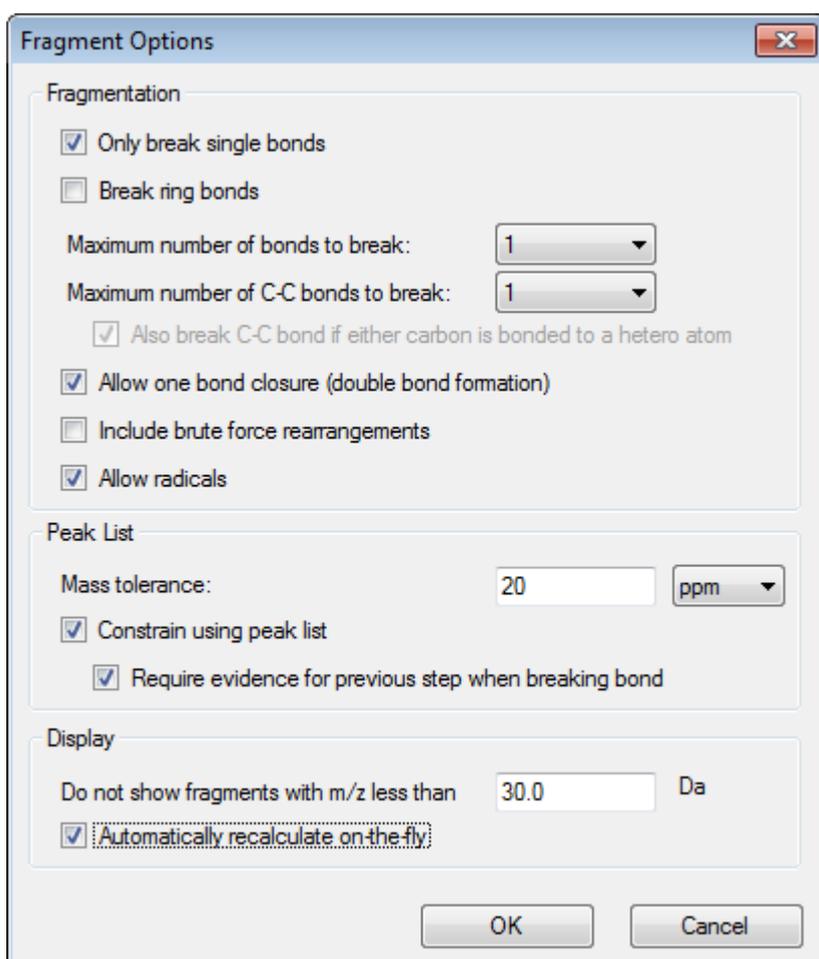
참고: 이 예측은 완전히 산술이며 화학 논리가 사용되지 않고 생성되는 단편을 과대평가하는 경향이 있지만 유용한 단편 분석 도구입니다.

1. 구조 창 활성화를 사용해 **Show > Fragments Pane**을 클릭합니다.

Fragment Options 대화 상자의 설정에 따라 진행 표시줄을 표시할 수 있습니다. [그림 4-4](#) 내용을 참조하십시오.

2. **Show options dialog** 아이콘을 클릭하고 [그림 4-4](#)에서 보여지는 것과 같이 매개 변수를 설정한 후 **OK**를 클릭합니다.

그림 4-4 Fragment Options 대화 상자



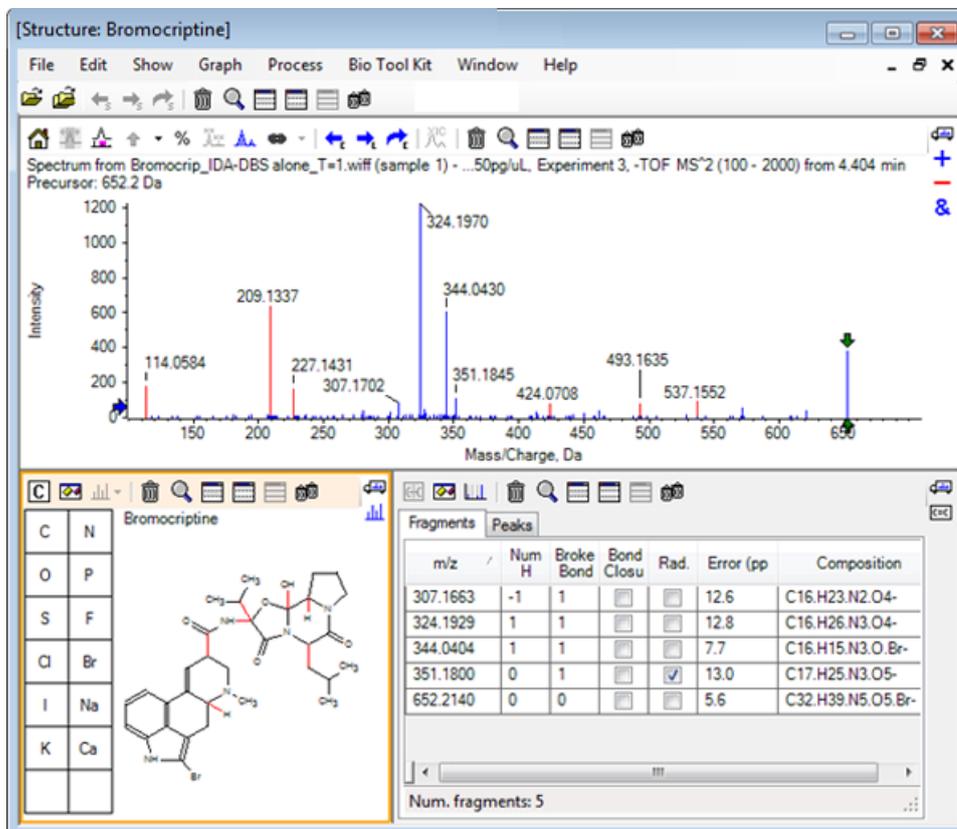
작고 단순한 단편 세트가 생산될 수 있도록 옵션을 설정한 후 관찰된 이온을 설명하는데 있어 필요에 따라 결합 수 및 유형을 증대시킵니다. 결합 해제를 허용함으로써 프로그램 속도가 느려지고 가능성이 없는 많은 단편을 생성할 수 있습니다.

Fragment Options 대화 상자 내 대부분의 매개 변수는 참조 안내서에 설명되어 있지만 다음 사항을 숙지해야 합니다.

- **Automatically recalculate on-the-fly** 체크 박스를 선택한 경우 스펙트럼의 어떠한 변경 사항(다른 스펙트럼으로 전환, 매개 변수 조정) 또는 선택을 통해 단편을 재계산해야 할 수 있습니다. 이것은 일반적으로 원하는 행동이지만 많은 단편을 생산하기 위해 옵션을 설정하는 경우 분석 속도에 영향을 미칠 수 있습니다. 이 옵션을 사용하지 않는 경우 **Fragment** 아이콘을 클릭합니다.
- **Constrain using peak list**는 소프트웨어가 스펙트럼 내에서 적절한 허용 오차를 가진 피크와 일치하는 단편만을 보여준다는 것을 의미합니다.
- **Require evidence for previous step when breaking bond**는 하나 이상의 결합을 해제하는 경우에만 효과적입니다. 우선 프로그램은 하나의 결합을 해제한 후 결과 조각에서 결합 해제를 고려합니다. 이 옵션을 선택한 경우 추가 해제 작업 전의 조각에 해당하는 이온이 반드시 있어야 합니다.

이러한 매개 변수를 통해 화면은 [그림 4-5](#)와 유사해야 하지만 임계값 설정(또는 라벨링)을 넘어서는 피크만 고려되기 때문에 약간 다를 수 있습니다.

그림 4-5 브로모크립틴 구조



참고: 단편 탭의 피크와 일치하는 할당된 피크(파란색) 및 할당되지 않은 피크(빨간색)를 표시하기 위해 스펙트럼 내 피크에 색상을 입힙니다.

단편 창에는 두 개의 탭이 포함됩니다.

- **Fragments:** 이 사례에서, 이러한 조건에서는 많은 수의 단편이 생성되지 않고 **Constrain using peak list** 체크 박스가 선택되었기 때문에 스펙트럼 내에서 피크와 일치하는 몇 개의 단편만 보여주므로 목록이 짧습니다.
- **Peaks:** 스펙트럼 내에서 임계값을 넘어서는 피크, 피크 강도 및 단편에 할당된 여부를 나열하는 표를 표시합니다. 할당된 피크의 경우 질량 오류 또한 보여줍니다.

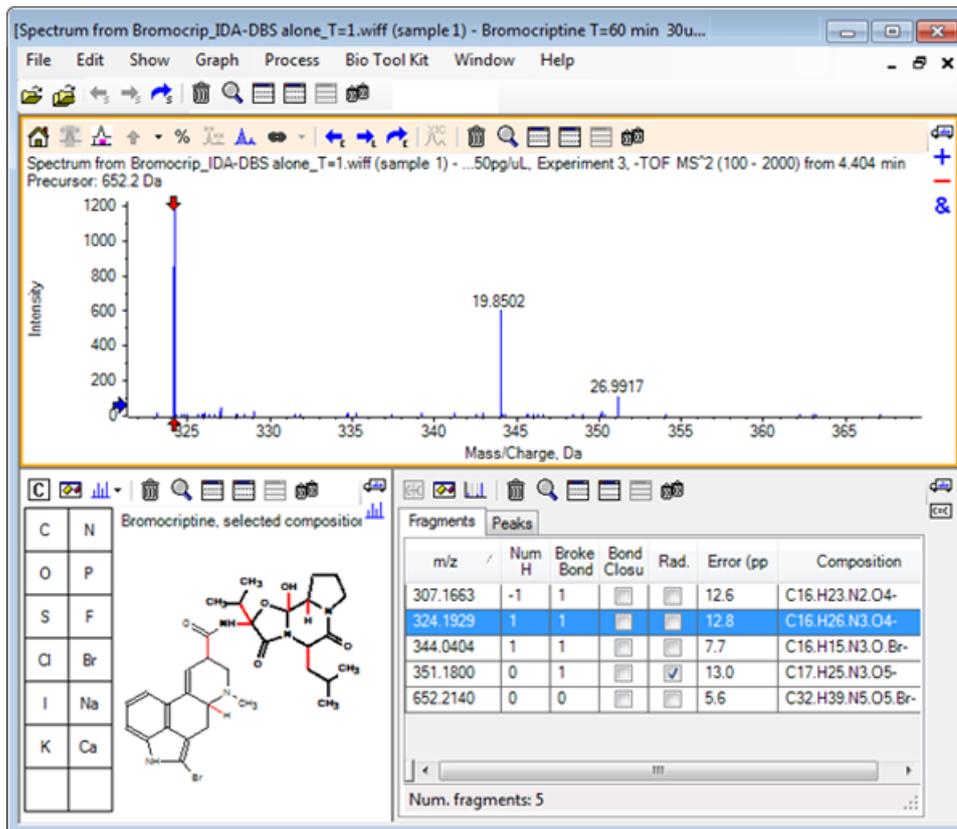
그림 4-6 Fragments Pane

Mass/Charge	Intensity (%)	Assign	Error (ppm)	Radica
114.0584	14.88	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
209.1337	52.33	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
227.1431	13.74	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
307.1702	7.20	<input checked="" type="checkbox"/>	12.6	<input type="checkbox"/>
324.1970	100.00	<input checked="" type="checkbox"/>	12.8	<input type="checkbox"/>
344.0430	49.22	<input checked="" type="checkbox"/>	7.7	<input type="checkbox"/>
351.1845	9.08	<input checked="" type="checkbox"/>	13.0	<input checked="" type="checkbox"/>
424.0708	6.62	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

Matches: 5 of 11 peaks, 66.0% of total intensity

3. **Fragments** 탭에서 324.1929의 m/z 속도에 해당하는 열을 선택합니다. 피크는 이것이 기대 질량이라는 것을 보여주기 위해 빨간 화살표로 표시되고 해당 하위 구조는 구조 창에서 볼드체로 표기됩니다.

그림 4-7 Fragmentation Dialog



참고: 구조 창 제목의 구조 및 질량은 이제 중성 화합물의 질량이 아닌 이온의 질량을 반영합니다.

4. 다른 단편에 할당된 구조를 검사합니다.

이들 구조는 분자의 두 개의 고리형 부분을 분리하는 중앙 아마이드 결합과 모두 관련이 있으며 가능성 또한 있어 보입니다.

참고: 할당된 요소 구조는 ⁷⁹Br 및 ⁸¹Br을 포함한 분자 이온 스펙트럼을 비교함으로써 단편 내에 Br이 존재하는지를 추론한 **기준 스펙트럼 사용**에서 생성된 중첩된 스펙트럼과 일치합니다.

5. 전체 질량 범위를 볼 수 있도록 스펙트럼을 확대/축소합니다.

다수의 피크 중 두 개 즉, 분자의 두 측면에 해당하는 324.1970 *m/z*와 344.0430 *m/z*가 할당되고 파란색으로 표시됩니다. 하지만 많은 피크가 여전히 할당되지 않습니다.

6. **Options** 대화 상자를 연후 **Maximum number of bonds to break**을 2로 변경합니다.

참고: 이 옵션은 임계값 설정에 따라 작은 피크 몇 개는 할당시키지만 보다 많은 피크(예: 114.0584, 209.1337 및 227.1431 m/z 비율)는 할당시키지 못합니다. 스펙트럼이 빨간 화살표와 관련하여 라벨이 붙는 경우 구조 창에서 모든 선택 사항을 클릭하여 지워 절대 질량값을 보여주도록 합니다.

7. **Break ring bonds** 체크 박스를 선택한 후 **OK**를 클릭합니다.

이제 209.1337 및 227.1431 m/z 에서의 이온을 포함해 많은 수의 이온이 추가로 일치됩니다. **Fragments** 창에서 새로운 질량을 선택해 하위 구조를 강조하면 이러한 현상이 분자의 고리형 펩티드 부분에서의 고리 분열과 관련이 있다는 것을 보여줍니다. 이런 이온은 이 영역에서 대사 수정 위치를 결정하는데 있어 유용할 것으로 예상됩니다.

하위 구조를 스펙트럼으로 추가

구조의 일부를 선택 후 선택한 부분을 이용해 향후에 필요 시 참조할 스펙트럼 주석을 추가합니다. 스펙트럼 창 크기에 따라 구조 창 내 **Options** 대화상자를 사용해 복사용 **Target Bond Length**를 조절합니다.

1. **Fragment Options** 대화 상자에서 **Break ring bonds** 체크 박스를 지워 단편 수를 단순화합니다.
2. 단편 창에서 더 풍부한 이온들 중 하나와 일치하는 열을 선택해 해당 하위 구조를 강조합니다.
3. 구조 창 내에서 클릭합니다.
4. **Edit > Copy**를 클릭합니다.
5. 활성 스펙트럼 창에서 오른쪽 버튼을 클릭한 후 **Paste Image**를 클릭합니다.

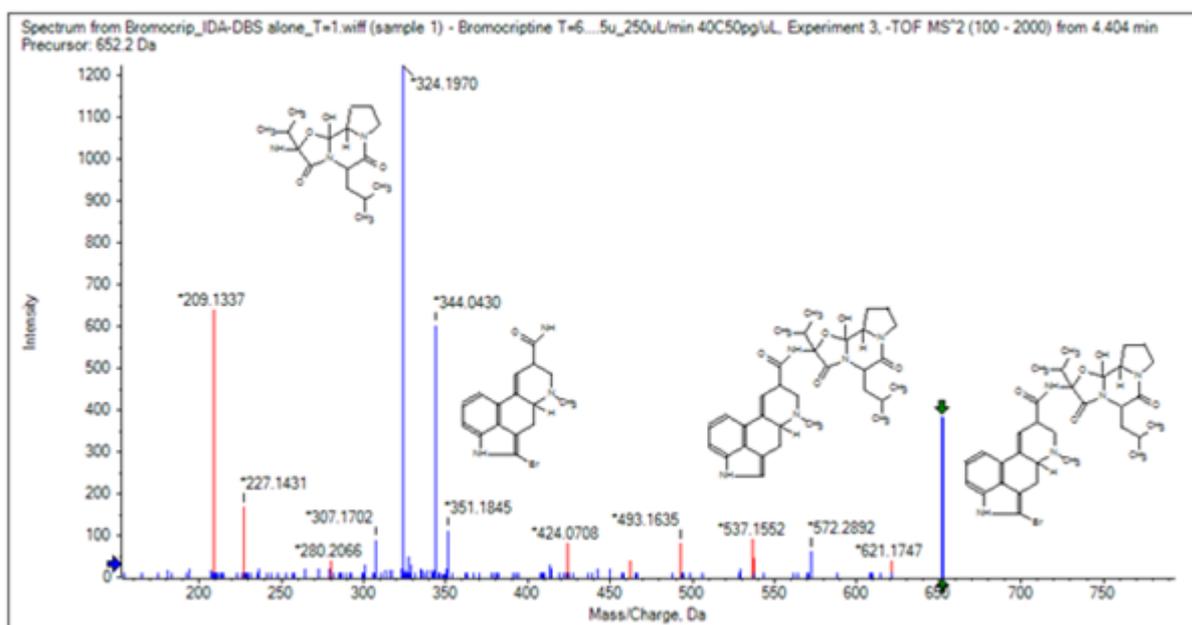
이를 통해 하위 구조 이미지를 스펙트럼 창에 붙여넣기할 수 있습니다.

6. 원하는 위치로 드래그하여 이미지를 이동시킵니다. 오른쪽 버튼을 클릭하여 **Delete Image**를 선택함으로써 이미지를 완전히 삭제할 수 있습니다.

이미지는 스펙트럼, 즉 질량 강도 위치에 연결되어 있어 사용자가 스크롤 및 확대/축소할 수 있습니다.

7. [그림 4-8](#)과 유사한 최종 이미지를 생성하려면 다른 단편 이온에 대해 2 ~ 6단계를 반복합니다.

그림 4-8 하위 구조가 추가된 스펙트럼



8. 하위 구조의 위치를 확인하려면 **File > Print > Print Preview Window**를 클릭합니다.

일치된 이온은 파란색으로 표시되어 있기 때문에 해당 구조와 쉽게 결합됩니다.

9. 이미지를 복사한 후 묘화 프로그램에 붙여넣기하여 선 또는 다른 기능을 추가합니다.

관련된 MS/MS 스펙트럼으로 작업

일부 어플리케이션에서 수정된 화합물, 예를 들어 대사 물질의 스펙트럼과 전구체 화합물의 스펙트럼 및 구조를 비교하는데 유용합니다.

1. IDA 탐색기를 사용해 등고선도를 다시 보여줍니다. 668.2176/4.21에서 피크를 선택한 후 등고선도를 숨깁니다.

구조 및 단편 창이 스펙트럼과 연결되어 있기 때문에 이들이 업데이트되어 새로운 스펙트럼을 반영하지만 구조는 전구체 화합물에서 확보되는 반면 스펙트럼은 추가 산소 원자를 가진 화합물에서 확보되었습니다(질량에서 16 Da 이상). 많은 경우 여전히 일치되는 일부분이 있어 변화되지 않은 분자의 부분을 표시하지만 이 경우에 중요한 이온 중 그 어떤 것도 일치되지 않고 빨간색으로 표기됩니다.

구조 창에는 일부 간단한 그림 도구를 포함하고 있어 일치점을 발견할 수 있는 경우 구조에 대한 수정을 확인할 수 있습니다.

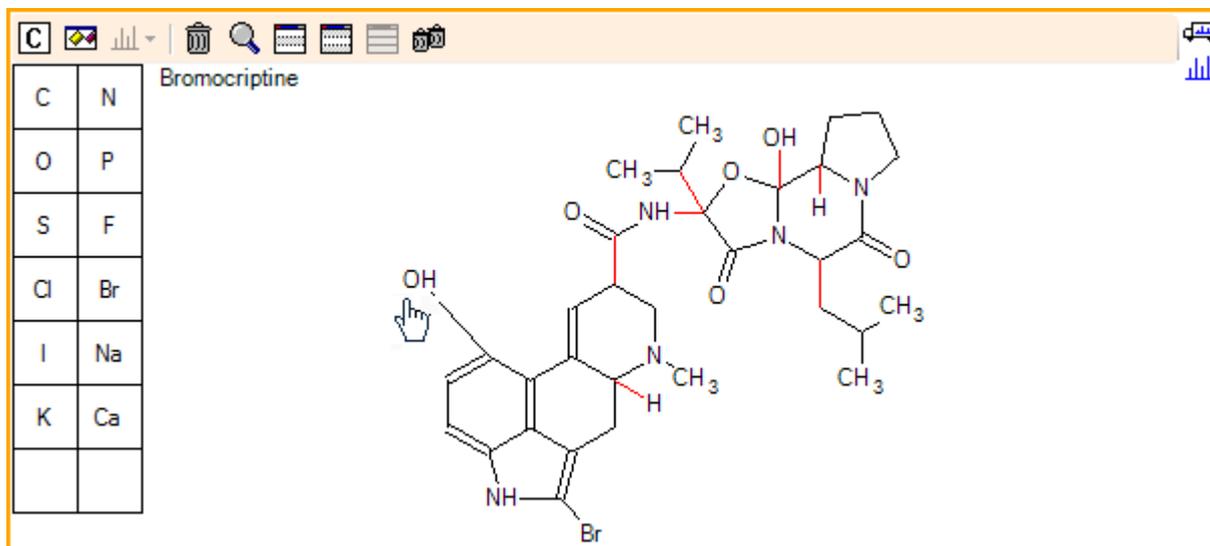
2. 구조 창의 왼쪽 측면에는 요소 기호가 있는 그리드가 포함됩니다. **O**를 클릭한 후 메인 구조를 향해 드래그합니다.

원자가 구조와 가까운 경우 구조와 가깝게 드래그하여 커서를 따르는 결합에 통합됩니다.

구조 도구로 작업

3. O 기호를 드래그하여 구조(에르고린)의 아래 부분까지 결합을 작성한 후 마우스 버튼을 놓습니다(예: 페닐기 링에 새로운 원자를 배치). [그림 4-9](#)는 프로세스를 보여줍니다.

그림 4-9 Structure Pane

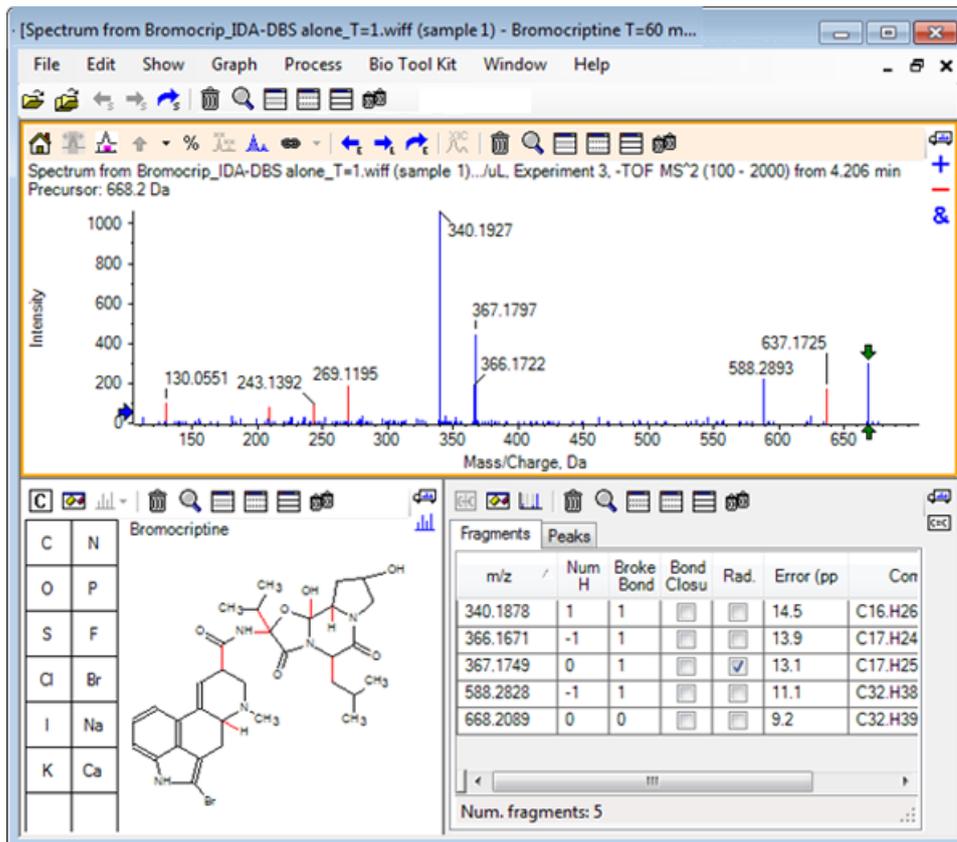


스펙트럼이 다시 업데이트되고 두 일치점(668.2089에서 분자 이온과 588.2828에서 HBr의 손실을 나타내는 이온)이 표시됩니다. 이것으로 이제 전체 요소 구조는 정확하지만 다수의 단편이 일치하지 않는 사실로 봐서 원자가 분자의 올바른 부분에 추가되지 않았다는 것을 제시합니다.

4. OH 그룹을 클릭해 추가한 후 구조의 상단 부분에 있는 피롤리딘 환에 드래그합니다. 이동한 원자만 볼드체로 표기된다는 것을 확인하십시오. 그렇지 않으면 강조된 전체 하위 구조가 이동하게 됩니다.

[그림 4-10](#)에서 확인할 수 있는 것과 같이 이를 통해 340.1927, 366.1722, 및 367.1797에서의 이온이 일치되며 해당 하위 구조는 전구체 화합물의 스펙트럼에서 일치되는 히드록실 이온 형태입니다.

그림 4-10 브로모크립틴에서 비롯된 스펙트럼



일치되지 않는 많은 저질량 피크는 전구체 스펙트럼에 존재했거나 또는 알고리즘에서 링 결합을 해제하도록 허용한 경우 일치했던 히드록실 동등물이지만 637.1725에는 단순한 단편화 단계로 인한 것이며 아직 일치되지 않을 가능성이 큰 고질량 이온이 있습니다.

5. **Fragments** 탭에서 668.2089에 해당하는 열을 선택하여 라벨로 표시하고 나머지 이온도 이와 관련하여 라벨로 표시되도록 합니다.

이것은 637.1725의 피크는 전구체 분자에서 31.0364의 손실에 해당되므로 CH_3NH_2 또는 CH_3O 이 될 수 있음을 보여줍니다. 전구체 분자 스펙트럼에서는 이 이온이 관찰되지 않았기 때문에 구조의 고리형 펩티드 부분에 있는 메틸기 중 하나에서 발생하는 수산화 과정에서 이 이온이 생겼을 가능성이 높아 보입니다.

6. 구조 창에서 두 번 클릭해 구조를 선택 해제한 후 새로운 **OH** 그룹을 구조 오른쪽에 있는 메틸기 중 하나에 드래그합니다.
7. **Fragment Options** 대화 상자를 열고 **Mass tolerance**를 30 ppm으로 설정한 후 **OK**를 클릭합니다.

637 이온은 이제 일치가 되었고 단편 창에서 이 열을 선택하는 것은 이온이 메톡시기 모이어티의 손실에 해당할 수 있다는 것을 보여줍니다.

8. **Fragment Options** 대화 상자를 열고 **Break ring bonds** 체크 박스를 선택한 후 **OK**를 클릭합니다.

세 개의 결합이 해제되도록 허용되는 경우에만(추가 산소 원자 손실 이외에 전구체 분자에 필요한 두 개의 결합) 209에서 이온을 일치시킬 수 있지만 지금은 다수의 단편을 일치시킬 수 있습니다.

참고: 이제 Fragments창에는 637.1905와 같은 몇 가지 질량에 해당하는 여러 행이 포함됩니다. 각 행은 각각의 단편에 해당됩니다(결합 해제가 허용된 경우는 더 많은 행이 생성됩니다). 단편 창의 Peaks탭에는 질량 정확도, 해제된 결합 수, 단편이 radical인지 여부 등을 기반으로 최상이라고 할 수 있는 일치점만 표시됩니다. 이 경우에 최고의 일치는 전구체 화합물을 위해 생성될 수 있었던 단편에 해당하지만 관찰되지 않았으며 이에 따라 단편 탭에서 확인할 수 있는 추가 옵션은 명백하지 않은 잠재적 경로를 제안하는데 유용할 수 있습니다.

요약

이 섹션에서는 다음 작업에 대해 논의했습니다.

- 구조를 .mol 파일에 입력한 후 스펙트럼에 연결합니다.
- 구조의 일부를 선택 후 해당 질량 피크의 존재 여부를 확인합니다.
- 단편 창을 생성한 후 매개 변수를 설정하여 간단한 단편을 관찰합니다.
- 일치하는 구성, 하위 구조 및 질량 피크를 나타내기 위해 **Fragments** 및 **Peaks** 탭으로 작업합니다.
- 더욱 복잡한 단편화 경로를 허용할 수 있도록 **Fragment Options**을 변경합니다.
- 하위 구조를 스펙트럼 창에 추가합니다.
- 구조를 변경해 대사 물질 등의 관련된 분자의 단편화를 분석합니다.

일반적으로 관찰된 이온을 설명하는데 있어 필요에 따라 단순한 단편화 프로세스 및 추가 단편화 옵션을 허용함으로써 시작하는 것은 우수한 사례입니다. 이것은 이온 단편이 일반적으로 일련의 단계에서 세분화된다는 사실과 일치하며 보다 단순한 단편이 여러 결합을 깨뜨리는 일치된 단계에서보다 먼저 형성된다는 사실과 일치합니다. 단순한 단편이 불안정적일 수 있고 즉시 추가로 단편화하여 관찰이 되지 않을 수 있습니다. 또한 많은 수의 단편화 단계 지원에는 많은 처리 시간이 필요하고 완료하는데 많은 시간이 걸립니다.

관련된 분자를 비교하는 경우 참조 스펙트럼(전구체 분자) 및 수정된 형태를 중첩시키는 것이 도움이 될 수 있습니다. 이후 화면을 구조 또는 단편 창에 연결하고 이는 활성 창이 바뀔 때 따라 업데이트됩니다. 하지만 중첩이 있는 경우 일치된 및 일치되지 않은 이온에 적용되는 컬러링은 식별이 어려울 수 있어 프로그램 및 화면에 익숙해질 때까지 단일 스펙트럼으로 작업하는 것을 권장합니다.

단일 샘플로 작업하는 것이 일반적이지만 한 번에 여러 샘플을 비교 또는 시각화함으로써 추가 정보를 얻을 수 있는 경우가 있습니다. 이 섹션은 우선 소프트웨어에서 두 개의 샘플 및 이후에는 여러 샘플에 대해 사용 가능한 일부 도구를 설명합니다.

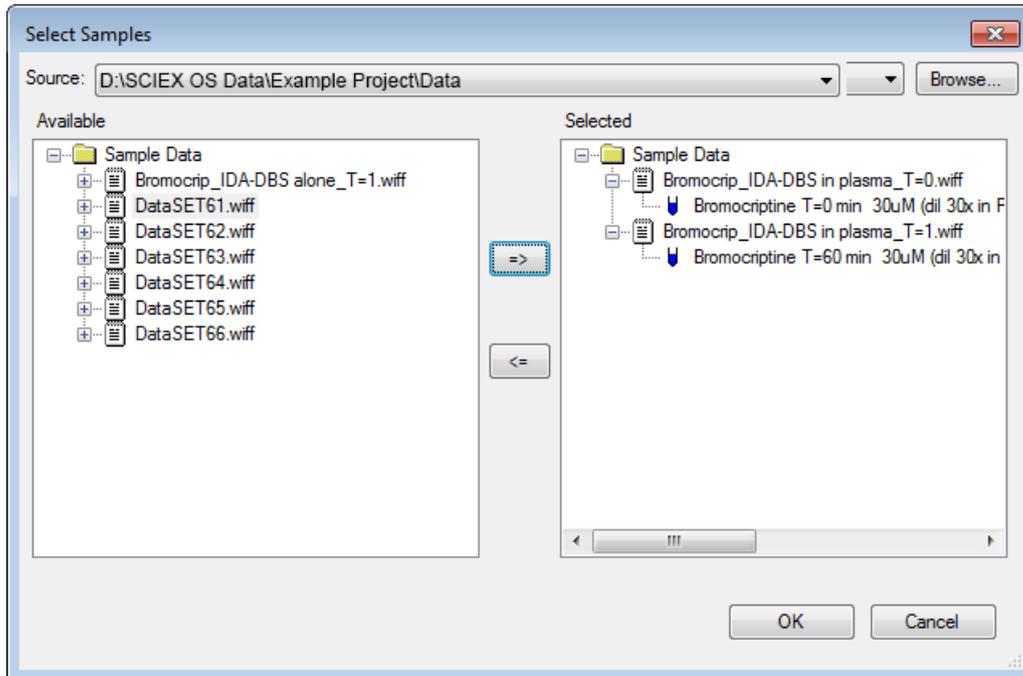
샘플 두 개로 작업

일반적인 작업 흐름은 변화 측정을 위해 다른 조건하에서 확보된 두 개의 샘플을 비교하는 것입니다. 예를 들어 의약품 투여 후 두 개의 다른 시간 지점을 비교합니다. 이 작업(T=0시간 및 T=1시간)의 경우 쥐 간 마이크로솜이 포함된 브로모크립틴 혈장 투여 잠복기에서 비롯된 데이터를 비교합니다.

시작 전 열린 모든 창을 닫습니다.

1. **File > Open Multiple Samples**를 클릭한 후 샘플 데이터를 포함하는 폴더를 탐색합니다.
2. **Bromocrip_IDA-DBS in plasma_T=0.wiff** 및 **Bromocrip_IDA-DBS in plasma_T=1.wiff** 파일을 선택한 후 파일을 창의 오른쪽 측면으로 드래그합니다.
3. **OK**를 클릭합니다.

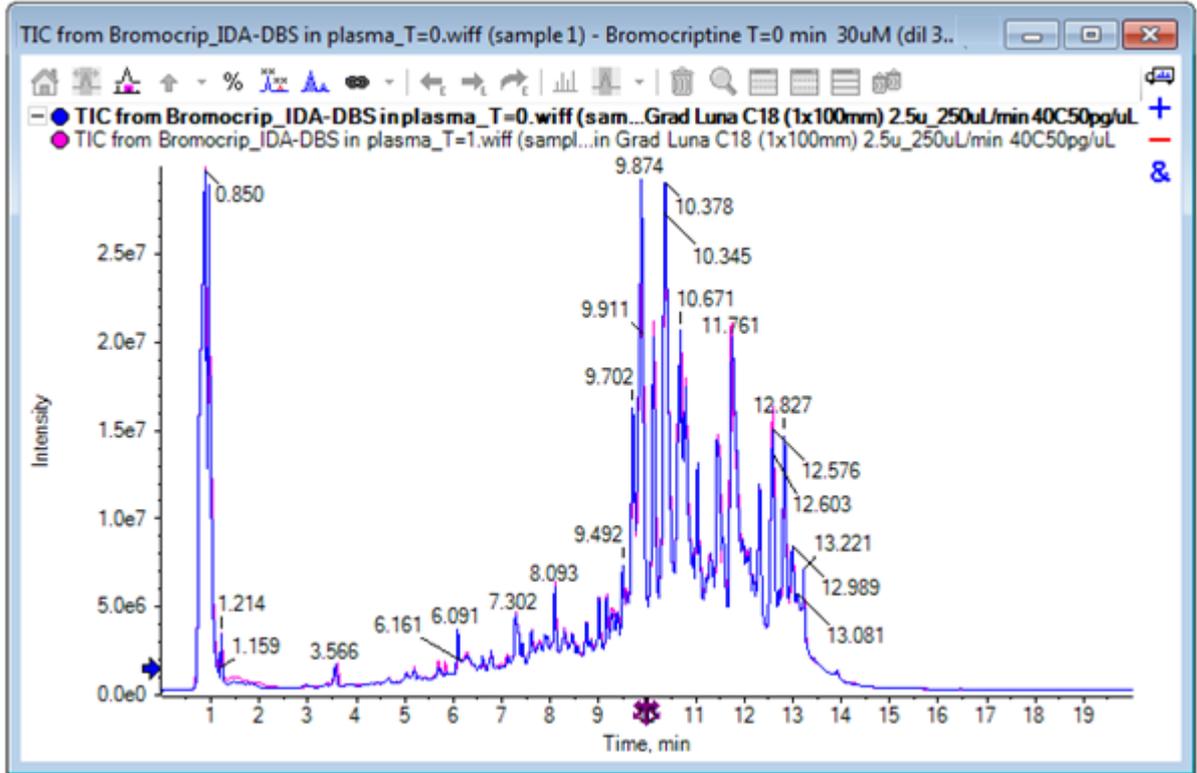
그림 5-1 여러 샘플 선택



여러 샘플로 작업

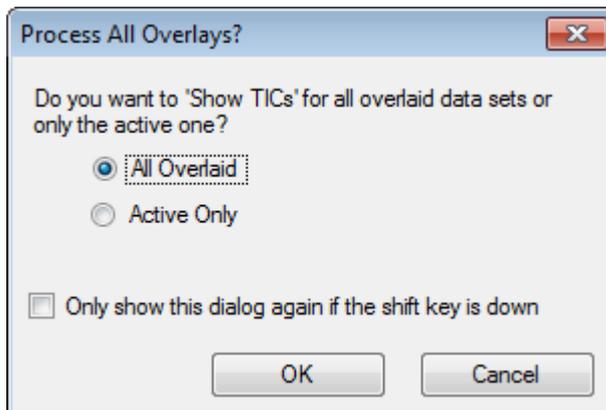
여러 IDA 파일을 통해 조사 및 종속 스캔하는 경우 별도의 TIC를 확인할 수 있는 단일 IDA 파일을 여는 것과 대조적으로 모든 샘플의 경우 모든 데이터의 단일 TIC를 확인할 수 있습니다. 이 경우 그림 5-2에서 표시된 것과 같이 두 개의 TIC가 있습니다.

그림 5-2 TIC



4. Select Experiment 대화 상자를 열려면 **Show > Total Ion Chromatogram (TIC)**을 클릭합니다.
5. **Period 1, Experiment 1 - TOF MS (100 - 2000)**를 선택한 후 **OK**를 클릭합니다.

그림 5-3 Process All Overlays 대화 상자



중첩된 추적이 처리될 때마다 표시되는 **Process All Overlays** 대화 상자를 통해 사용자는 모든 추적을 처리할지 활성 상태의 추적만 처리할지 선택할 수 있습니다. 후속 작업이 모든 추적(샘플)에 영향을 미치기 때문에 모든 추적을 처리하는 것이 유용합니다.

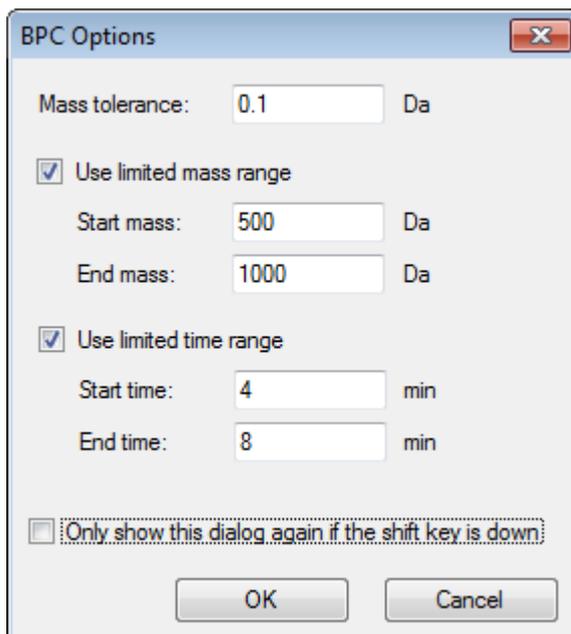
6. **All Overlaid**를 선택합니다.
7. **Only show the dialog again if the shift key is down** 체크 박스를 선택해 이를 기본 동작으로 선택합니다.
8. **OK**를 클릭합니다.

조사 TIC의 중첩을 포함하는 창이 생성됩니다. 크로마토그램은 재현성이 매우 높고 대사 물질의 피크가 강렬해 크로마토그램을 확대/축소하고 비교함으로써(약 6분 동안 영역을 검사) 확인할 수 있으나, 일반적으로 추가 작업이 필요합니다. 보다 쉽게 비교할 수 있도록 화면을 생성하는 방법이 많이 있습니다. 예를 들어 기본 피크 크로마토그램이 사용됩니다.

참고: **File > Open Heat Map TICs from Wiff**를 클릭한 경우 중첩된 크로마토그램을 먼저 확인할 필요 없이 스트립 화면을 직접 생성할 수 있습니다.

9. 기존 TIC 창을 숨긴 후 **Show > Base Peak Chromatogram (BPC)**을 클릭합니다.
10. **BPC Options** 대화 상자에서 필요에 따라 설정을 변경해 **그림 5-4**의 값과 일치시킨 후 **OK**를 클릭합니다.

그림 5-4 BPC Options 대화 상자



기본 피크 크로마토그램은 머무름 시간 기능으로서 각 스캔 시 가장 큰 피크 강도를 표시함으로써 구성됩니다. 추가 정보를 제공하기 위해 기본 피크 질량이 이 대화 상자에 지정된 질량 허용 오차보다 훨씬 큰 경우에 각 추적은 일반적인 컬러 및 회색 간에 전환합니다.

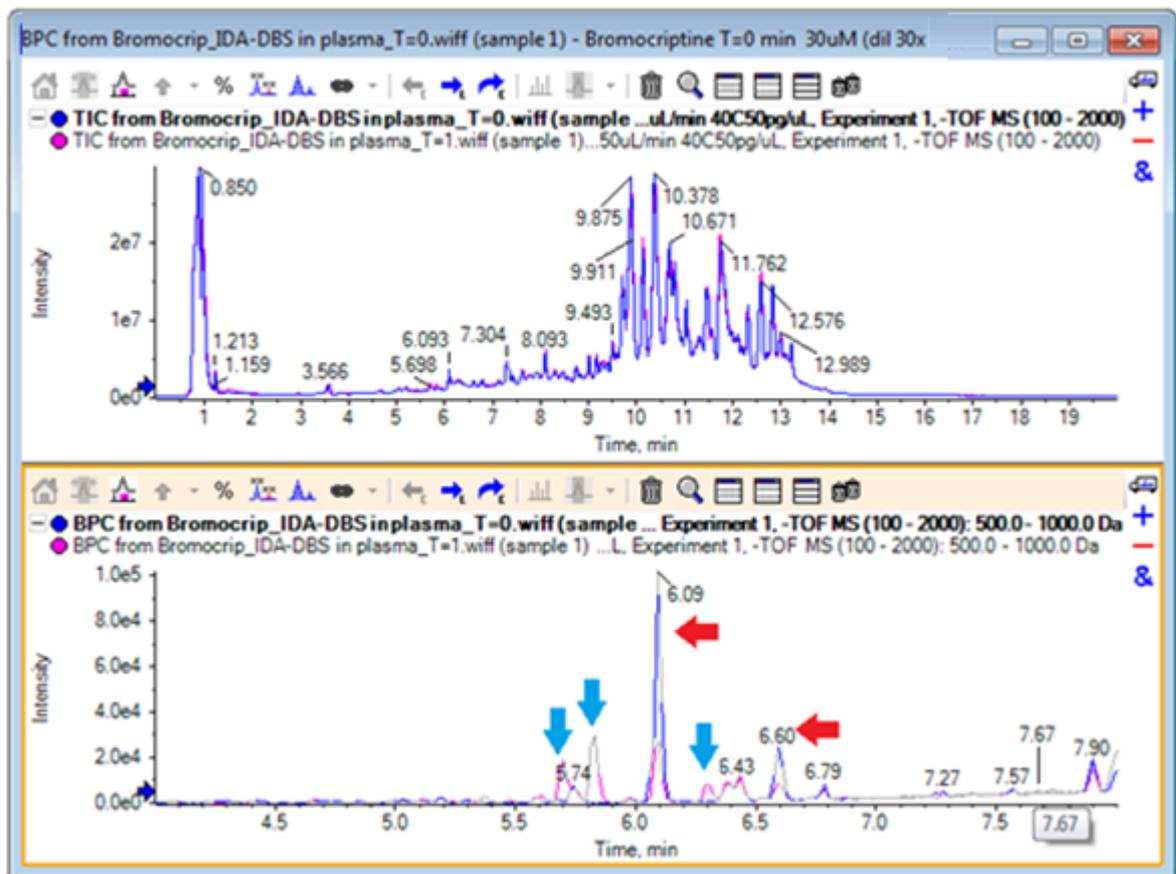
여러 샘플로 작업

옵션으로 고려되는 질량 범위를 제한할 수 있으며 이를 통해 예를 들어 잡음 배경 피크로 인해 야기된 인공물을 방지할 수 있으며 머무름 시간 범위를 설정하여 처리를 빠르게 할 수 있습니다. 브로모크립틴의 질량이 대략 652인 것을 알기 때문에 단순한 대사 물질의 속도는 500 m/z 이하가 아님을 알 수 있습니다.

11. **Process All Overlays** 대화 상자에서 **All Overlaid** 옵션을 선택한 후 **OK**를 클릭합니다.

새로운 창은 기존 TIC보다 훨씬 비교가 간단하고 용이한 BPC를 보여줍니다.

그림 5-5 BPC



T=0 샘플(파란색)에 비해 1시간 샘플(분홍색)을 감소시키는 것으로 보이는 두 개의 피크(빨간색 화살표로 표시)가 있습니다. 이것은 브로모크립틴(6.09분) 및 이성질체와 일치합니다. T=1 샘플에는 있지만 T=0에는 없는 세 개의 피크(파란색 화살표) 또한 있습니다. 이는 잠재 대사 물질입니다.

참고: BPC는 매우 유용할 수 있지만 가장 강렬한 이온 행동만을 반영합니다(선택된 질량 범위 내에서). 기본 피크가 결코 되지 않는 질량 피크는 결코 표시할 수 없으므로 샘플 간 차이를 찾는 경우 다른 도구를 사용하십시오.

12. TIC 창을 숨깁니다.

13. 6.09분에 BPC 창을 더블 클릭합니다.

14. **Process All Overlays** 대화 상자에서 **All Overlaid**를 선택한 후 **OK**를 클릭합니다.

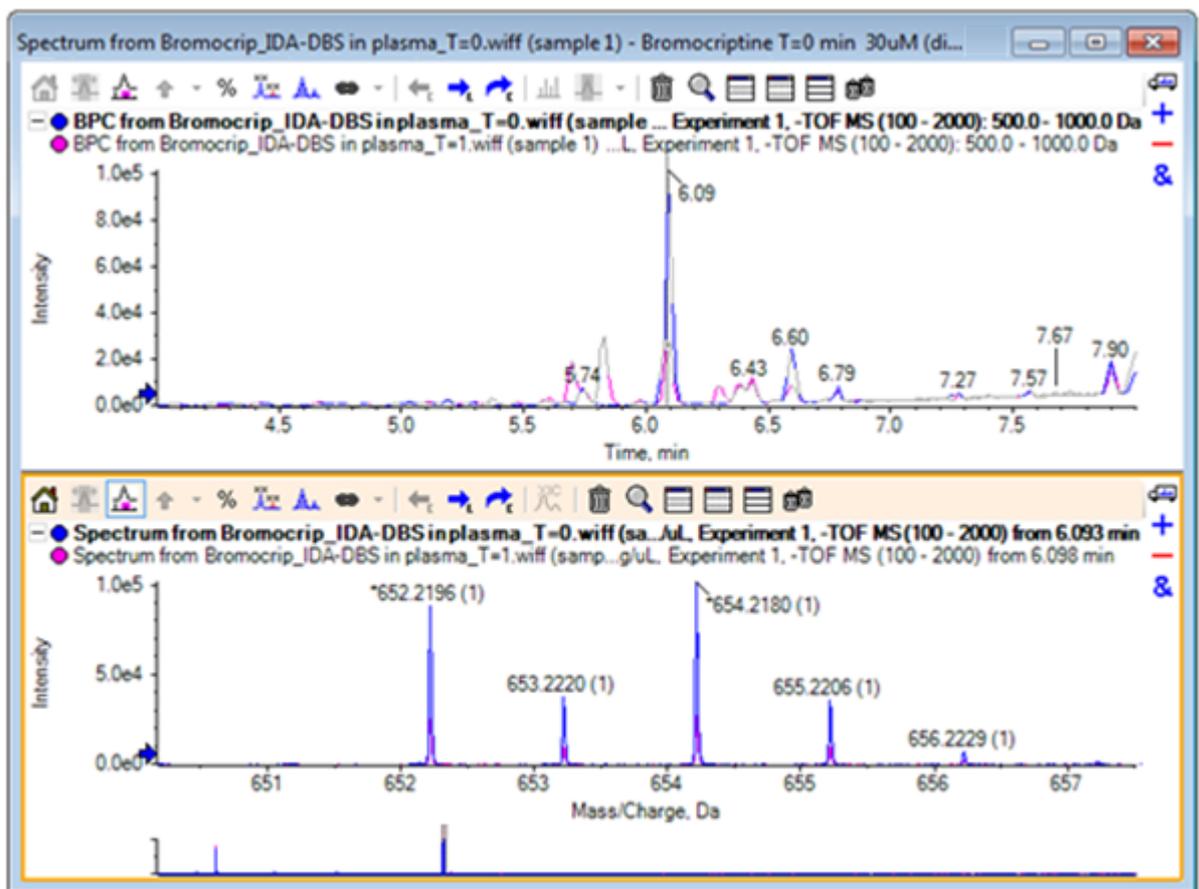
이것은 두 개의 중첩된 스펙트럼을 생성합니다.

15. 스펙트럼 창에서 클릭 및 확대/축소 하여 652 m/z 의 속도에서 동위 원소 집단을 표시합니다. **그림 5-6** 내용을 참조하십시오.

스펙트럼 창은 쉽게 비교할 수 있는 두 샘플의 중첩된 스펙트럼을 포함하고 있습니다. 이 사례에서 T=1 hr 샘플(분홍색)에서의 강도가 T=0 샘플에서의 강도보다 약한 것이 명확합니다.

개요 그래프는 전체 스펙트럼의 가시성을 유지하면서 세부 사항을 볼 수 있는 방법을 제공하기 때문에 이와 같은 고분해능 데이터를 살펴보는 것은 매우 가치 있습니다.

그림 5-6 약 652 m/z 의 속도에서 동위 원소 집단



16. 크로마토그램 창에서 라인 위로 커서를 옮기면 스펙트럼 시간을 표시합니다(이전 더블 클릭).

17. 커서가 양방향 화살표로 변경되는 경우 피크를 약 5.8분에 드래그합니다.

여러 샘플로 작업

스펙트럼은 확장된 질량 범위를 계속 표시하지만 이것은 잡음 및 작은 피크에 지나지 않습니다. 주 창에서 대형 분홍색 피크를 표시하려면 아래 검정색 화살표에 따라 개요 그래프에 있는 분홍색 직사각형을 드래그합니다. 마우스에서 손을 떼면 화면은 다시 정상화됩니다.

그림 5-8의 경우 **Label all overlaid traces** 아이콘이 선택되었습니다.

그림 5-7 BPC 및 스펙트럼

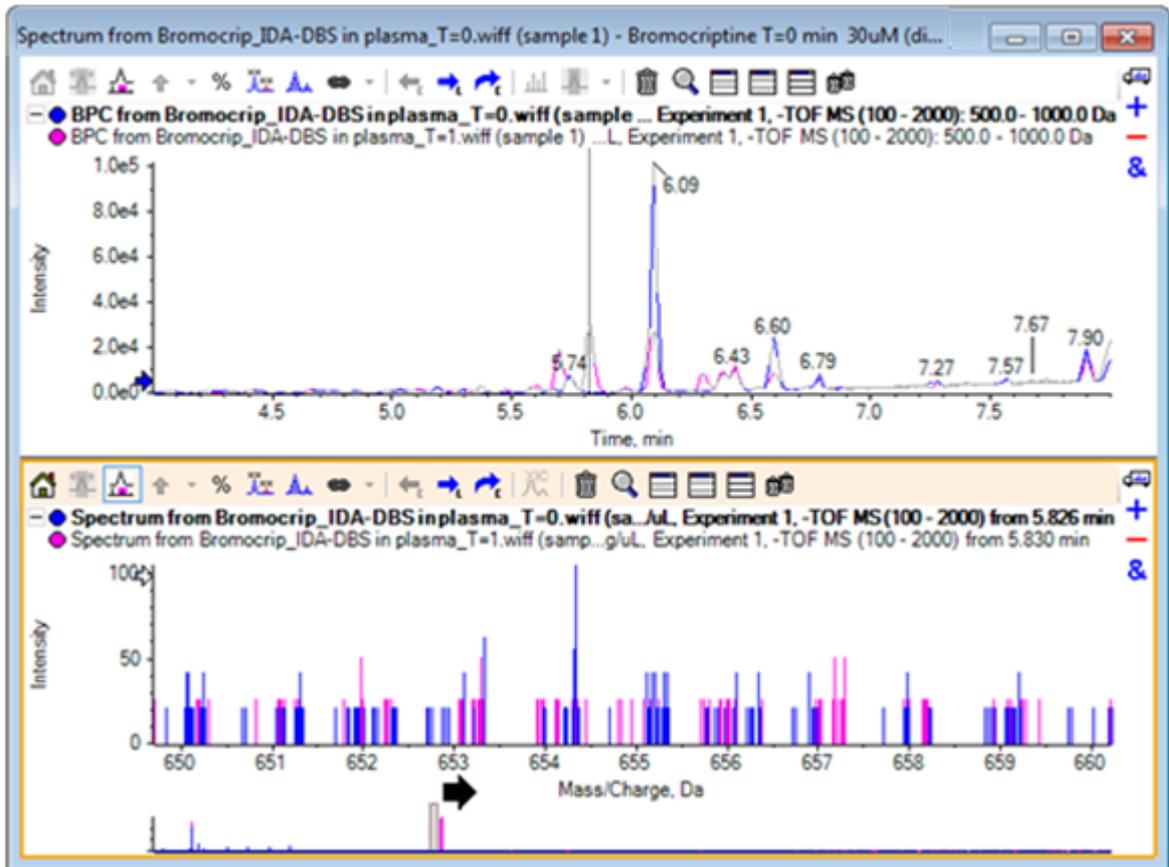
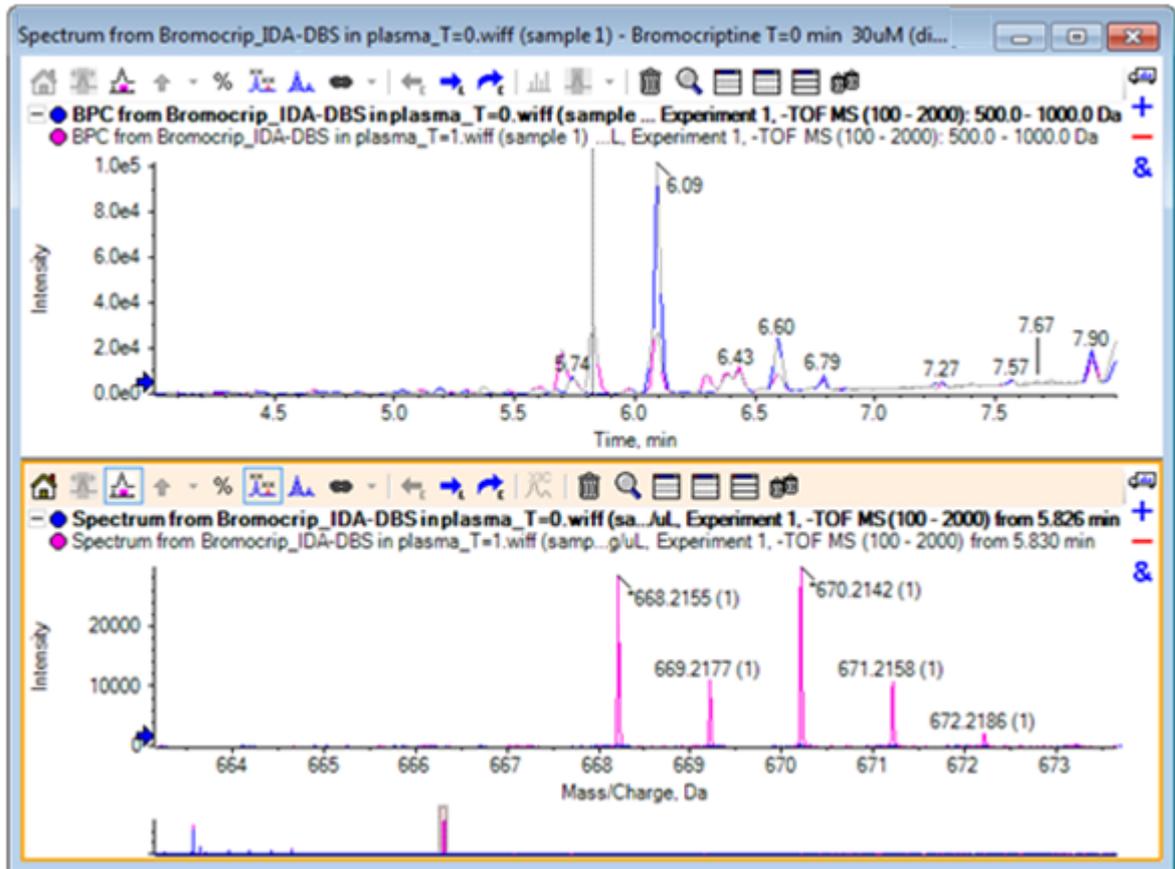


그림 5-8 모든 중첩된 추적 라벨 붙이기 옵션을 갖춘 BPC 및 스펙트럼 적용



이런 피크에는 T=0 샘플이 없습니다.

18. 진행하기 전에 모든 창을 닫습니다.

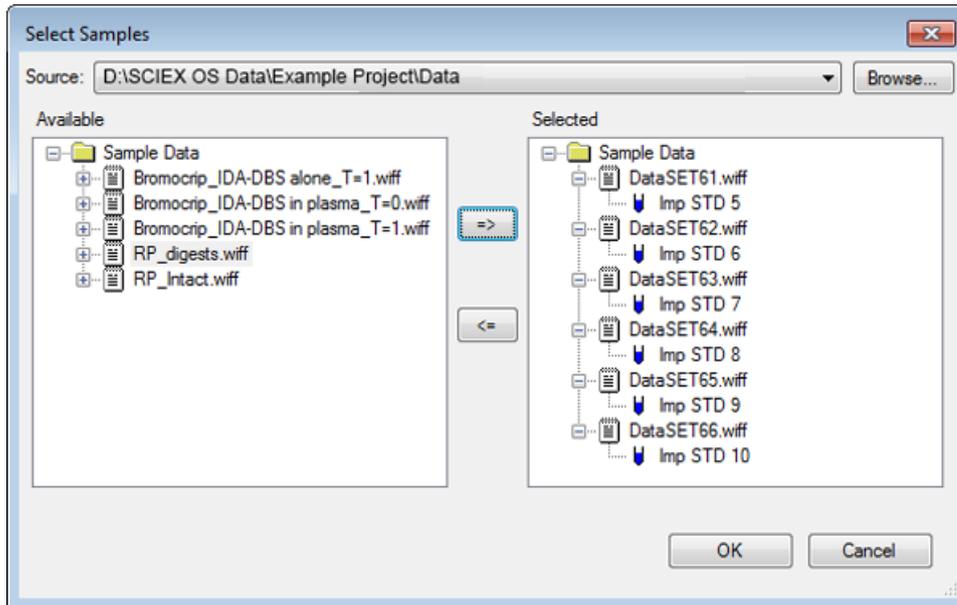
두 개 이상 샘플로 작업

두 개 이상의 샘플 중첩을 통해 창은 혼란스러워질 수 있으며 차이로 인해 올바른 샘플과의 결합이 더욱 어려워질 수 있습니다. 소프트웨어에는 많은 샘플의 데이터를 보여주는데 도움을 주는 다른 도구들이 포함됩니다.

실험에 사용된 데이터 세트는 여섯 개의 다른 데이터 세트의 불순물 프로파일 분석에서 비롯됩니다.

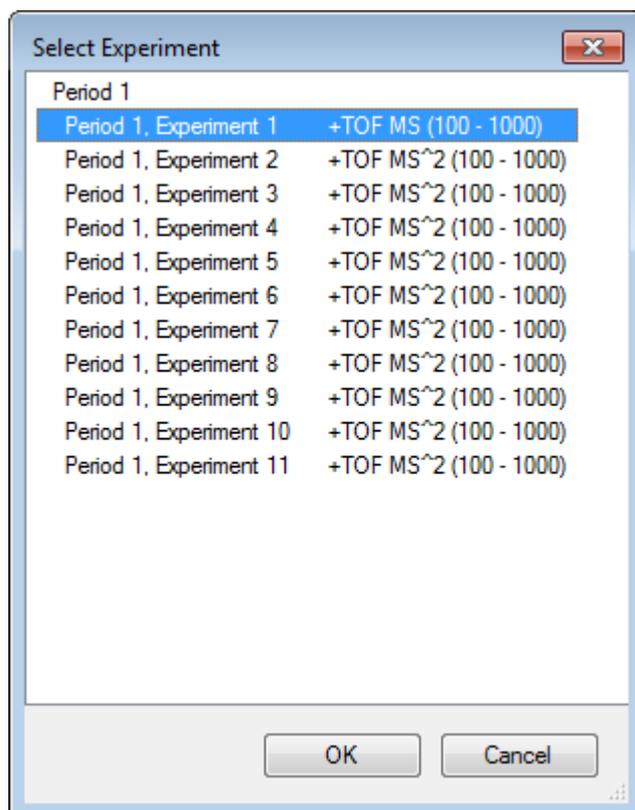
1. **File > Open Multiple Samples**를 클릭합니다.
2. **DataSet61.wiff ~ DataSet66.wiff** 파일을 선택한 후 **Selected** 패널로 이동시킵니다.

그림 5-9 Multiple Samples Selected



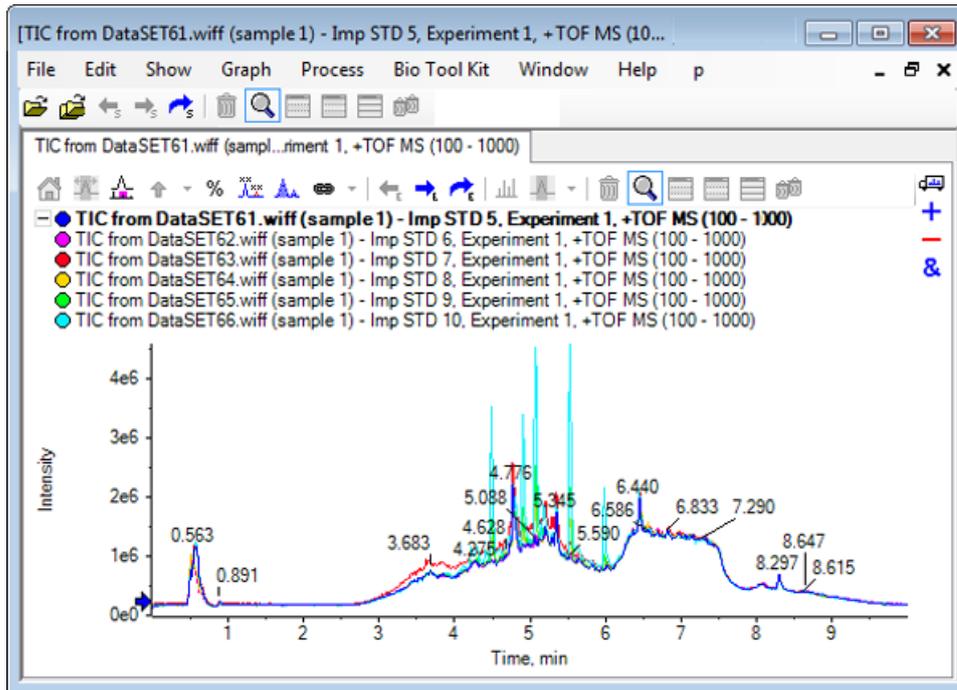
3. **OK**를 클릭합니다.
4. **Show > Total Ion Chromatogram (TIC)**을 클릭합니다.
5. **Select Experiment** 대화 상자에서 **Period 1, Experiment 1**을 선택합니다.

그림 5-10 Select Experiment 대화 상자



6. **OK**를 클릭합니다.
7. **Process All Overlays** 대화 상자에서 **All Overlaid**를 선택한 후 **OK**를 클릭합니다. 그래프는 파일 내 각 샘플에 대한 TIC 크로마토그램의 중첩을 표시합니다.

그림 5-11 Overlaid TICs from Experiment 1 of DataSet61.wiff through DataSet66.wiff



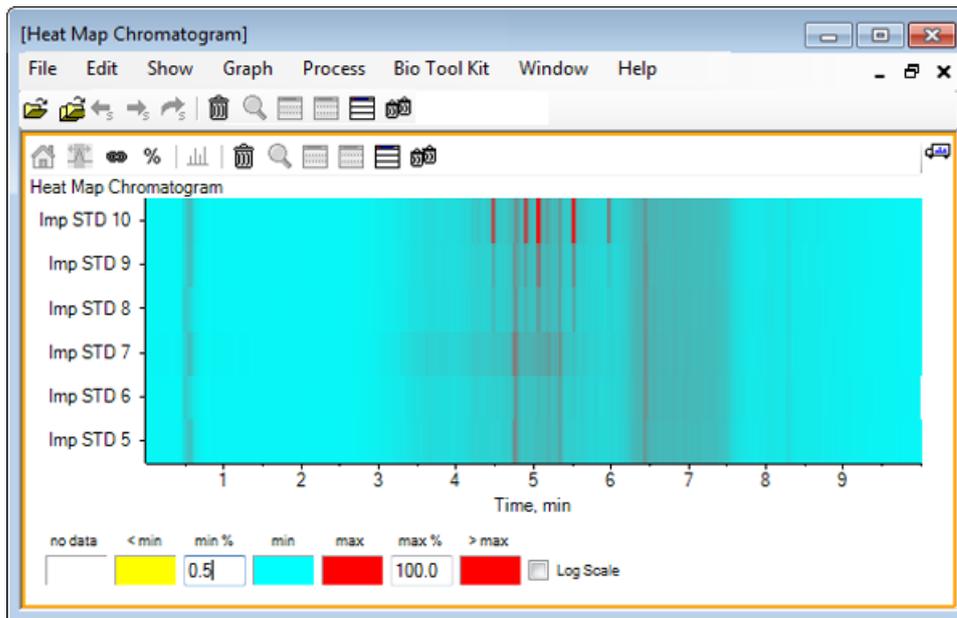
활성 추적 제목은 볼드체로 표시됩니다. 이 제목의 왼쪽에 있는 아이콘을 클릭하면 헤더가 단일선으로 접혀 정보에 대한 많은 공간이 제공됩니다.

8. **Show > Overlaid Traces as Heat Map**을 클릭한 후 결과 창에서 색상 제어를 설정해 **min%**가 **0.5**가 되고 **max%**가 **100**이 되도록 합니다.

팁! 오른쪽 버튼을 클릭한 후 색상 제어가 보이지 않는 경우 **Show Appearance Control**을 선택합니다.

9. 크로마토그램 창 내부를 클릭한 후 **Hides all other panes** 아이콘을 클릭합니다.

그림 5-12 Heat Map Chromatogram



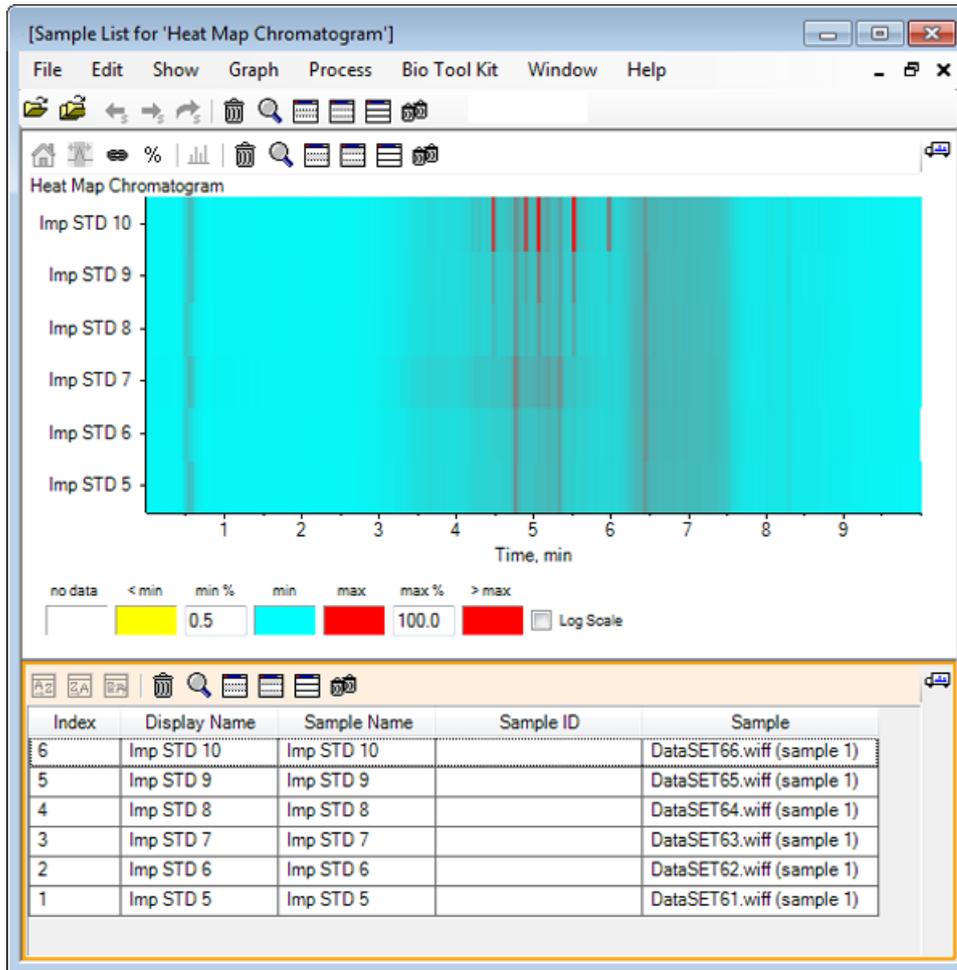
강도에 따라 TIC 컬러 코드를 나타내는 단일 수평 스트립을 통해 각 샘플이 보여집니다. 위의 색채 조합을 통해 노란색은 데이터 확보를 하지 못하거나 강도가 모든 샘플 내 가장 큰 강도의 0.5% 미만인 지점을 나타내며 파란색은 0.5%인 지점을, 빨간색은 가장 큰 강도 신호를 나타냅니다.

창에는 여섯 개에서 일곱 개의 피크(4.5분에서 6.5분 사이)가 표시되어 있으며 6.5분의 피크를 제외하고 피크의 반응이 다양하게 나타나고 있습니다.

피크의 순서는 샘플이 확보된 순서와 동일하지만 이상적이지 않을 수 있습니다. 이 예에서는 순서가 적합합니다.

- 창에서 오른쪽 버튼을 클릭한 후 **Show Samples Table**을 클릭합니다. 초기에 히트맵의 오른쪽에 샘플 표가 표시됩니다. **Drag and drop to rearrange the panes** 아이콘을 드래그하면 창을 히트맵 하단으로 드래그하여 기존 창 아래에 있는 표를 이동시킬 수 있습니다.

그림 5-13 히트맵 크로마토그램용 샘플 목록

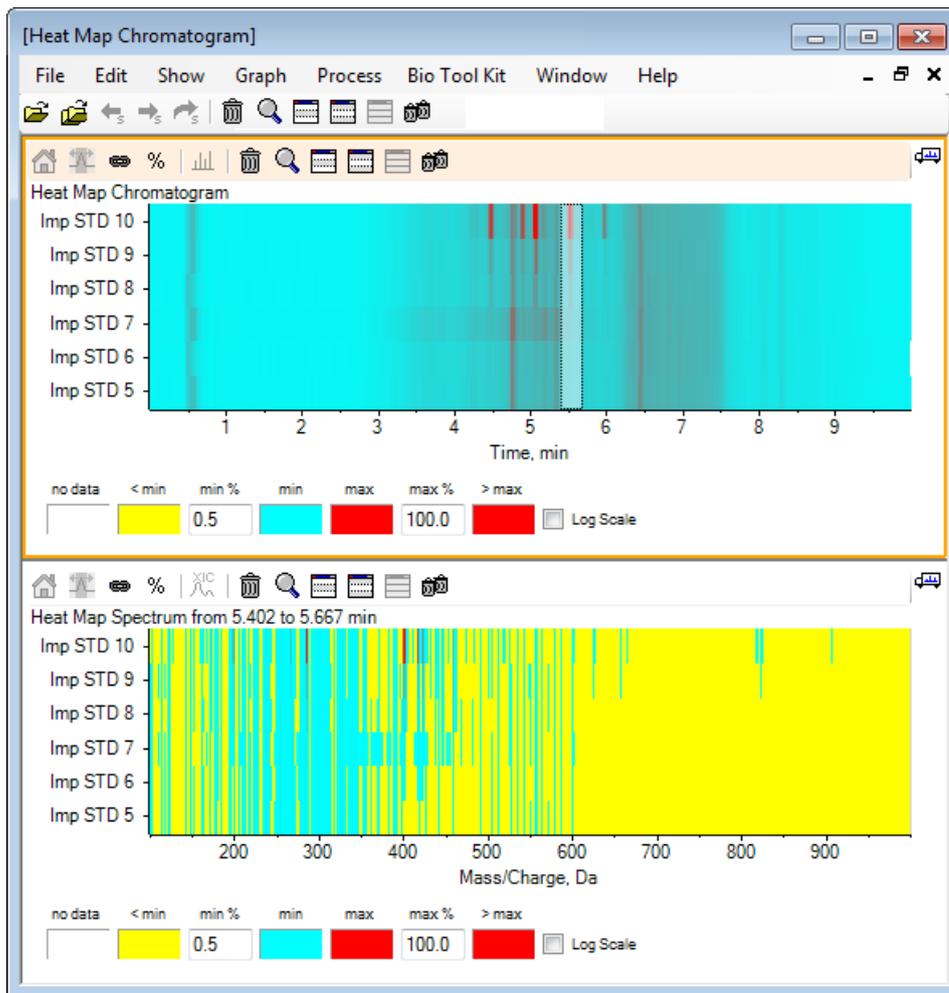


표에는 각 샘플과 관련된 다양한 텍스트 필드 열이 포함됩니다. **Display Name** 열은 편집 가능하지만 나머지 열은 읽기 전용입니다. 모든 열을 사용해 표를 분류하고 샘플 보기를 할 수 있습니다.

11. Imp STD 10에서 5.5분 주위를 선택한 후 안쪽을 두 번 클릭합니다.

새로운 히트맵 스펙트럼 창이 생성되며 전체 질량 범위가 x축에 표시됩니다.

그림 5-14 히트맵 스펙트럼



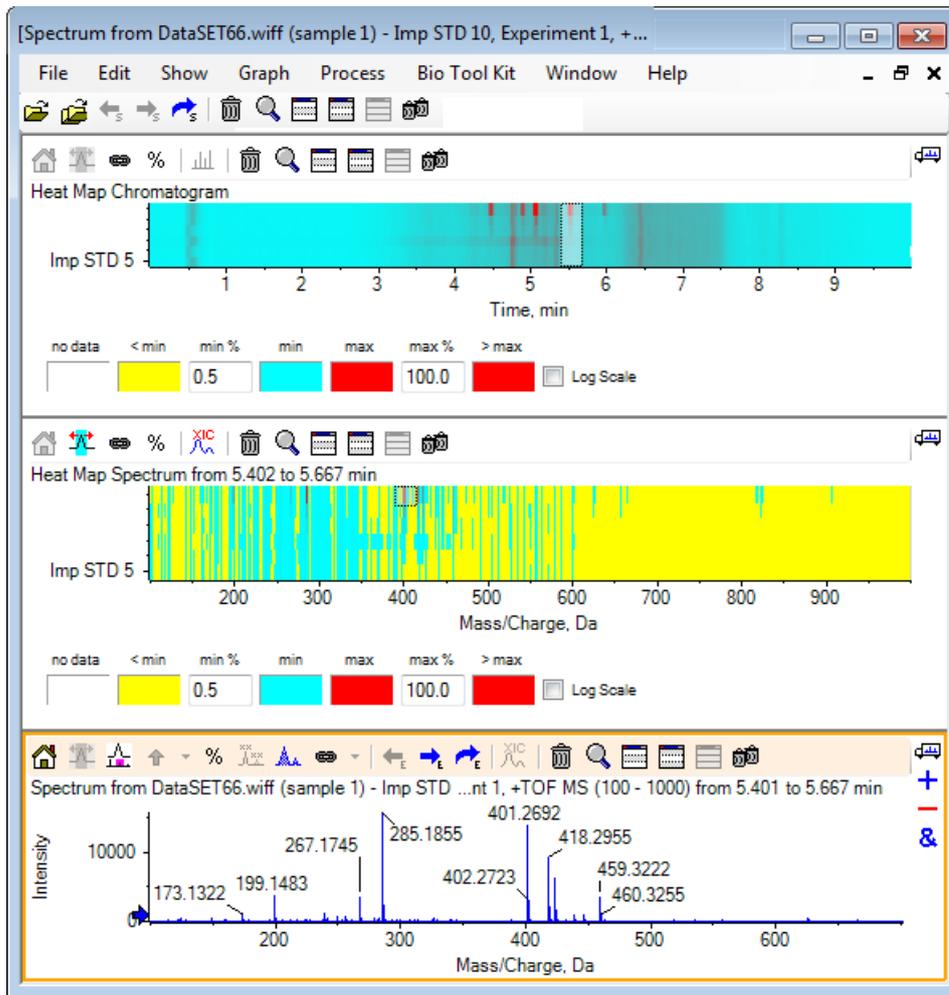
스펙트럼을 보면 몇 개의 질량(400 m/z 에서 460 m/z 사이)으로 인해 선택된 시간 영역에서 강도가 높아지는 것을 확인할 수 있습니다.

12. Imp STD 10 샘플에 대해 Mass/Charge Da 401 주위 질량을 선택한 후 오른쪽 버튼을 클릭하여 **Show Spectra for Selected Samples**를 선택합니다.

이것은 선택된 샘플에 대한 스펙트럼을 생성합니다. 이 시점에서의 스펙트럼이 표시됩니다. [그림 5-15](#) 내용을 참조하십시오.

13. 히트맵 XIC를 생성하려면 히트맵 스펙트럼에서 Mass/Charge Da 401 주위 질량을 더블 클릭합니다.

그림 5-15 스펙트럼



요약

이 섹션에서 다음 작업에 대해 논의합니다.

- 소프트웨어에서 사용할 수 있는 여러 샘플 도구와 협력합니다.
- 두 개 샘플과 중첩된 크로마토그램 및 인터랙티브 스펙트럼을 비교합니다.
- 여러 샘플과 히트맵 화면을 비교합니다.

이 섹션은 소프트웨어의 **바이오 도구 키트** 메뉴 항목에서 사용 가능한 일부 옵션을 설명합니다.

참고: 이 기능에 액세스하려면 바이오 도구 키트 마이크로앱 기능을 반드시 활성화해야 합니다. 활성화가 완료될 때까지 사용 가능한 옵션은 펩타이드 단편, 수동 재구성 하이라이트 추가 및 수동 재구성 하이라이트 제거로 제한됩니다. 릴리스 노트 문서에서 바이오 도구 키트 마이크로앱 기능 활성화를 참조하십시오.

수동 시퀀스

이 옵션을 사용해 소화된 단백질 샘플에서 MS/MS 스펙트럼 데이터를 수동으로 시퀀스합니다.

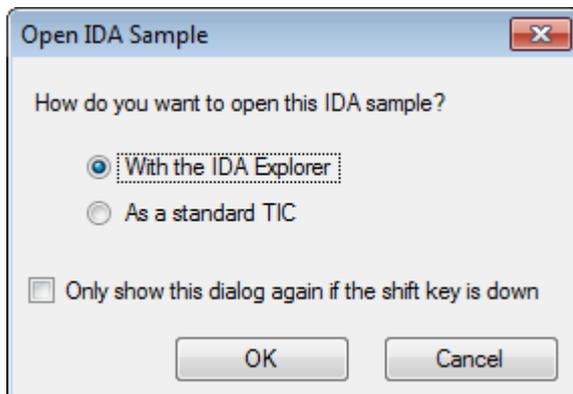
1. 메인 도구 모음에서 **Open Sample** 아이콘을 클릭합니다.

Select Sample 대화 상자가 열립니다.

2. **Sample Data** 폴더가 아직 선택되지 않은 경우 **Browse**를 클릭하여 **Sample Data** 폴더를 탐색합니다.
3. **RP_digests.wiff** 파일을 선택한 후 **OK**을 클릭합니다.

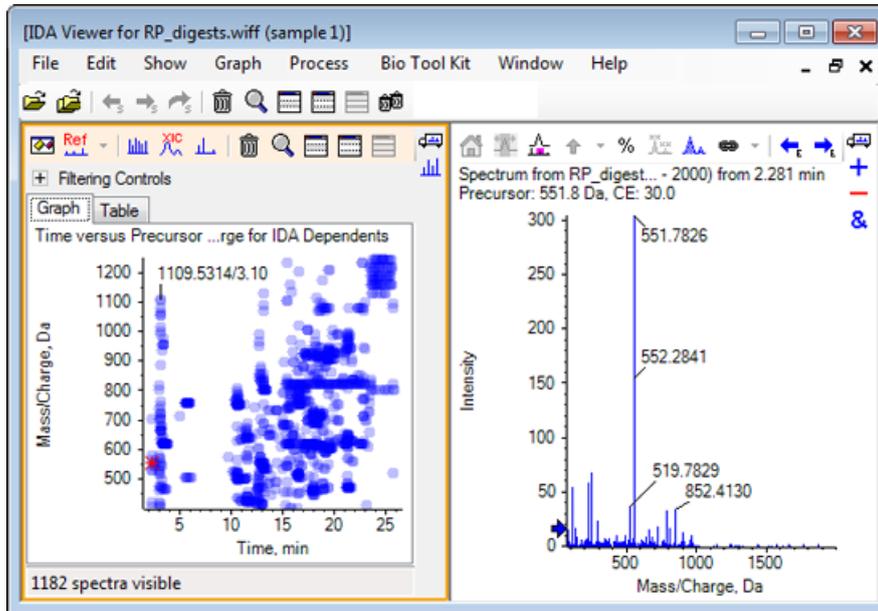
Open IDA Sample 대화 상자가 열립니다.

그림 6-1 Open IDA Sample 대화 상자



4. **With the IDA Explorer** 옵션이 선택되었는지 확인한 후 **OK**를 클릭합니다.

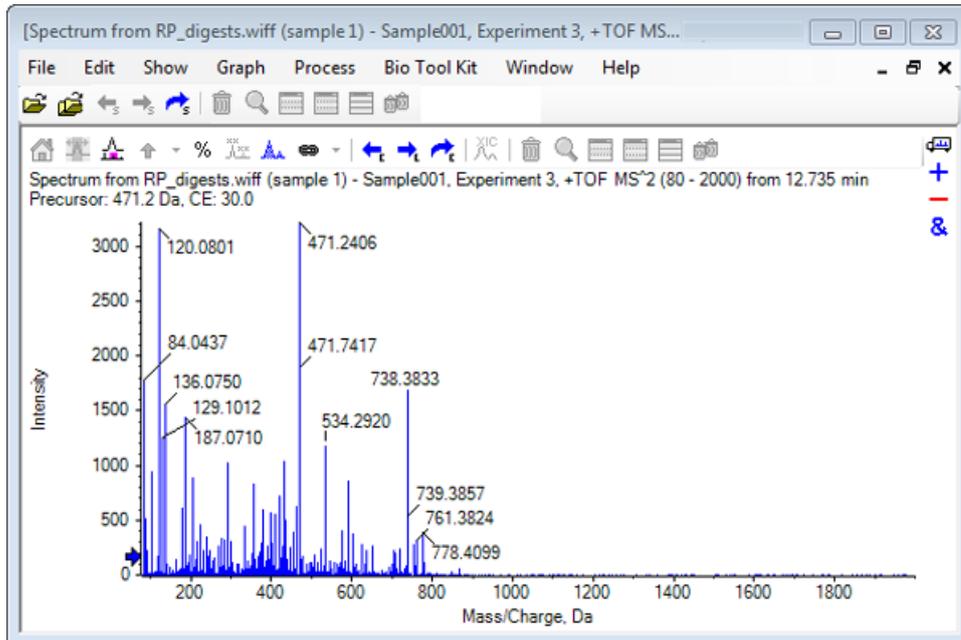
그림 6-2 RP_digests.wiff에서 비롯된 스펙트럼



5. **Table** 탭을 클릭합니다.
6. **Time** 12.73에서 **m/z** 471.2398을 선택합니다.
7. 스펙트럼 창 활성화를 사용해 **Graph > Duplicate Graph**를 클릭합니다.

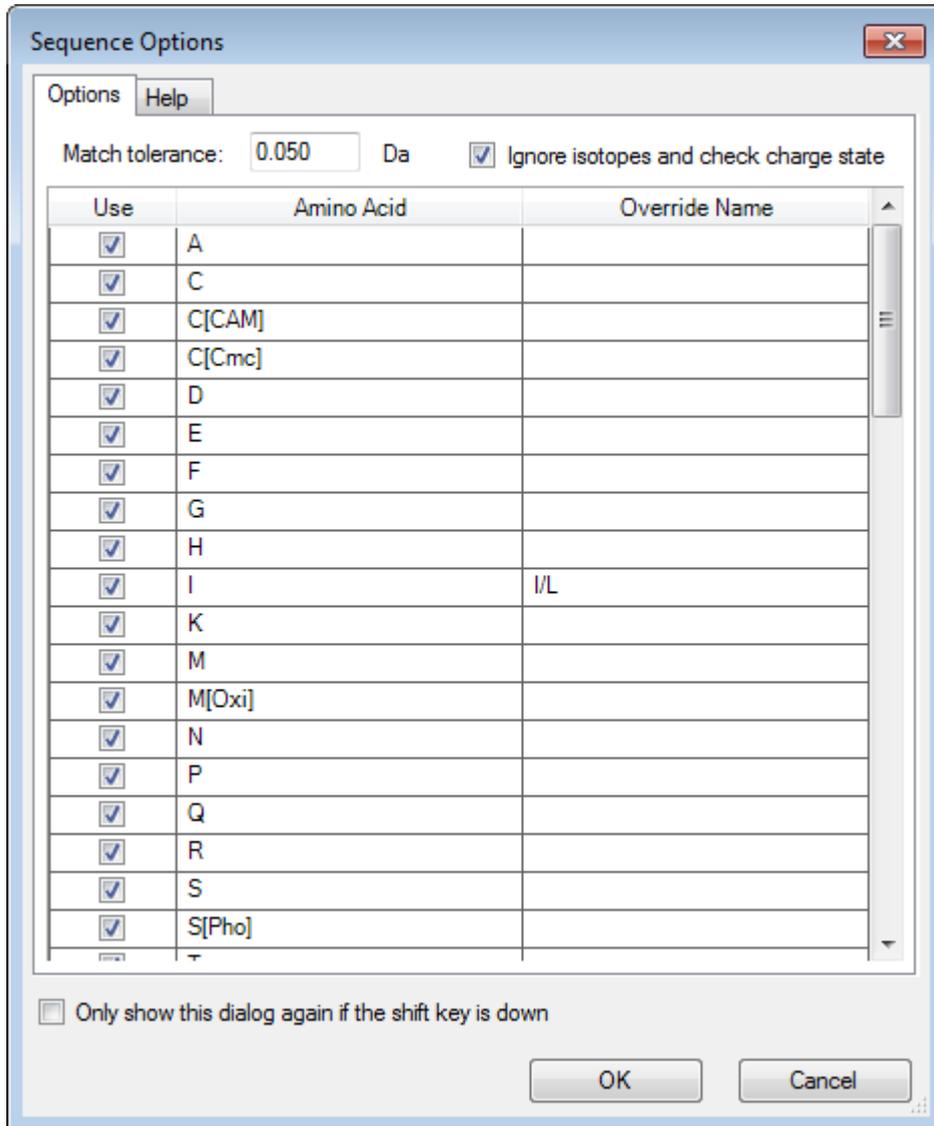
선택된 전구체(471.2)에 대한 새로운 스펙트럼 창이 열립니다. IDA 탐색기 창 및 관련 스펙트럼 창이 삭제될 수 있습니다.

그림 6-3 머무름 시간 12.73에서 전구체 471.2398에 대한 스펙트럼



8. **738.3833**로 라벨 표시된 피크를 선택합니다.
9. **Bio Tool Kit > Manual Sequence**를 클릭합니다.
Sequence Options 대화 상자가 열립니다.

그림 6-4 Sequence Options 대화 상자

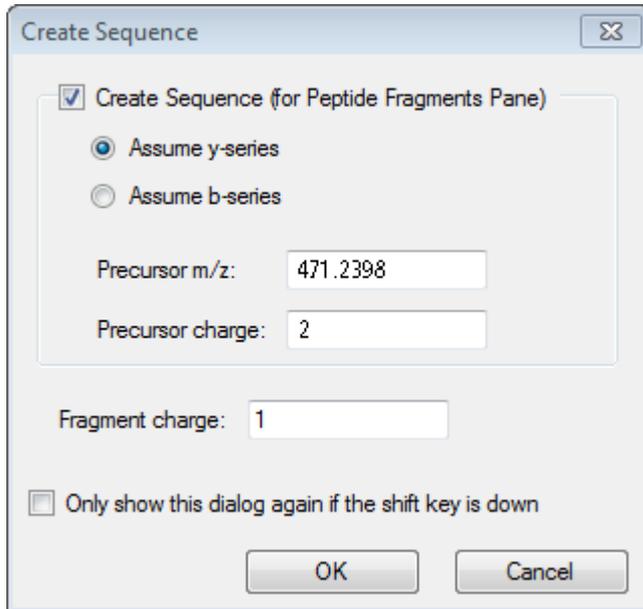


참고: 동위 원소 무시 및 전하 상태 체크에 대한 체크 박스가 선택된 경우 동위 원소 및 올바르게 지정된 전하 상태를 갖춘 어떠한 피크라도 후속 아미노산을 제안하는 소프트웨어에 의해 무시될 수 있습니다.

10. **OK**를 클릭합니다.

Create Sequence 대화 상자가 열립니다.

그림 6-5 Create Sequence 대화 상자

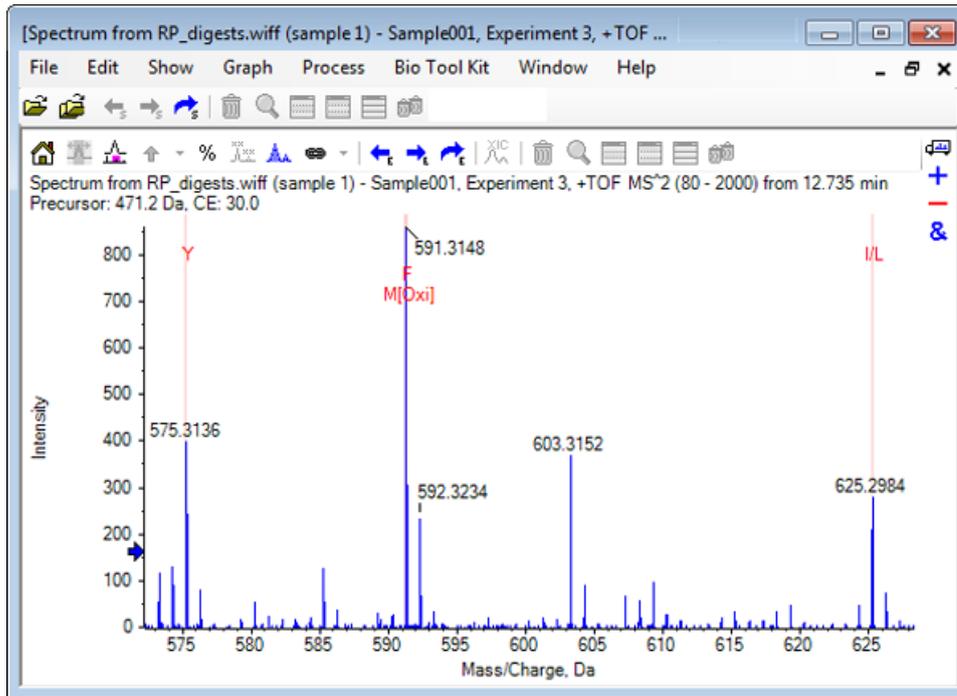


참고: 이 대화 상자를 통해 사용자는 y 및 b 시리즈 이온과 파일이 수동 시퀀스된 이후의 전하 상태에 대해 내려진 가설을 변경할 수 있고 추론을 통해 데이터에 최고의 일치를 제공하는지 살펴볼 수 있습니다.

11. **Create Sequence (for Peptide Fragments Pane)** 체크 박스가 선택되었는지 확인합니다.
12. **Precursor charge** 필드에 **2**를 입력합니다.
13. **Fragment charge** 필드 내 수동 시퀀스 트리를 따르려면 선택된 피크의 전하값을 입력합니다.
14. **OK**를 클릭합니다.

소프트웨어가 새로 고침되어 빨간 수직선을 갖춘 업데이트된 스펙트럼 창을 표시하고 스펙트럼 데이터에서 확보 또는 손실된 첫 번째 세트의 잠재적인 아미노산을 표시합니다.

그림 6-6 수동 시퀀스된 스펙트럼 — 초기 가능성

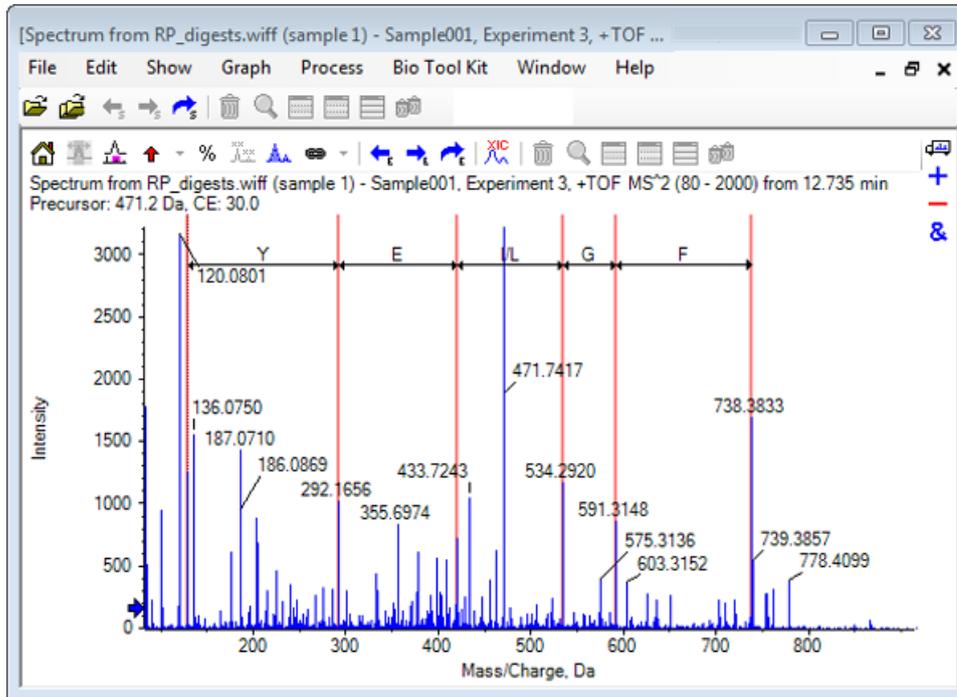


15. 추가로 시퀀스되도록 빨간 수직선의 캡션을 더블 클릭합니다.

소프트웨어가 새로 고침되어 스펙트럼 데이터에서 첫 번째 세트의 아미노산을 표시합니다.

16. 잠재적인 모든 아미노산이 추천될 때까지 단계 15를 반복합니다.

그림 6-7 수동 시퀀스된 스펙트럼



참고: 그림 6-7에서 캡션을 클릭한 순서는 F > G > I/L > E > Y입니다.

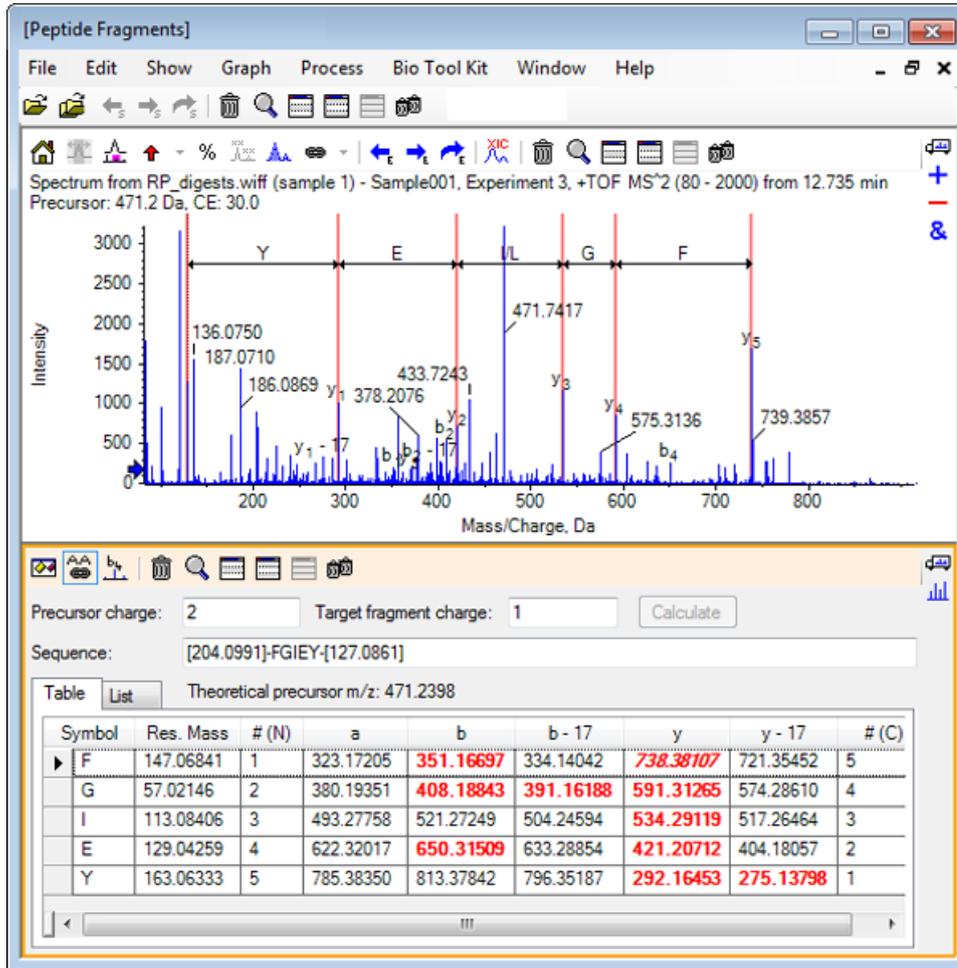
팁! 소프트웨어에서 하나 이상의 잠재적인 아미노산을 추천하며 초기에 추천된 것과 다른 브랜치를 따르고 싶은 경우 그래프를 홈 화면으로 돌려보내고 이 절차를 반복해 아미노산 라벨과 일치하는 대안을 선택합니다.

펩타이드 단편과 연결된 수동 시퀀스

1. Bio Tool Kit > Peptide Fragments를 클릭합니다.

펩타이드 단편 창이 열리며 수동 시퀀스된 스펙트럼과 연결됩니다.

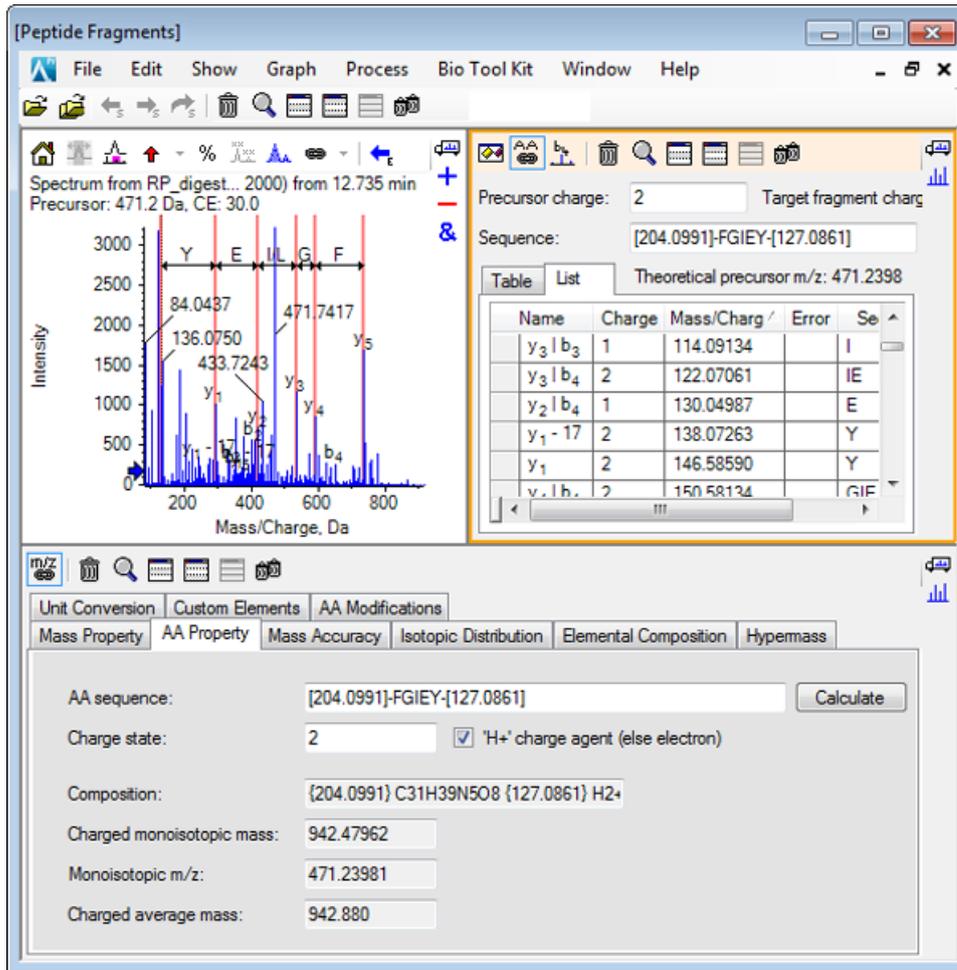
그림 6-8 수동 시퀀스된 스펙트럼과 연결된 펩타이드 단편 창



참고: 실험 데이터와 일치하는 아미노산은 표 탭의 칼럼에서 빨간색 볼드체로 표시됩니다. 실험 데이터와 일치하지만 다른 목표 단편 전하를 가진 아미노산은 표 탭의 칼럼에서 빨간색 이탤릭체로 표시됩니다.

2. **List** 탭을 클릭합니다.
3. **Show > Mass Calculators**를 클릭합니다.
4. **AA Property** 탭을 클릭합니다.

그림 6-9 질량 계산기 — AA Property Tab

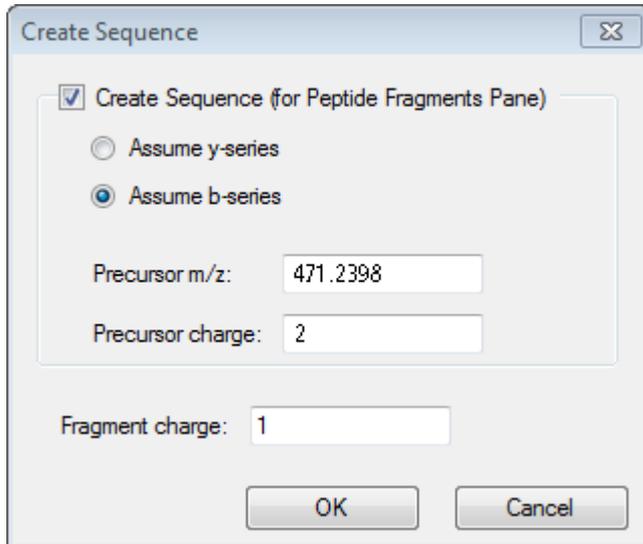


참고: 질량 계산기는 수동 시퀀스된 스펙트럼에 자동 연결됩니다. 스펙트럼에서 비롯된 아미노산 시퀀스는 **AA sequence** 필드에 표시됩니다.

5. 스펙트럼 창이 활성 상태일 때 **Bio Tool Kit > Set Sequence Creation Parameters**를 클릭합니다.

Create Sequence 대화 상자가 열립니다.

그림 6-10 Create Sequence 대화 상자



6. 다음과 같이 **Create Sequence** 대화 상자를 작성합니다.

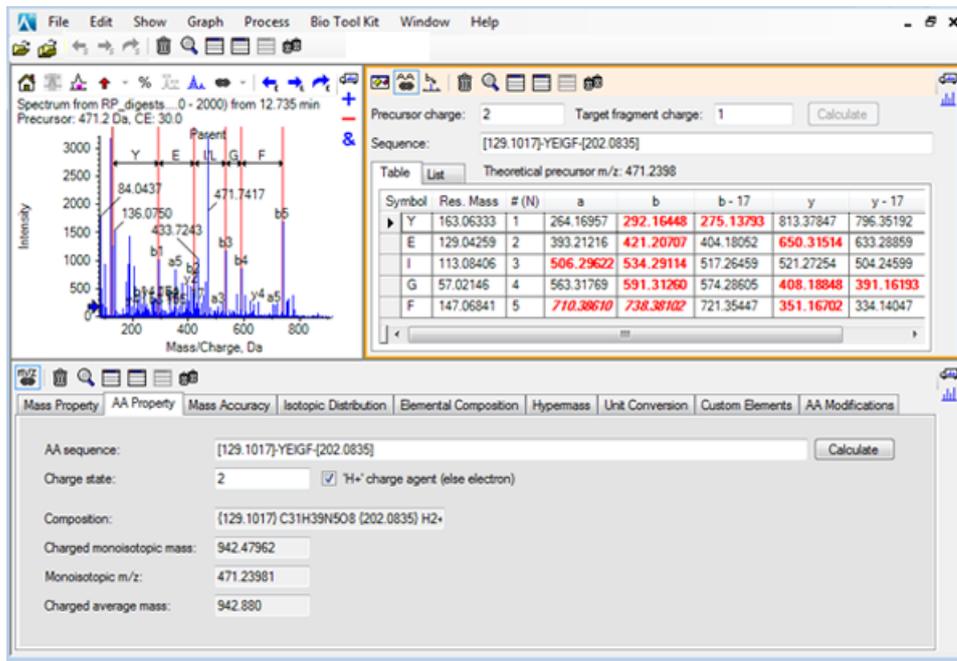
- **Create Sequence (for Peptide Fragments Pane)** 체크 박스가 선택되었는지 확인합니다.
- **Assume b-series** 옵션을 선택합니다.
- **Precursor m/z** 필드에 **471.2398**을 입력합니다.
- **Precursor charge** 필드에 **2**를 입력합니다.
- **Fragment charge** 필드에 **1**을 입력합니다.

7. **OK**를 클릭합니다.

펩타이드 단편 창 및 질량 계산기 창은 시퀀스 데이터 업데이트로 새로 고침됩니다.

8. **Peptide Fragments** 창에서 **Table** 탭을 클릭합니다.

그림 6-11 새로고침된 수동 시퀀스된 스펙트럼과 연결된 펩타이드 단편 창



9. 스펙트럼 창이 활성 상태일 때 **Bio Tool Kit > Clear Manual Sequencing**을 클릭합니다.

모든 수동 시퀀스 표시가 제거됩니다.

수동 재구성 하이라이트 추가 및 제거

Add Manual Reconstruct Highlights 옵션을 사용하면 스펙트럼에 해당 질량의 이론적인 m/z 위치를 나타내는 기호를 추가할 수 있습니다. 이 기능은 스펙트럼에 다중 대전된 구성 요소가 포함된 경우 스펙트럼에서 특정 피크가 동일한 구성 요소에 해당되는지 여부를 확인할 때 유용합니다. **Remove Manual Reconstruct Highlights** 옵션을 사용해 기호를 제거합니다.

팁! 기호를 새로운 위치로 이동하려면 기호의 세로선을 새로운 m/z 값으로 드래그합니다.

팁! 기호를 활성화하려면 기호의 세로선 또는 해당 전하 상태 라벨을 클릭합니다. 활성화된 기호가 m/z 위치를 표시합니다.

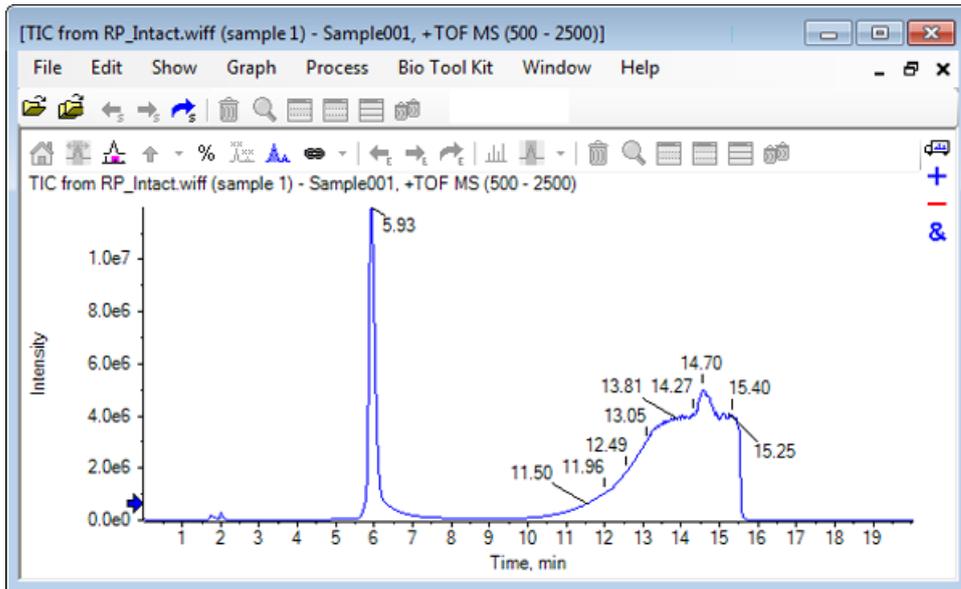
1. 메인 도구 모음에서 **Open Sample** 아이콘을 클릭합니다.

Select Sample 대화 상자가 열립니다.

2. **Sample Data** 폴더가 아직 선택되지 않은 경우 **Browse**를 클릭하여 **Sample Data** 폴더를 탐색합니다.

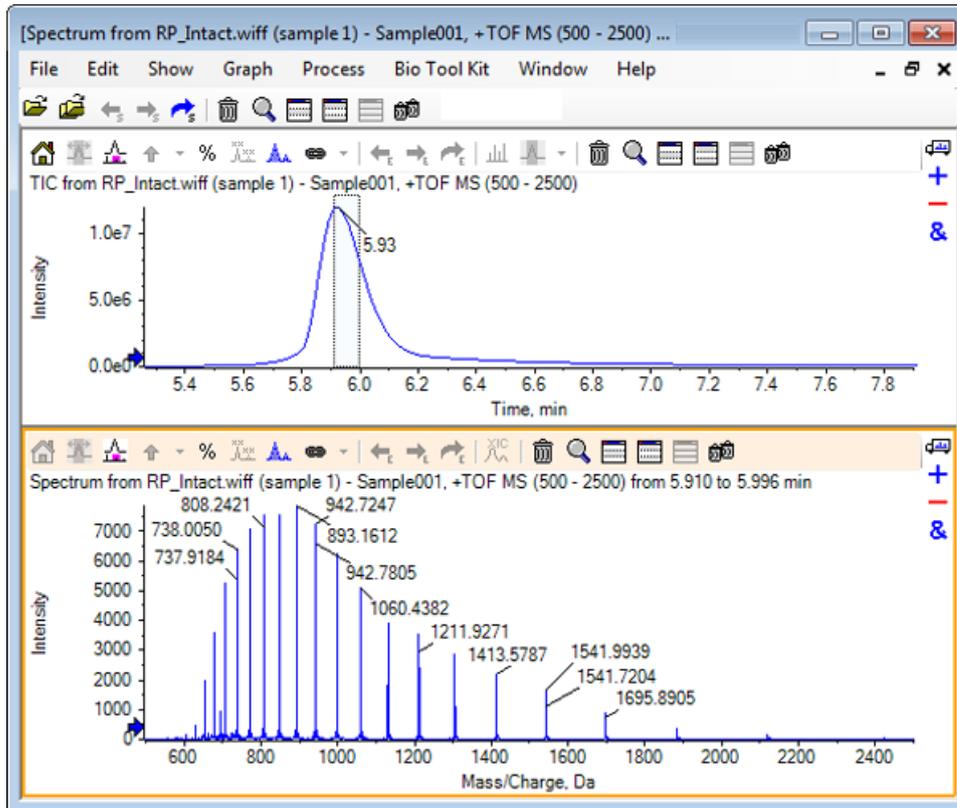
3. **RP_Intact.wiff** 파일을 선택한 후 **OK**을 클릭합니다.

그림 6-12 RP_Intact.wiff 파일에서의 TIC



4. 미오글로빈의 경우 피크의 상단 영역(5.91 ~ 6.00분)을 사용해 평균 스펙트럼을 생성합니다.

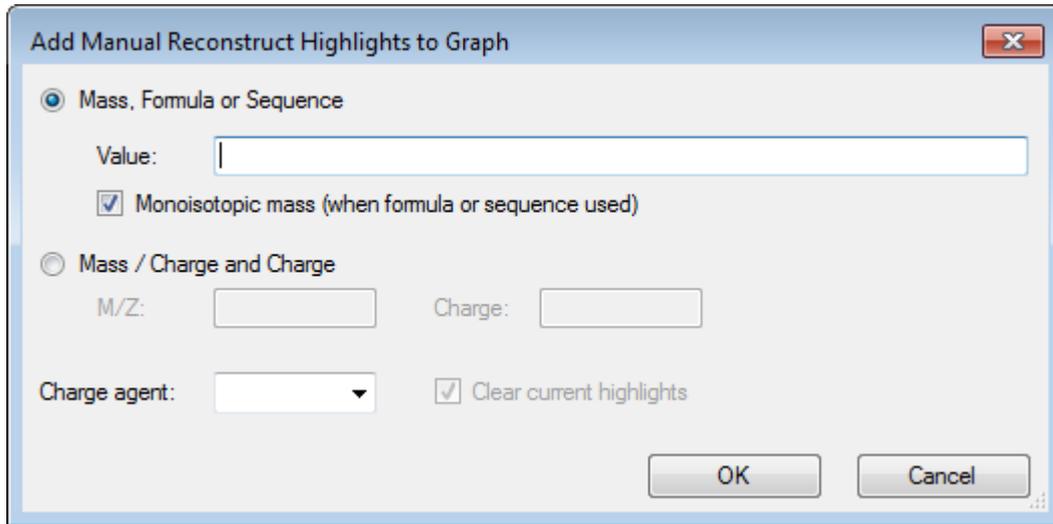
그림 6-13 평균 스펙트럼



5. Spectrum창이 활성 상태일 때 **Bio Tool Kit > Add Manual Reconstruct Highlights.**를 클릭합니다.

Add Manual Reconstruct Highlights to Graph 대화 상자가 열립니다.

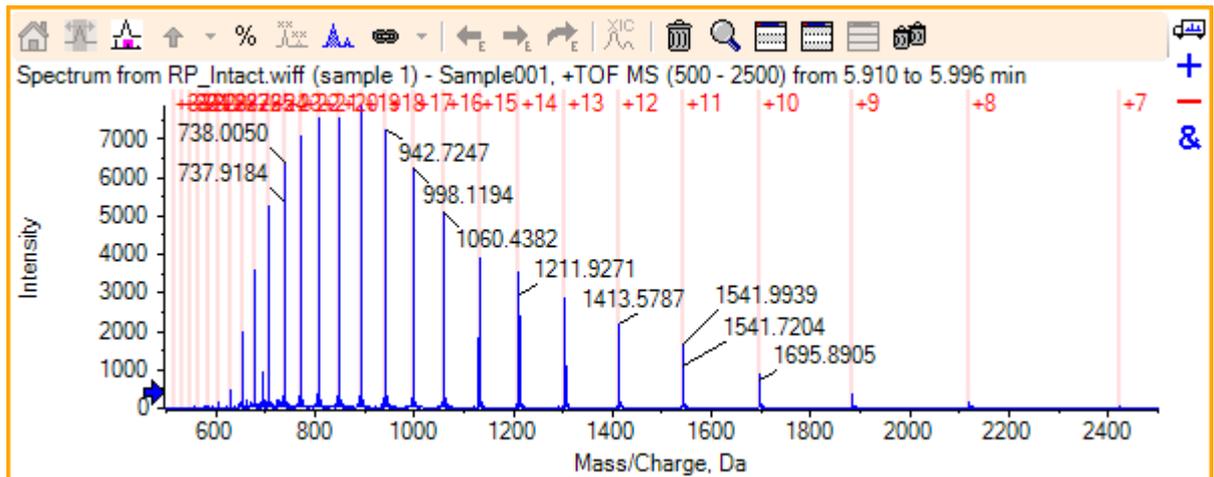
그림 6-14 그래프에 수동 재구성 하이라이트 추가



6. Value 필드에 16950을 입력합니다.
7. Charge agent로 H+를 선택한 후 OK를 클릭합니다.

하이라이트를 포함하여 그래프는 새로 고침됩니다.

그림 6-15 추가된 하이라이트가 포함된 스펙트럼



8. Bio Tool Kit > Remove Manual Reconstruct Highlights를 클릭해 기호를 제거합니다.
하이라이트가 제거되며 그래프는 새로 고침됩니다.

단백질 소화

이 옵션을 사용해 지정된 단백질의 사용자 정의된 효소 분열로 인해 발생하는 이론적인 펩타이드 시퀀스에 대한 정보를 확보합니다.

도구 모음



도구 모음에 있는 아이콘을 사용해 필요에 따라 보기를 조절합니다.

표 6-1 도구 모음 아이콘

아이콘	이름(툴팁)
	시퀀스 내에서 찾아 바꾸기
	대문자로 선택 전환
	시퀀스 찾기

참고: 창 아이콘 삭제로 시작하는 이 도구 모음 내 최종 여섯 개 아이콘은 [일반 창 도구 모음](#)에서 설명합니다.

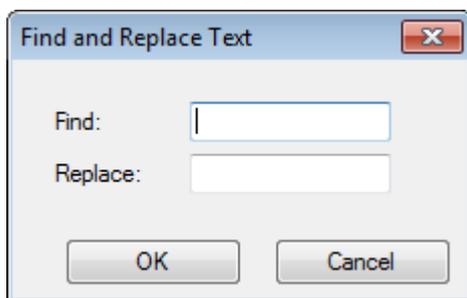
시퀀스 내에서 찾아 바꾸기

이 옵션을 사용해 **Sequence** 필드에서 기존 텍스트를 찾아 새로운 텍스트로 바꾸십시오.

1. **시퀀스 내에서 찾아 바꾸기** 아이콘을 클릭합니다.

Find and Replace Text 대화 상자가 열립니다.

그림 6-16 Find and Replace Text 대화 상자



2. **Find** 필드에서 대체될 정보를 입력합니다.
3. **Replace** 필드에서 적절한 정보를 입력합니다.

4. **OK**를 클릭합니다.

소프트웨어는 기존 텍스트를 사용자 지정된 대체 텍스트로 교체합니다.

대문자로 선택 전환

이 옵션을 사용해 **Sequence** 필드에서 소문자로 입력된 텍스트를 대문자로 전환합니다.

1. 적절한 텍스트를 선택합니다.
2. **대문자로 선택 전환** 아이콘을 클릭합니다.

소프트웨어는 소문자 텍스트를 대문자 텍스트로 대체합니다.

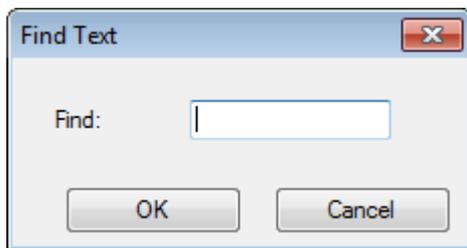
시퀀스 찾기

이 옵션을 사용해 **Sequence** 필드에서 텍스트를 찾습니다.

1. **시퀀스 찾기** 아이콘을 클릭합니다.

Find Text 대화 상자가 열립니다.

그림 6-17 Find Text 대화 상자



2. **Find** 필드에서 적절한 정보를 입력합니다.
3. **OK**를 클릭합니다.

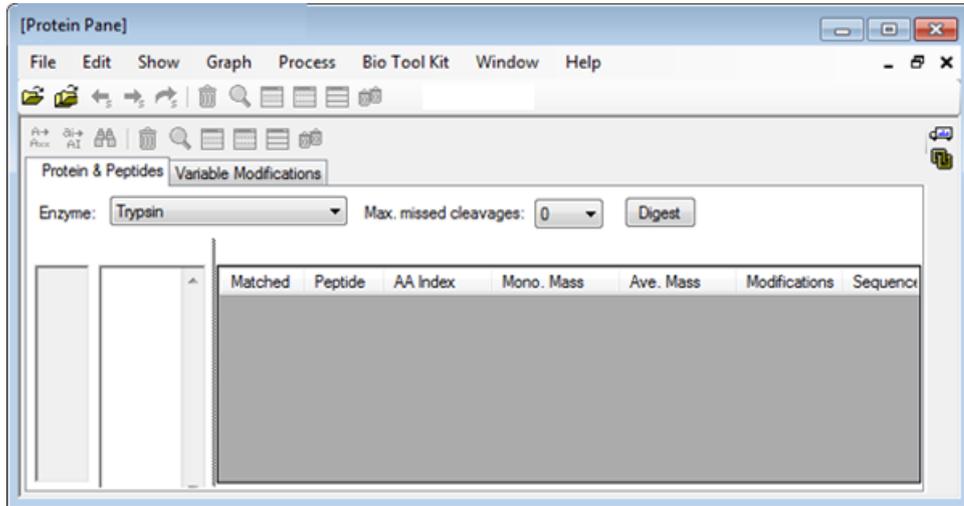
소프트웨어는 일치하는 텍스트를 강조합니다.

이론적인 단백질 소화

1. **Bio Tool Kit > Digest Protein.**을 클릭합니다.

Protein 창이 열립니다.

그림 6-18 단백질 창 - 단백질 및 펩타이드 탭



- 제공된 필드에서 단백질 또는 펩타이드 시퀀스를 입력합니다.

참고: 이 사용 지침 프로그램의 경우 LSDGEWQQV LNVWVGKVEAD IAGHGQEVLI RLFTGHPETL EKFDKFKHLK TEAEMKASED LKKHGTVVLV ALGGILKKKG HHEAELKPLA QSHATKHKIP IKYLEFISDA IHHVLHSHKP GDFGADAQGA MTKALELFRN DIAAKYKELG FQG(미오글로빈 시퀀스)가 사용되었습니다.

- Enzyme**를 선택합니다.

참고: 이 사용 지침 프로그램의 경우 트립신이 사용되었습니다.

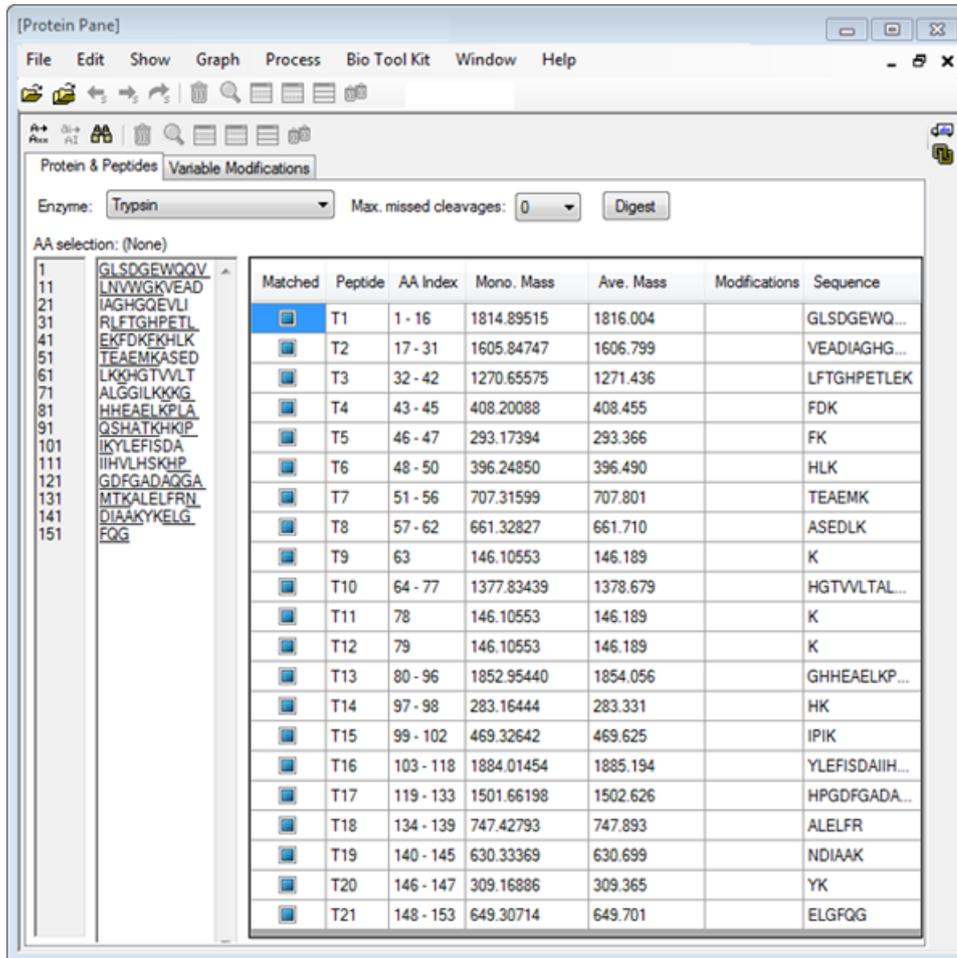
- Max. missed cleavages**를 선택합니다.

참고: 이 사용 지침 프로그램의 경우 0이 선택되었습니다.

- Digest**를 클릭합니다.

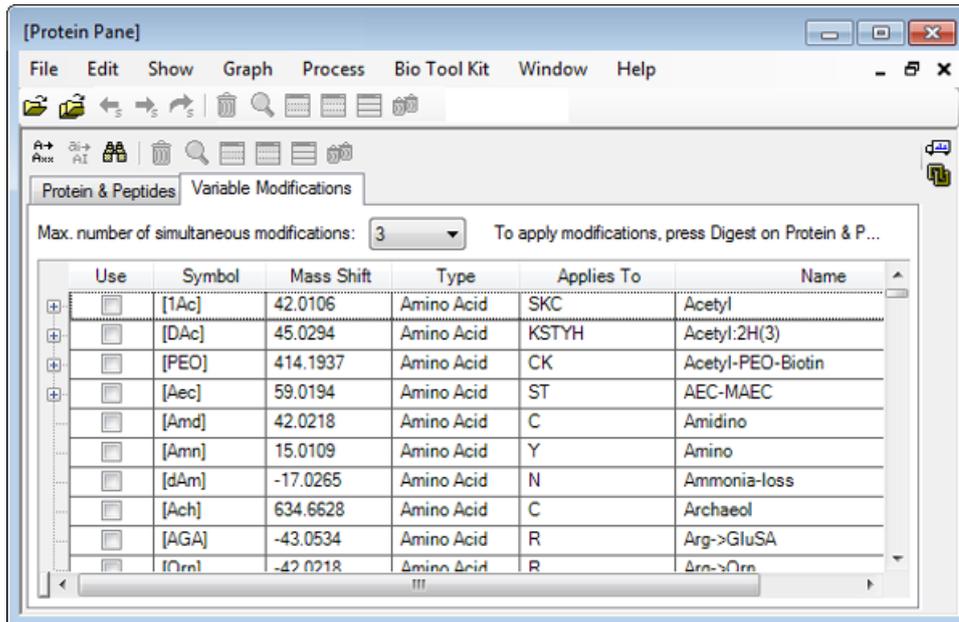
소프트웨어는 소화된 펩타이드 및 시퀀스에 대한 이론적 정보가 포함된 표를 입력합니다.

그림 6-19 이론적 정보가 입력된 단백질 창



6. **Variable Modifications** 탭을 클릭합니다.

그림 6-20 Protein Pane - Variable Modifications Tab



7. Max. number of simultaneous modifications를 선택합니다.

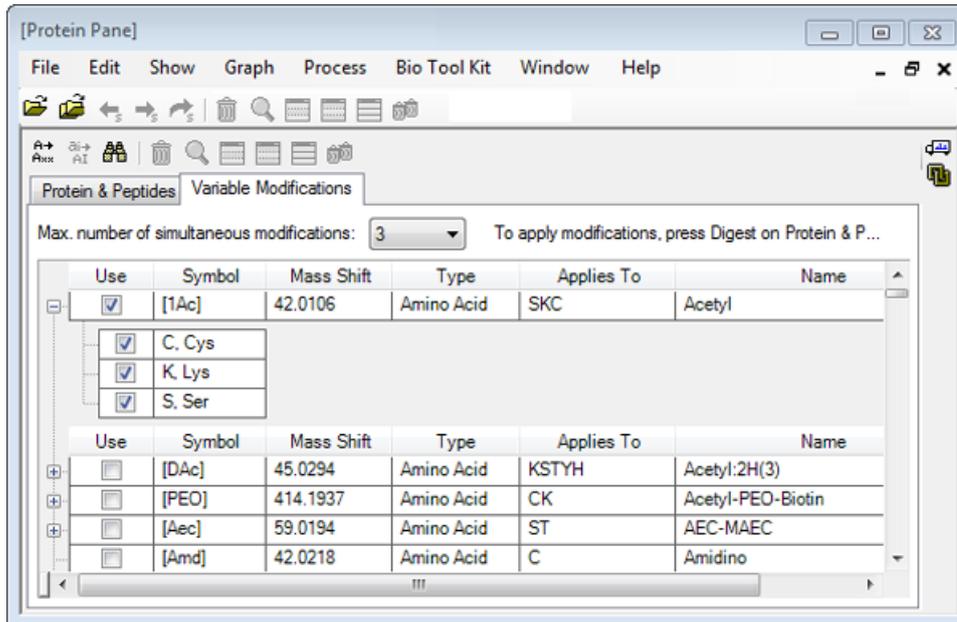
참고: 이 사용 지침 프로그램의 경우 3이 선택되었습니다.

8. 적절한 수정의 경우 Use 열의 체크 박스를 선택합니다.

팁! 아이콘이 체크 박스 왼쪽에 나타나는 경우 전체 아미노산 목록 또는 해당되는 목록을 선택할 수 있습니다.

참고: 이 사용 지침 프로그램의 경우 [1Ac]에 대해 체크 박스가 선택되었습니다.

그림 6-21 선택된 수정 사례

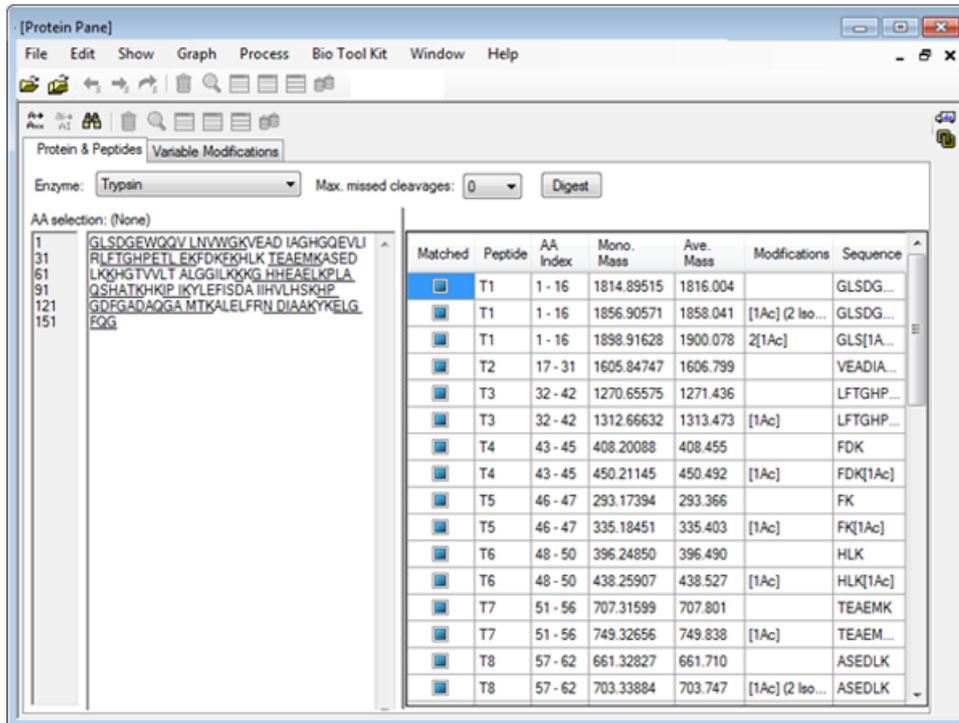


9. **Protein & Peptides** 탭을 클릭합니다.

10. **Digest**를 클릭합니다.

표 결과는 사용자의 선택을 반영하도록 수정됩니다.

그림 6-22 수정된 정보가 입력된 단백질 창



LCMS 펩타이드 재구성

LCMS 펩타이드 재구성은 스펙트럼 피크를 식별하고 식별된 스펙트럼 피크에서 디콘볼루션을 수행합니다. LCMS 펩타이드 재구성 도구는 두 가지 단계로 작업이 이루어집니다. 첫째, 피크 찾기 '강화' 알고리즘을 통해 피크를 찾을 수 있습니다. 둘째, 도구는 동위 원소 시리즈 및 전하 시리즈를 형성하는 피크 집단을 찾으며 발견된 모든 구성 요소의 중성 손실을 보고합니다.

1. 메인 도구 모음에서 **Open Sample** 아이콘을 클릭합니다.

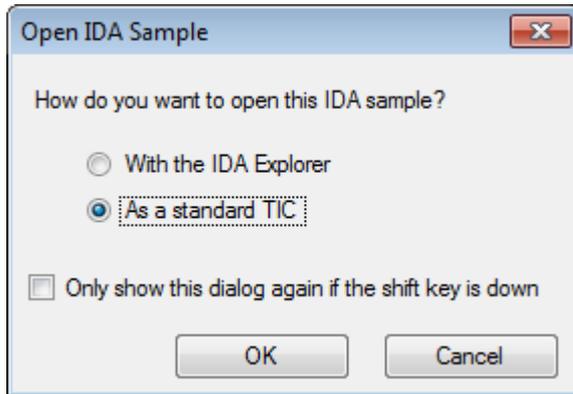
Select Sample 대화 상자가 열립니다.

2. Sample Data 폴더가 아직 선택되지 않은 경우 **Browse**를 클릭하여 **Sample Data** 폴더를 탐색합니다.

3. **RP_digests.wiff** 파일을 선택한 후 **OK**을 클릭합니다.

Open IDA Sample 대화 상자가 열립니다.

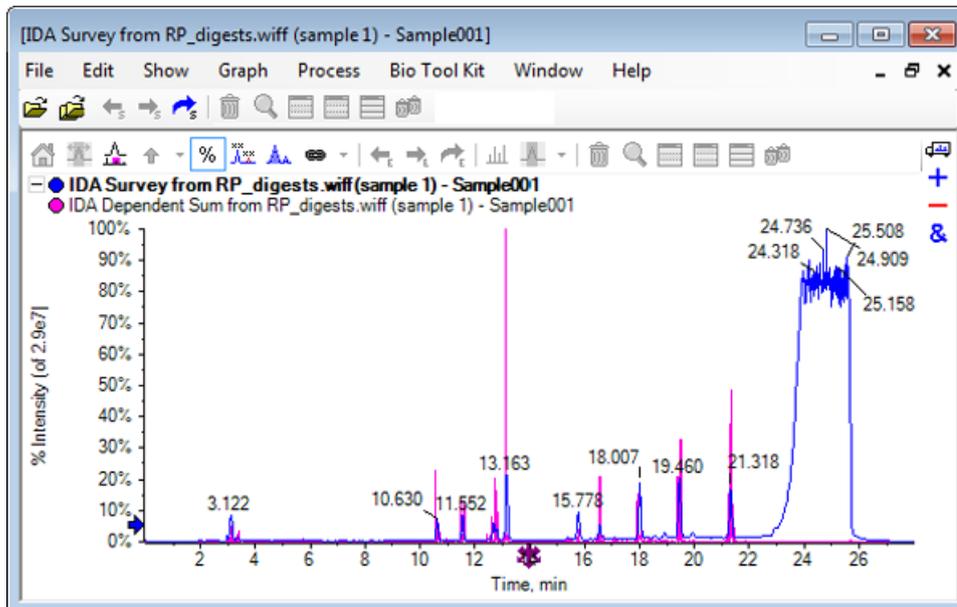
그림 6-23 Open IDA Sample 대화 상자



4. **As a standard TIC** 옵션이 선택되었는지 확인한 후 **OK**를 클릭합니다.

첫 번째 추적인 **IDA Survey from RP_digests.wiff (sample 1) - Sample001**이 볼드체로 표시되었는지 확인하십시오. 필요한 경우 이 추적을 선택합니다.

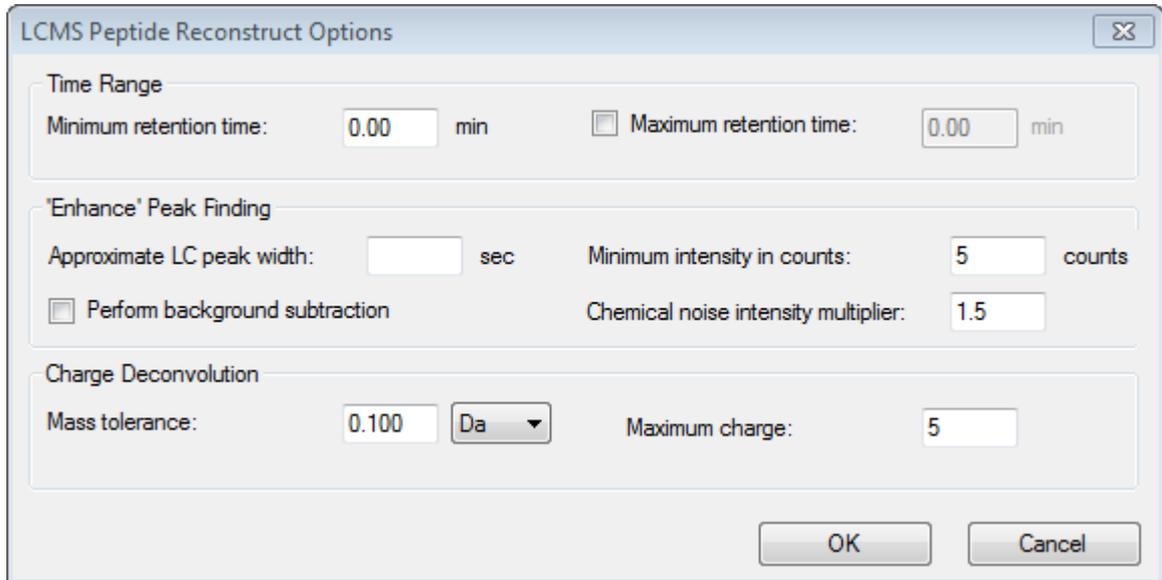
그림 6-24 IDA Survey from RP_digests.wiff



5. **Bio Tool Kit > LCMS Peptide Reconstruct (with peak finding)**을 클릭합니다.

LCMS Peptide Reconstruct Options 대화 상자가 열립니다.

그림 6-25 LCMS Peptide Reconstruct Options 대화 상자



6. 제공된 필드에서 다음 값을 입력합니다.

- **Minimum retention time** 필드에서 **9.00** 분 입력
- **Maximum retention time** 체크 박스를 선택한 후 필드에서 유형 **16.00**을 입력
- **Approximate LC peak width** 필드에서 **6.0**초 입력

참고: 근사 피크 폭은 배경 분리 중 오프셋을 측정하는데 사용됩니다.

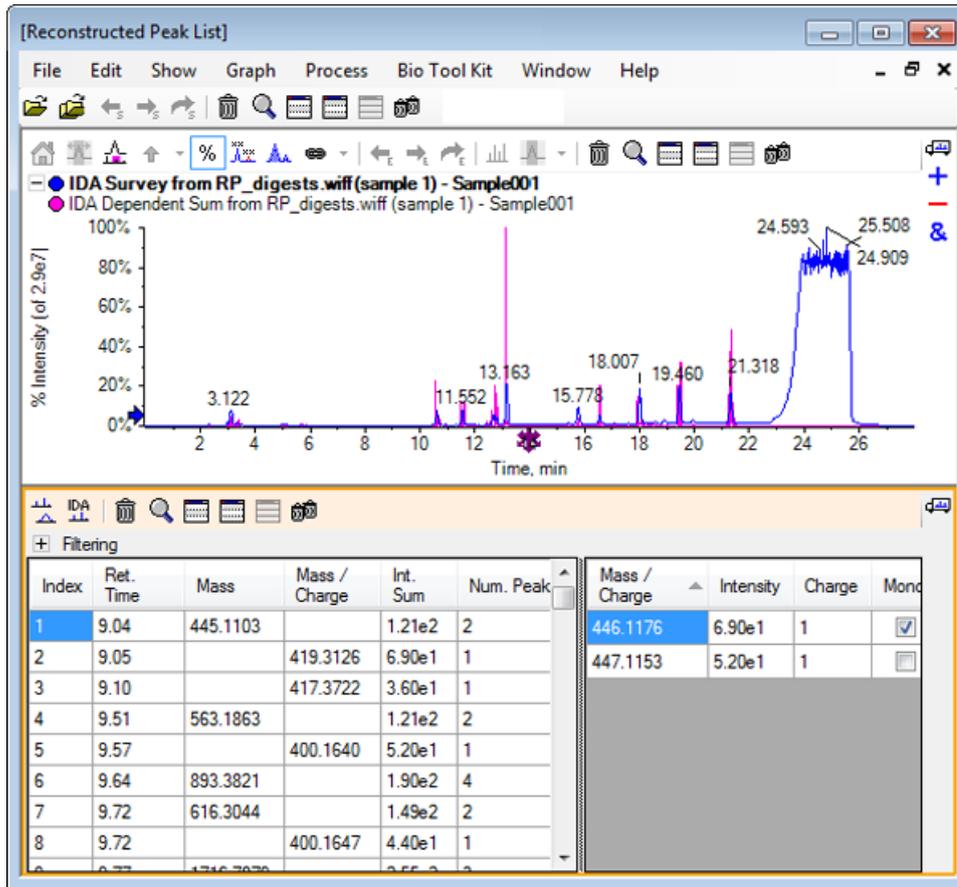
- **Minimum intensity in counts** 필드에서 **5**카운트 입력
- **Chemical noise intensity multiplier** 필드에서 **1.5** 입력
- **Mass tolerance** 필드에서 **0.100** Da 입력
- **Maximum charge** 필드에서 **5** 입력

참고: 전하 디콘볼루션 섹션 내 질량 허용 오차를 통해 재구성된 피크가 이론적으로 소화된 단백질과 일치하는지 그리고 동일한 펩타이드에 속한 다른 m/z 값이 그룹화되는지 확인합니다.

7. **OK**를 클릭합니다.

소프트웨어는 머무름 시간에 따라 분리되는 펩타이드에 대한 표를 보여줍니다. 다음은 나열된 각 펩타이드를 위해 제공되는 정보입니다. **Index, Ret. Time, Mass, Mass / Charge, Int. Sum,** 및 **Num. Peaks.**

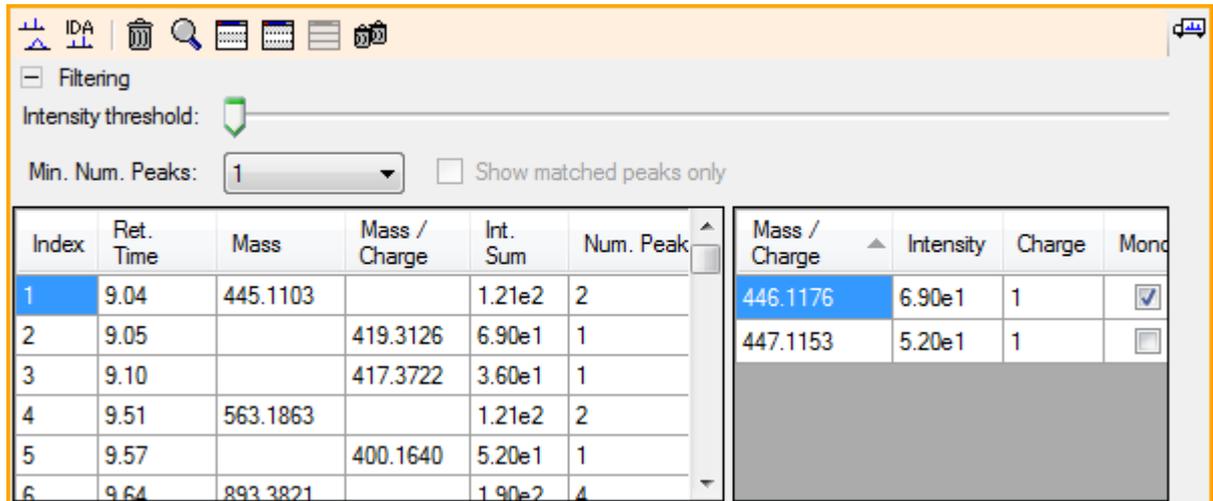
그림 6-26 재구성된 피크 리스트



8. **Filtering**을 확장하여 사용 가능한 필터링 옵션을 표시합니다.

사용 가능한 필터링 옵션에 다음이 포함됩니다. **Intensity threshold, Min. Num. Peaks, 및 Show matched peaks only.**

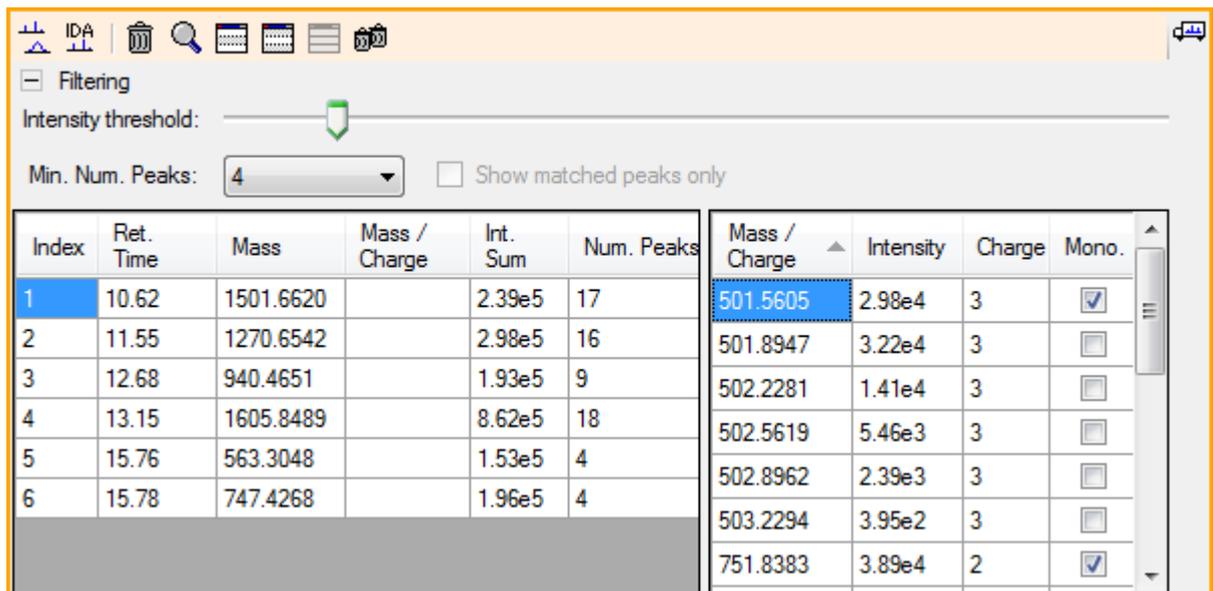
그림 6-27 Filtering Options



9. 하나 이상의 필터를 선택하여 필요에 따라 화면을 조정합니다.

참고: 이 사용 지침 프로그램에서 강도 임계값은 2.39e4 및 최소 숫자로 설정되었습니다. Num. 피크는 4로 설정되었습니다.

그림 6-28 재구성된 피크 리스트 필터링됨



도구 모음



바이오 도구 키트 기능으로 작업

도구 모음에 있는 아이콘을 사용해 필요에 따라 보기를 조절합니다.

표 6-2 도구 모음 아이콘

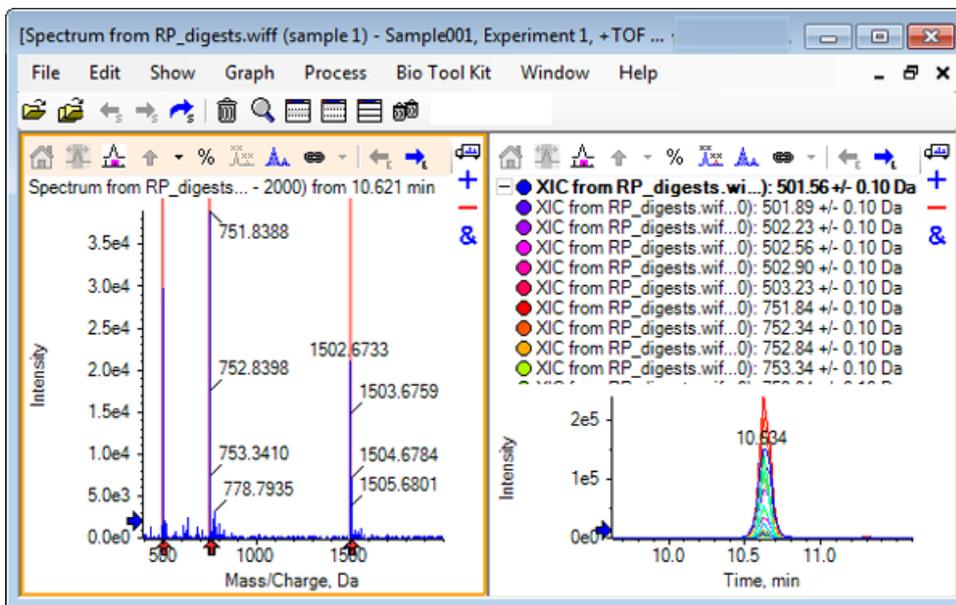
아이콘	이름(툴팁)
	스펙트럼 및 XIC 표시
	IDA MS/MS 스펙트럼 표시

참고: 창 아이콘 삭제로 시작하는 이 도구 모음 내 최종 여섯 개 아이콘은 [일반 창 도구 모음](#)에서 설명합니다.

스펙트럼 및 XIC 표시

스펙트럼 및 XIC 표시 아이콘을 선택한 경우 다음 스펙트럼 및 XIC 창이 열립니다.

그림 6-29 스펙트럼 및 XIC 결과 표시



생성된 MS 스펙트럼에 있어 펩타이드의 질량에 기여를 했던 화살표가 각 피크 아래에 표시됩니다. 펩타이드 질량에 기여를 했던 각 m/z 피크에 대한 XIC는 오른쪽에 있는 창의 중첩으로 표시됩니다.

IDA MS/MS 스펙트럼 표시

IDA MS/MS 스펙트럼 표시 아이콘을 선택하는 경우 다음 스펙트럼 창이 열립니다.

단백질 소화를 통한 LCMS 펩타이드 재구성

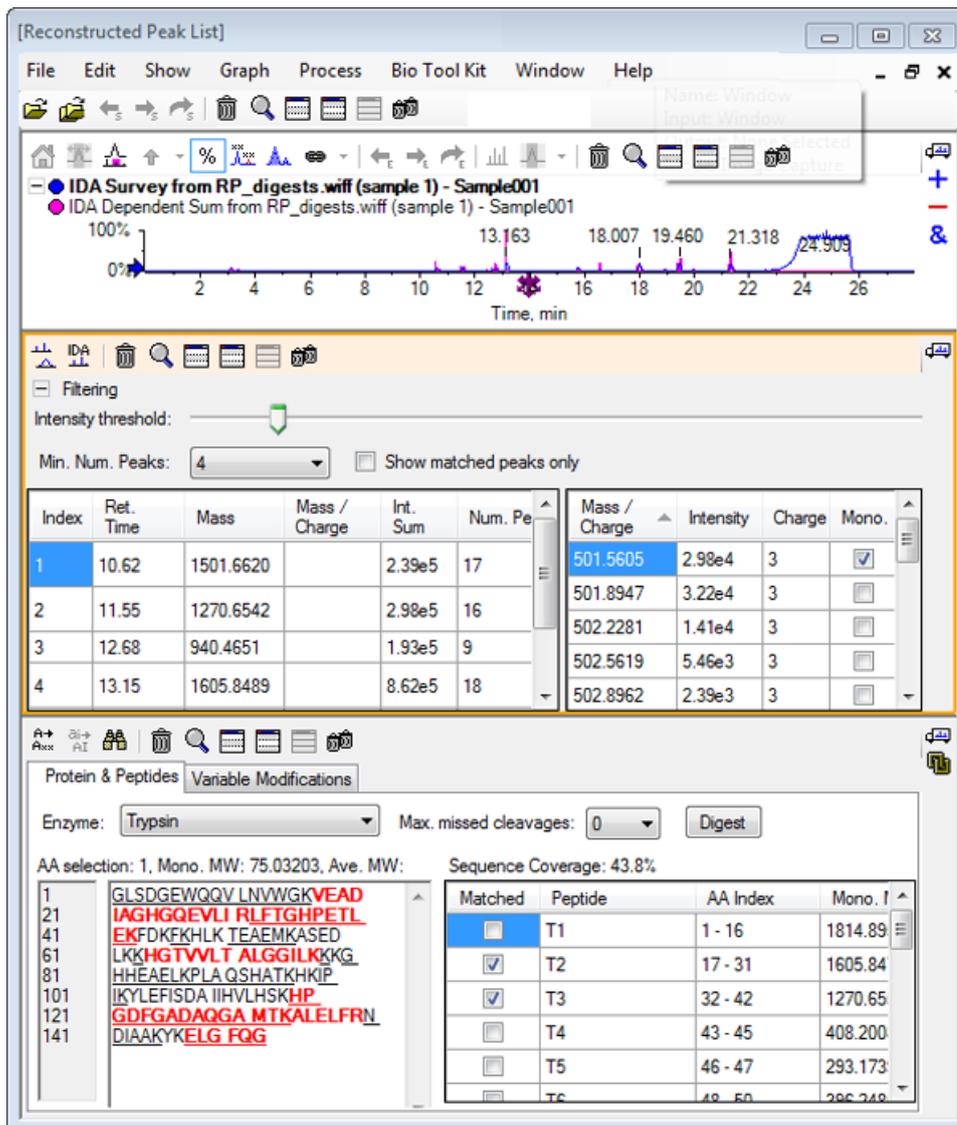
1. **Bio Tool Kit > Digest Protein.**을 클릭합니다.

Protein 창이 열립니다.

2. **Protein**창에서 **Drag to a protein pane to set its peak list** 아이콘을 **Reconstructed Peak List**창으로 드래그합니다.

재구성된 피크 목록 내에 이들과 일치하는 단백질 창에서 펩타이드 시퀀스를 표시하며 **Protein** 창이 새로 고침됩니다. 빨간색의 볼드체로 표시된 **Protein** 창의 단편은 **Reconstructed Peak List** 창에서 정확하게 일치할 수 있는 단편입니다. 빨간색 보통 글자체로 표시된 단편은, 해당 단편이 **Reconstructed Peak List** 창의 **Match** 컬럼에서 괄호 안에 표시된 전하 상태를 할당받았을 경우 **Reconstructed Peak List** 창에서 일치된 단편입니다. 검정색 글자체로 표시된 단편은 **Reconstructed Peak List** 창의 어떠한 단편과도 일치하지 않습니다.

그림 6-30 재구성된 피크 목록과 연결된 단백질 창에 관한 이론적 정보



단백질 재구성

이 옵션을 사용해 온전한 단백질의 평균 질량(분자 무게)을 확보합니다.

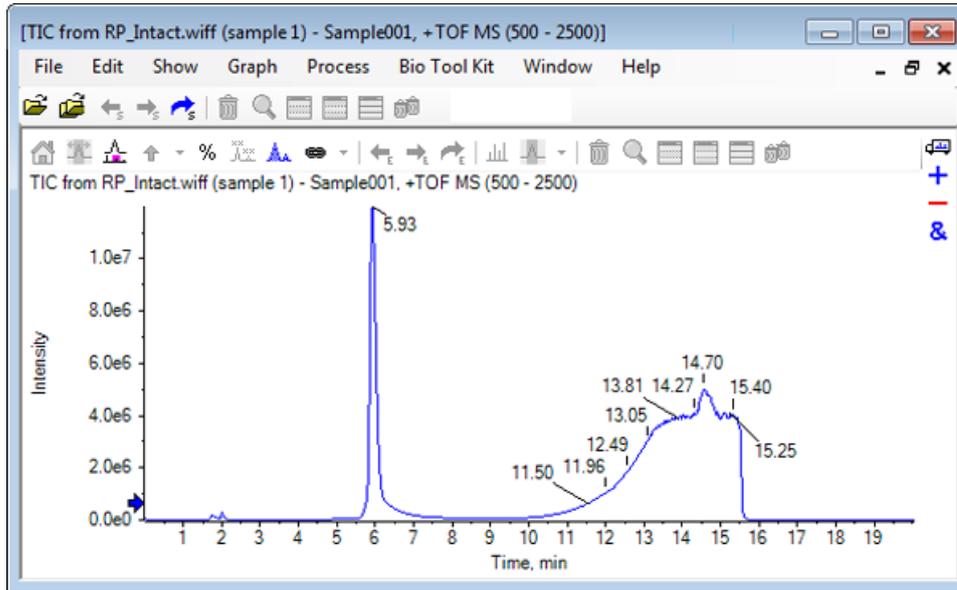
1. 메인 도구 모음에서 **Open Sample** 아이콘을 클릭합니다.

Select Sample 대화 상자가 열립니다.

2. **Sample Data** 폴더가 아직 선택되지 않은 경우 **Browse**를 클릭하여 **Sample Data** 폴더를 탐색합니다.

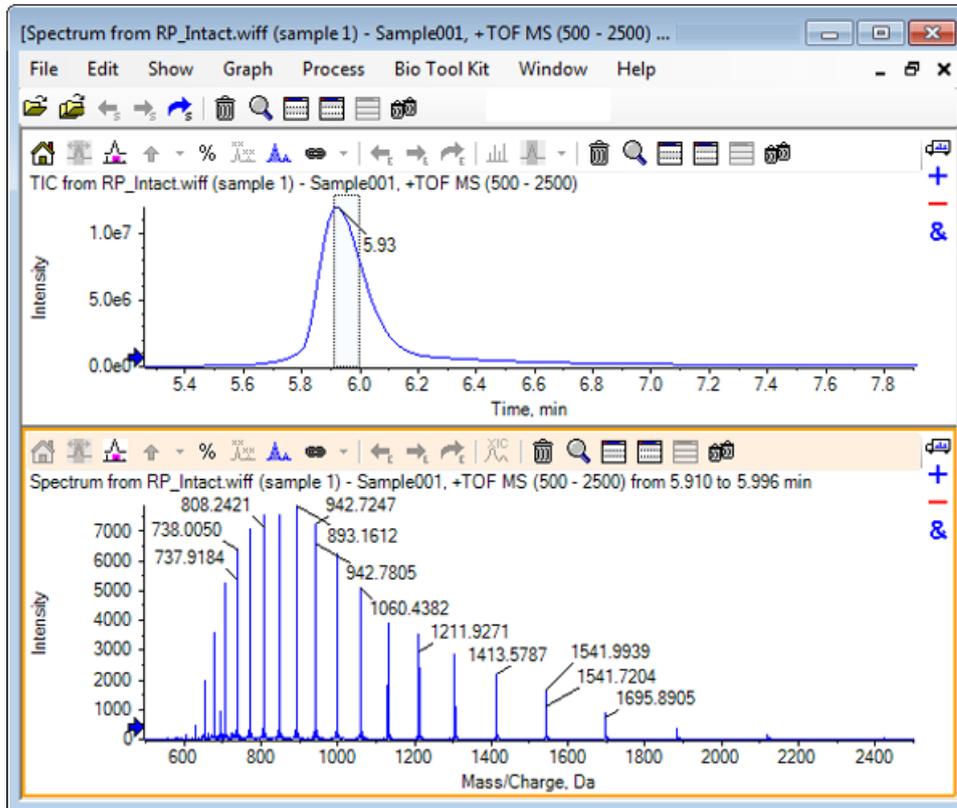
3. RP_Intact.wiff 파일을 선택한 후 OK을 클릭합니다.

그림 6-31 RP_Intact.wiff 파일에서의 TIC



4. 5.93분의 속도에서 피크 영역을 사용해 평균 스펙트럼을 생성합니다. 그림 6-32 내용을 참조하십시오.

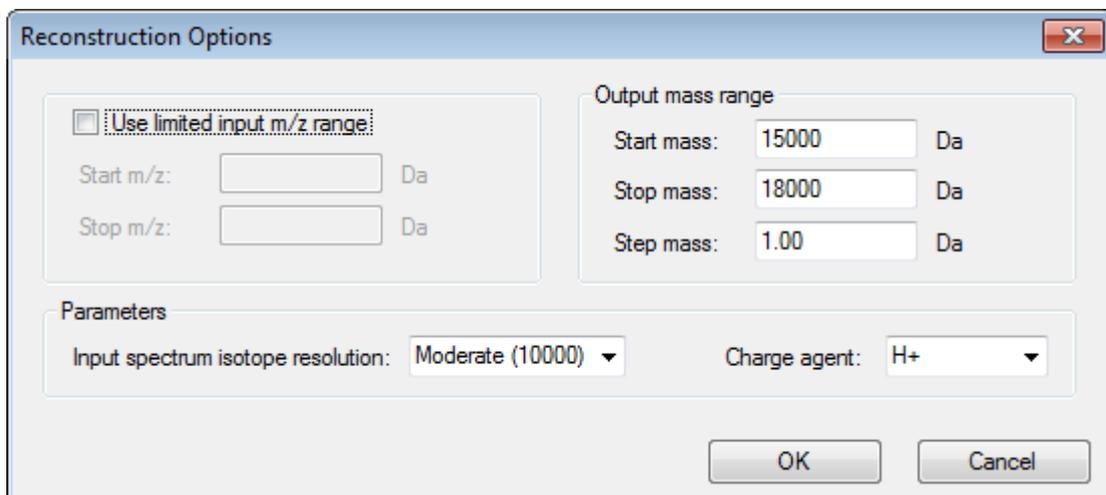
그림 6-32 평균 스펙트럼



5. 스펙트럼 창이 활성 상태일 때 **Bio Tool Kit > Reconstruct Protein**을 클릭합니다.

Reconstruction Options 대화 상자가 열립니다.

그림 6-33 Reconstruction Options



6. 다음 옵션에 대해 적절한 값을 입력합니다.

- **Start mass:** 15000 Da
- **Stop mass:** 18000 Da
- **Step mass:** 1.0 Da

7. 적절한 **Input spectrum isotope resolution:** Moderate (10000)을 선택합니다.

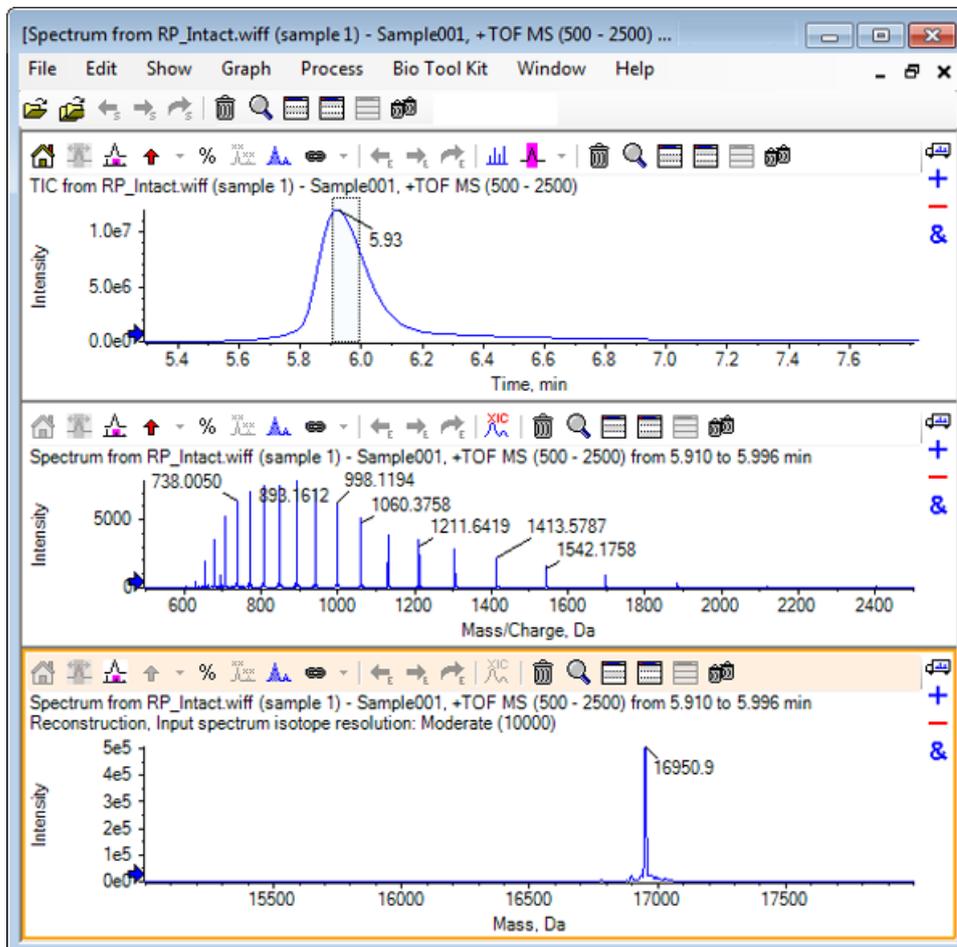
참고: 사극자 시스템을 통해 확보한 데이터의 경우 입력 스펙트럼 동위 원소 분해능 매개 변수 대신 피크 폭 매개 변수가 표시됩니다.

8. 적절한 **Charge agent:** H+를 선택합니다.

9. **OK**를 클릭합니다.

소프트웨어는 해당 제목 **Reconstruction, Input spectrum isotope resolution [user selection]** 이 붙은 별도 창에서 재구성된 단백질 스펙트럼을 생성합니다.

그림 6-34 Reconstruction Pane

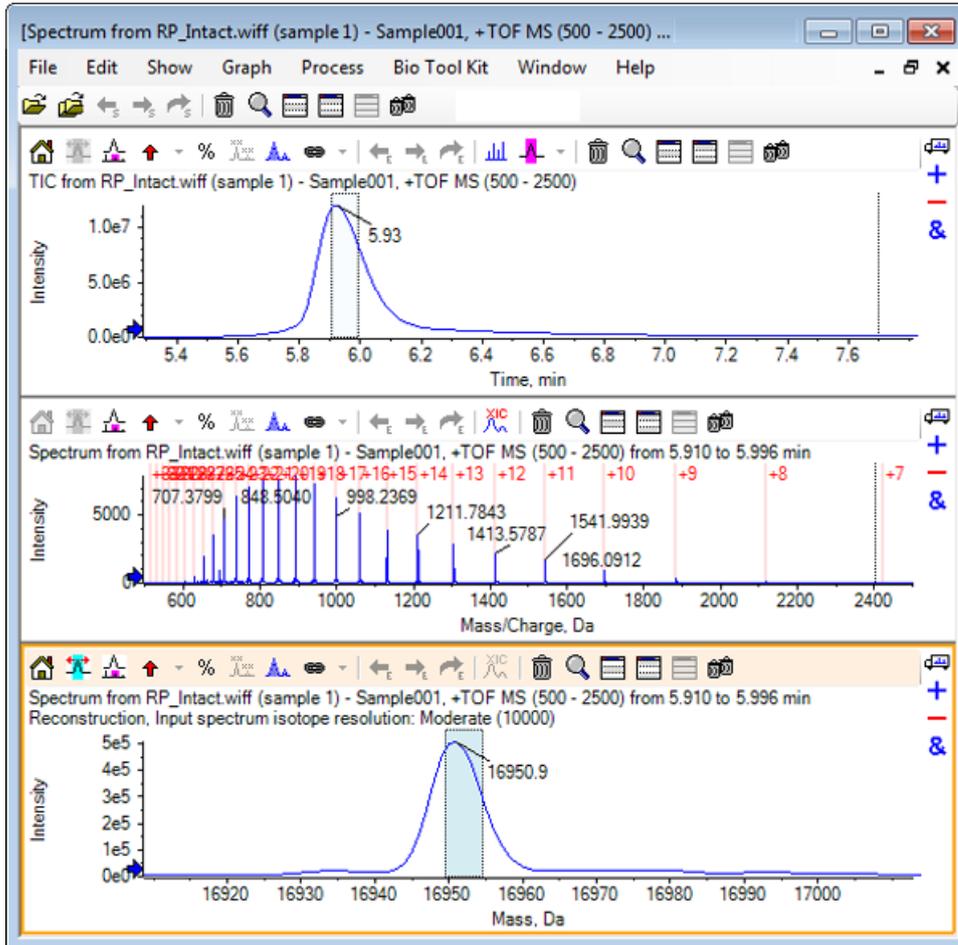


참고: 사극자 시스템을 통해 확보한 데이터의 경우 창의 제목은 Reconstruction, Peak width [value]입니다.

10. 재구성된 단백질 피크를 선택합니다.

선택된 스펙트럼에 수직 수동 재구성 하이라이트를 추가해 재구성된 단백질을 생성합니다.

그림 6-35 수동 재구성 하이라이트가 포함된 스펙트럼



요약

이 섹션에서 다음 작업에 대해 논의합니다.

- 소화된 단백질 샘플에서 MS/MS 스펙트럼 데이터를 수동으로 시퀀스합니다.
- 펩타이드 단편을 통해 수동으로 시퀀스된 스펙트럼을 연결합니다.
- 주어진 질량의 이론적인 m/z 속도 배치를 스펙트럼에 표시하는 기호(수동 재구성 하이라이트)를 추가합니다.

- 스펙트럼에서 기호를 제거합니다.
- 지정된 단백질의 사용자 정의된 효소 분열로 인해 발생하는 이론적인 펩타이드 시퀀스에 대한 정보를 확보합니다.
- LCMS 펩타이드 재구성을 통해 스펙트럼 피크를 식별하고 식별된 스펙트럼 피크에서 디콘볼루션을 수행합니다.
- 재구성된 피크 목록을 갖춘 단백질 창에서 이론적인 정보를 연결합니다.
- 온전한 단백질의 평균 질량(분자 무게)을 확보합니다.