Multi-ChromatoAnalysT 取り扱い説明書

Version 1. 6 対応

改訂作成日

２０２６年５月５日

用意するハードウェア

本ソフトウェアは Microsoft Windwos10，Windows11 にて動作することを確認しております．下記に推奨ハードウェア要件を記しますが，この限りではありません．動作のレスポンスはハードウェア性能が占める部分が多いため，使用予定の PC で動作を確認の上ライセンス申請をお願いします．（DirectX9,11, .NET Framework4.8.2 使用）

推奨ハードウェア条件

- ホイール機能の付いたマウス（クロマトグラムの拡大縮小に使用）
- 第 8 世代 Intel Corei7（4 コア）以上の CPU，専用の GPU もしくは CPU 内臓 GPU，16G 以上のメモリ，補助記憶装置 500Mbyte 以上（SSD（ソリッド・ステート・ドライブ推奨）搭載の WorkStation 本体
- WSXGA(1600x1024)以上のデスプレイ，4K デスプレイ対応

改定記録

2021.11.30 第一版 Version 1.0.1.1 対応
2022.1.8 Version 1.0.2.0　追記
2023.1.10 Version 1.3.1.0 改訂
2025.5.20 Version 1.4 改訂
2026.5.5 Version 1.6 改訂

目次

１．プログラムのアクティベーション 4
２．質量分析装置からのデータコンバート 5
３．ソフトウェアの起動方法 7
４．ソフトウェア起動画面と質量分析装置のデータの読み込み方法 8
５．MRM クロマトグラムの表示方法 9
5-1. MRM クロマトグラムの選択方法 9
5-2. MRM クロマトグラムの色の変更方法 11
5-3. MRM クロマトグラムの拡大縮小について 12
5-4. MRM クロマトグラムの重ね合わせ表示について 13
６．MRM クロマトグラムの定量方法 14
6-1. MRM クロマトグラムの面積値の取得方法 14
6-2. Edit spread sheet について 16
6-3. Report spread sheet について 20
７．ピークスタート位置，ピーク幅 22
８．結果の保存方法と直接編集による自動解析方法 26
8-2. セーブファイルと直接編集する解析方法 26
９．定量結果の表示方法 27
１０．ピーク範囲指定の自動判定（色）について 31
１１．ISTD の設定について 33
１２．検量線の利用方法 35
１３．クロマトグラムの表示、コピー方法 38
１４．AI pick 機能 40
１５．AI train 機能 42

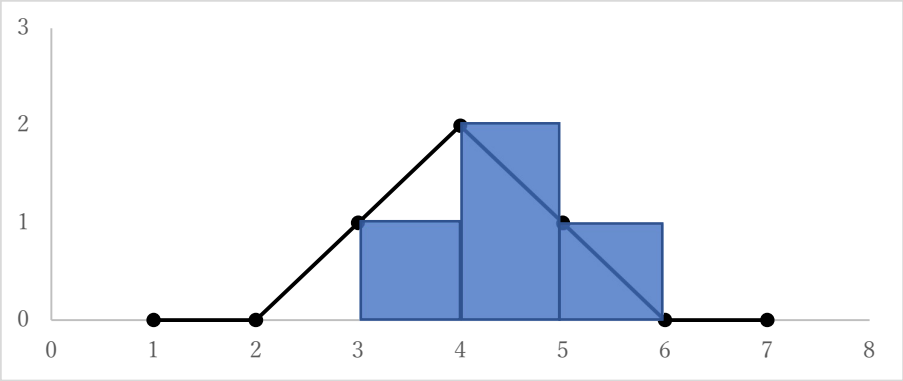
初めに

本ソフトウェアは主にメタボロミクス分野での使用を想定しており，多サンプル多化合物の測定を行う場合の解析にかかる時間を減らすべく開発を行ってまいりました．

同じメソッドで測定されたサンプルの同時解析を行うことを目的としており，それぞれのサンプル毎の MRM（Multiple Reaction Monitoring，SRM）クロマトグラムを重ね描きする事で，ひとつひとつ見ていた MRM クロマトグラムをまとめて解析できるように設計しております．質量分析装置は様々なメーカーから販売されており，データの保存形式も異なりますが，本ソフトウェアで読み込み可能な形式にコンバートした後に解析することを想定しております．

また MRM クロマトグラムの特徴として，基本はベースラインを 0 としてクロマトグラムの面積値を算出しております．具体的な算出方法は下記の通りです．

黒色点が実測データとして，黒色線が MRM クロマトグラムとして表示されている場合の面積値は青色の部分になります．（下記の場合は 1 ＋ 2 ＋ 1 =4 が面積値になります）



また，Version1.2 以降から，新たにベースライン補正，shoulder peak といったピーク面積の取得方法も個々の化合物に対して設定する事が可能です．

１．プログラムのアクティベーション

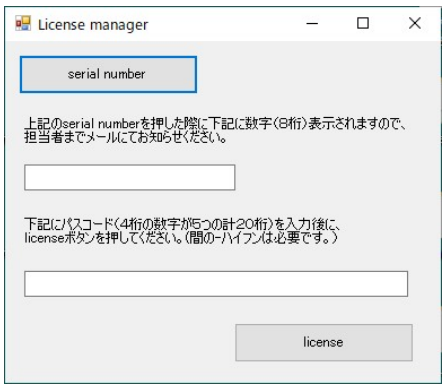
所定の方法でダウンロードした Multi-ChromatoAnalysT_***.zip(必要に応じてバージョンは変わります)を解凍し，フォルダ内に以下の二つの実行ファイルを確認下さい．

① Multi-ChromatoAnalysT.exe　（赤色のアイコン⇒ ）

本プログラムを実行（ダブルクリック）することで，解析プログラムが起動します．ライセンスを受けていない状態で起動すると，Read-only mode として，機能がクロマトの表示と解析結果の Import のみに限定されます．結果の Export 機能はもとより，Edit 機能，Result 表示機能等は一切機能しません．ただし，ライセンス保持者が解析した結果の閲覧（Import file）は可能ですので，本プログラムと解析ファイルによる MRM クロマトグラム表示や解析方法の妥当性を第三者が閲覧することが可能です．

② License_manager.exe

MRM クロマトグラム解析ソフトウェア Multi-ChromatoAnalysT（以下 mCAT）にライセンスを付与するプログラムです．mCAT を起動したい PC 上で実行して下さい．本プログラムを実行（ダブルクリック）すると，下記のような画面が表示されます．

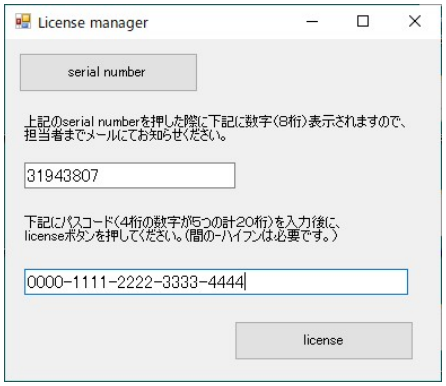


mCAT を起動する予定の PC 上にて Serial number を表示させてください（右上の×ボタンでプログラムは終了します）．

Serial number（数字８桁）を担当者に連絡後に，メールにてパスコードを発行します．

問い合わせ先

株式会社ビーフォース　製品担当アドレス　product@beforce.co.jp



パスコード（-ハイフンは必要）を入力後に License ボタンを押しますと，下記のように「ライセンスファイルを更新しました.」と表示されますとライセンスの取得は完了です．使用期限は mCAT 起動後の Help ファイルにて確認できます．

2．質量分析装置からのデータコンバート

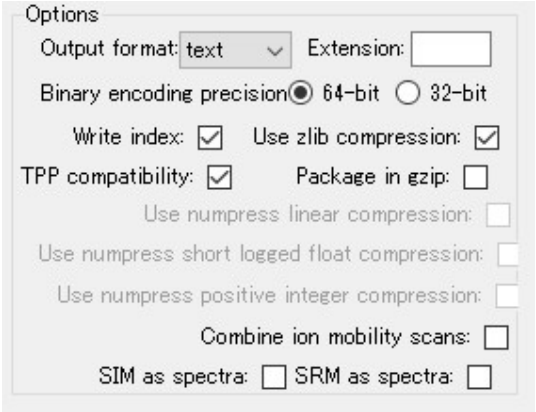
以下のホームページよりデーターコンバーターをダウンロードします．ホームページ画面の中央 Download ボタンからダウンロードサイトに移動し，License agreements にチェック後に下部の Download ボタンでコンバータープログラム（pwiz-setup-..）のダウンロードが行えます．ユーザー登録等は不要です．

https://proteowizard.sourceforge.io/

起動時にウィンドウの機能で保護される可能性があります（下記画面）.

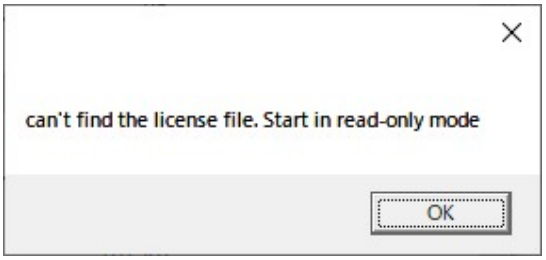
この場合は，詳細情報をクリックすると下部に実行ボタンが出現し，インストール可能となります．ダウンロードしたセットアップファイルを起動すると，2 つのプログラムがインストールされますが，コンバートに使用するのは MSConvertGUI のみです（SeeMS は使用しません）.

インストールした MSConvertGUI を起動し，以下の設定でデータのコンバートを行います．コンバート後のファイル拡張子は「.txt」となります.



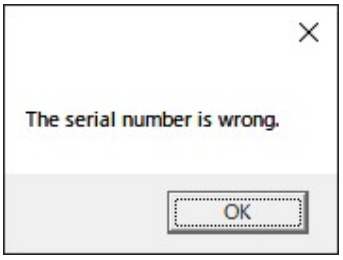
３．ソフトウェアの起動方法

Multi-ChromatoAnalysT_v[バージョン番号]フォルダ内の Multi-ChromatoAnalysT.exe をダブルクリックする事でソフトウェアが起動します．ライセンスを受けていない場合は下記ように Read-only mode でソフトウェアが起動します．



フォルダの場所はライセンスを受けた PC 内であれば，どの場所にコピーして頂いても問題ありません．またフォルダの名前は自由に変更できますが，フォルダ内に設置されているファイルの名前変更や削除はプログラムが正常に起動しなくなりますのでご注意下さい．

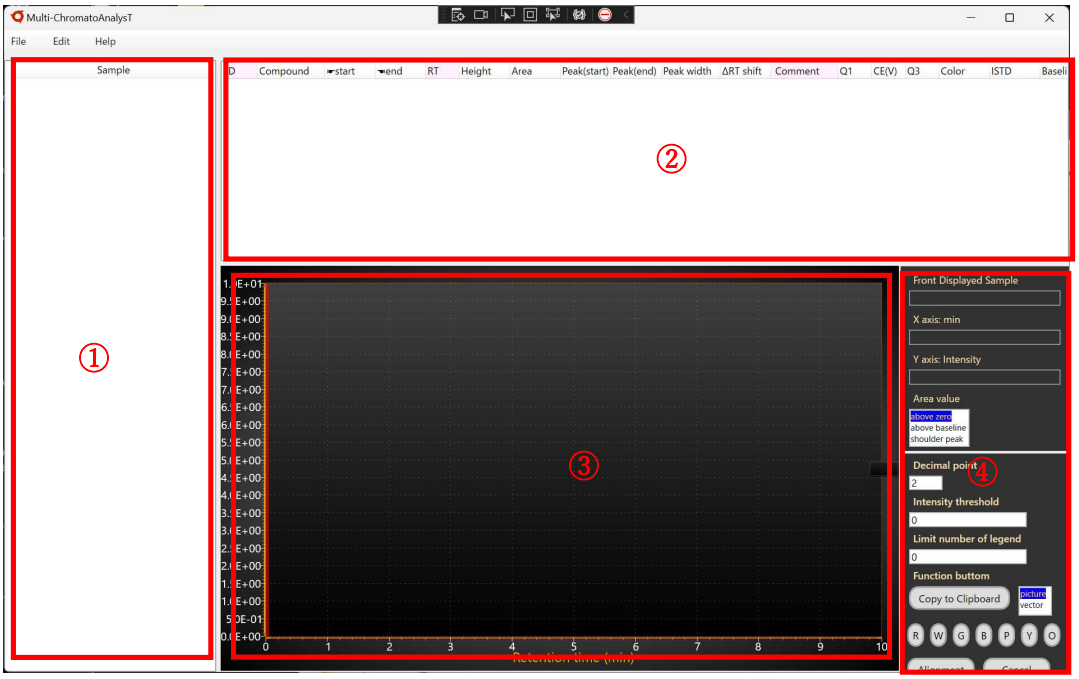
フォルダ内に間違ったライセンスファイル（license.txt）が存在すると，下記のような Warning メッセージが出た後，自動で Read-only mode で起動します．この場合はフォルダ内のライセンスファイル（license.txt）を削除するか，ライセンスを更新して下さい．ライセンスの無いプログラムでも MRM クロマトグラムの閲覧，Export した解析ファイルの読み込みは行えますが，新たに解析を行ってセーブ（Export）することはできません．



ライセンス済の PC にてプログラムを起動した場合は，このようなメッセージは一切表示されません．またライセンス期間はプログラムの Help>Version 情報でソフトウェアのバージョン情報とライセンス期間を確認することができます．

４．ソフトウェア起動画面と質量分析装置のデータの読み込み方法

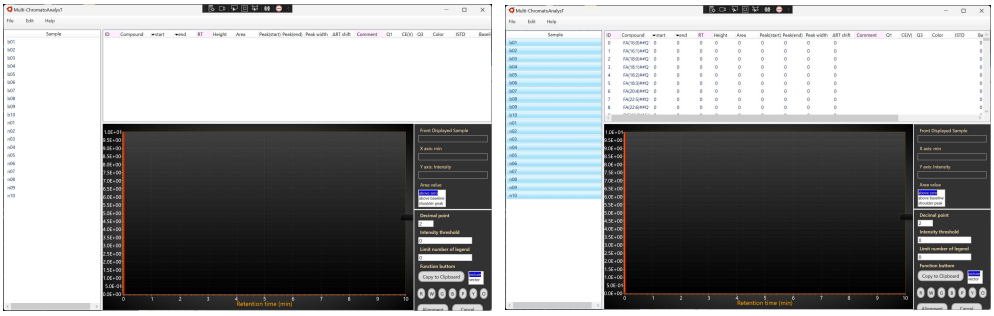
起動した mCAT の画面は下記になります（以下，メイン画面と呼称）．ウィンドウは，①サンプルウィンドウ，②化合物ウィンドウ，③クロマトウィンドウ，④情報ウィンドウの４つの部分に分けられます．



コンバート済のクロマトグラムデータは①のサンプルウィンドウにドラッグアンドドロップでデータの読み込みを開始します．**読み込んだファイルは自動でサンプルネームの昇順でソートを行います．途中でサンプルファイルを追加される場合は，必ずしも末尾に追加されるわけではありませんのでご注意下さい．**

また，Sample と表示部分をクリックしますと，表示されているすべてのサンプルを選択した状態になります（全選択）.

Sample ファイルを削除したい場合は，対象ファイルネームを選択した状態で右クリック後に表示されます delete をして頂くと，サンプルウィンドウから削除されます.



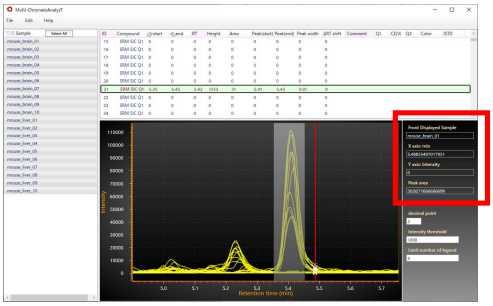
左図：20 サンプルをドラッグアンドドロップして表示，右図：Sample と表示部分をクリックで全サンプル選択時（背景色が変化）

5．MRM クロマトグラムの表示方法

MRM クロマトグラムは②の化合物ウィンドウで対象化合物を選択すると表示されます．詳細な選択方法は次節の 5-1 MRM 黒魔グラムの選択方法に記載します．また，クロマトグラムに対する色の変更方法（5-2 節），拡大縮小（5-3 節）,重ね合わせ（5-4 節）の方法も続けて説明を記載します,

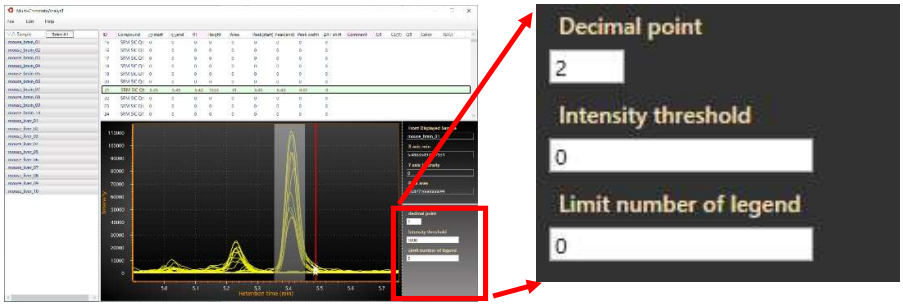
5-1．MRM クロマトグラムの選択方法

②化合物ウィンドウにて MRM 情報が表示されている行を左クリックで選択すると，該当する MRM クロマトグラムが，③クロマトウィンドウに表示されます．複数のサンプルを選択している場合は，クロマトグラムが重ねて表示されます．これは複数の化合物を選択した場合も同様です．選択したサンプル×選択した化合物数のクロマトグラムが同じ③クロマトウィンドウに表示されます.



③クロマトウィンドウの右側に位置する部分は④情報ウィンドウになっており，現在クロマトウィンドウカーソルが表示されている一番近傍に存在するクロマトグラムを構成しているポイント（点）の X 軸（時間）と Y 軸（強度）をリアルタイムで表示します．現

在，②化合物ウィンドウに表示されている情報は便宜上選択したサンプルの内の 1 サンプル分しか表示されないため，選択したサンプルのどの化合物情報であるのかは，④情報ウィンドウの Front displayed sample に表示しております．

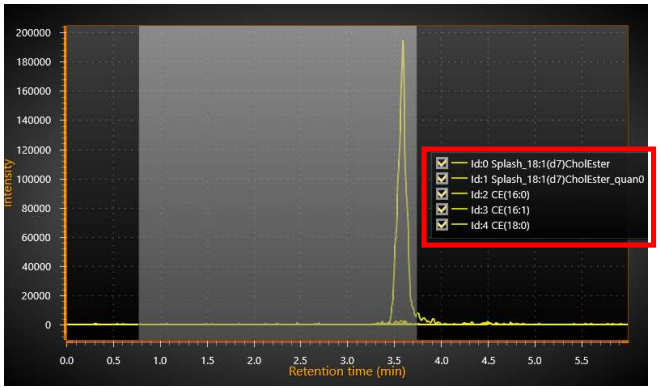


また上図に示すように④情報ウィンドウの下部には数字を入力することができるテキストボックスが配置されております．

Decimal point の数字は②化合物ウィンドウで表示する数字の小数点以下の数字を表しており，自由に調整することが可能です．

Intensity threshold はクロマトグラムの範囲指定を行い，解析を行う際に設定した数字以下の Height しかないクロマトグラムの場合はピークとして認識されずに RT や Area ともに 0 となります．ピーク認識は本値を超えたポイントの 1 つ手前のポイントからスタートします．Area 値も，1 つ手前の部分から算出しますので，Threshold の値を高く設定される場合はご注意下さい（ピークの裾野の部分の面積値がカットされる可能性があります）．面積値の小さいマイナーピークを取得したい場合は，Intensity threshold の値は 0 のままで解析を行い，後から Report spread sheet 上で調整する方法をお勧めします（Detection Limit（height）にて，一定の高さ以下のピークは削除することが可能です）．

Limit number of legend は③クロマトウィンドウにおいて，凡例の表示数を制限する値になります．選択したクロマトグラムの数が数値より大きい場合は表示されません．デフォルト値では 0 になっており，凡例は表示されません．5 を入力しますと下図のようにクロマトグラムが 5 つまでは凡例が表示されます．また，凡例の左にはチェックボックスがありますが，**右クリック**にてチェックを外すとクロマトグラムの表示を消すことが可能です．



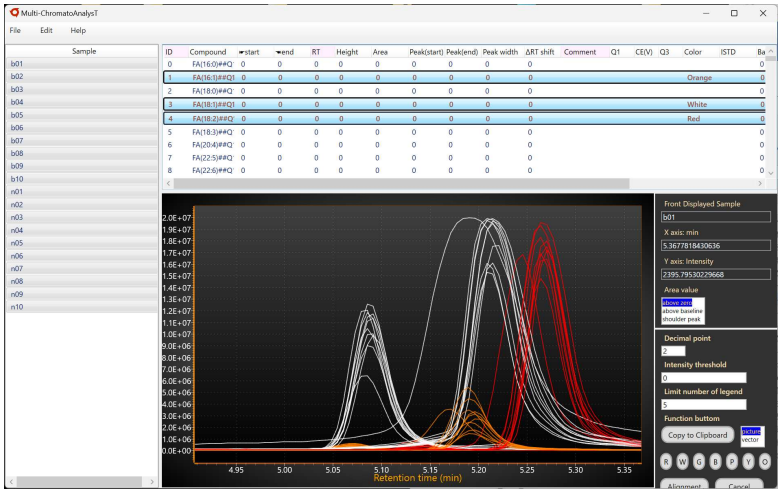
5-2. MRM クロマトグラムの色の変更方法

本ソフトウェアの特徴の一つは，複数のクロマトグラムを重ね合わせて表示させることが可能であり，①サンプルウィンドウ，②化合物ウィンドウともに複数選択可能となっています．その際はシフトキーもしくはコントロールキーを押しながら，マウスの左クリックで複数選択します（これらの選択対象はウィンドウにおけるファイル選択と同じです）．対象すべてのクロマトグラムがまとめて③クロマトウィンドウに表示されます．また，②化合物ウィンドウの化合物名表示の行選択後に以下のアルファベットキーもしくは下図のような情報ウィンドウに表示されているアルファベットボタンを押す事でクロマトグラムの色を変更することができます．変更後は選択行の Color の部分に該当する色名が表示されます．

<情報ウィンドウのグラフィック>

R	R: Red / 赤色
W	W: White / 白色
G	G: Green / 緑色
B	B: Blue / 青色
P	P: Purple / 紫色
Y	Y: Yellow / 黄色（デフォルト色）
O	O: Orange / オレンジ色

例えば，ID が 1 のクロマトグラムを Orange，3 を White，4 を Red にクロマトグラムの Color を変更して表示したのが下図になります．



5-3. MRM クロマトグラムの拡大縮小について

③クロマトウィンドウについての補足事項ですが，基本的に選択，表示したクロマトグラムはその全域を表示するようにクロマトグラムのスケールは自動調整されます．クロマトグラムの拡大縮小はマウスのホイールで行い，表示されているクロマトグラムを左右に移動したい場合は，右クリックしてホールドしたままマウスを左右に移動させることで，クロマトグラムも移動します．またクロマトグラム上でマウスについているスクロールホイールを上に回すと拡大，下に回すとクロマトグラムが縮小されます．その時の Y 軸は自動調整されるため，表示範囲内の最大値が Y 軸の一番上になります．数字の確認は軸上のスケールもしくは④情報ウィンドウに表示される近傍ポイントの数字を参考にして下さい．

5-4. MRM クロマトグラムの重ね合わせ表示について

次に複数選択時の補足説明をします．②化合物ウィンドウには ID 番号が付けられています．複数のサンプルを選択後に，②化合物ウィンドウを選択した場合は，同じ ID 番号を持つものが同時に選択されます．まったく同じメソッドで測定した結果であれば，必然的に同じ ID 番号になりますので問題はありませんが，違うメソッドで測定したサンプルが混在している場合には注意が必要です．例えば，①サンプルウィンドウの 5 つのサンプルを同時に選択し，その後に②化合物ウィンドウの列の一つを選択すると 5 つのサンプルに対して，同じ ID 行の化合物を同時に選択，表示を行います．これは次の章で述べる定量する際にも同時選択，同時実行が可能であり，一度に複数のサンプルに対して同時にクロマトグラムのピーク面積値算出などができます．

また本ソフトウェアでは化合物の同時選択も可能です．例えば 5 サンプルを選択した後に 3 つの化合物を選択すると，5 サンプル× 3 化合物の 15 個のクロマトグラムを重ね合わせ表示する事が可能です．③クロマトウィンドウにおけるクロマトグラムの最大表示数は 2000 個です．ただし，次の章で述べる定量における各種行為は選択しているすべての MRM クロマトグラムに対して（例え２０００個を超えて表示されていない場合でも）機能します．

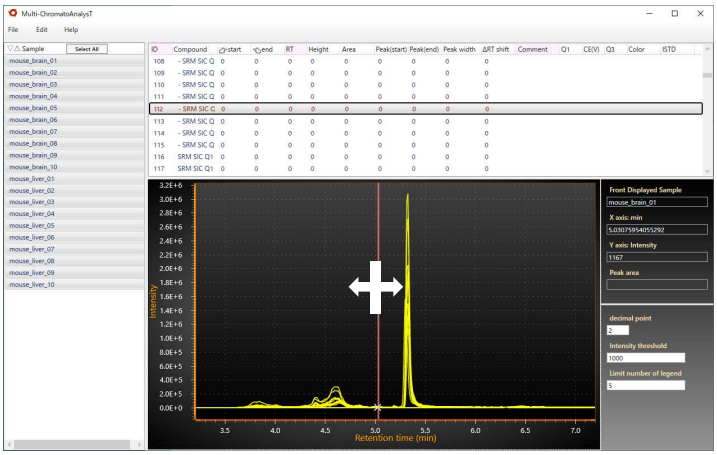
6．MRM クロマトグラムの定量方法

MRM クロマトグラムの定量は，ピークの面積値（もしくは高さ）の取得と，ISTD もしくは外部検量線によるサンプルの定量値を算出することで実現します．簡易的な定量ではピークの面積値のみを任意単位（a.u）として用いる場合もあります．実際の面積値のもとめかたを次節（6-1）より詳細に説明します．また，シートからの入力（数字入力）による定量方法を 6-2 で，結果をレポート方法については 6-3 で説明します．

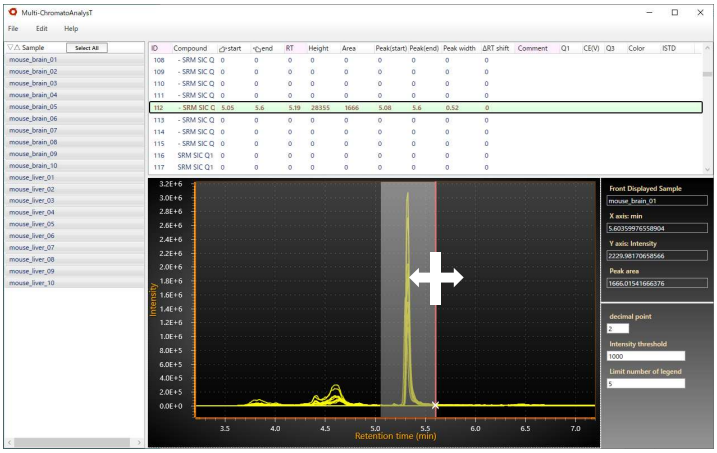
6-1. MRM クロマトグラムの面積値の取得方法

クロマトグラムのピーク面積値を求める方法は，「③クロマトウィンドウにてマウスを左クリックすることでピーク範囲の選択を行い指定する方法」と「クロマトグラムのピーク範囲を直接数字で入力する方法」の 2 つです．

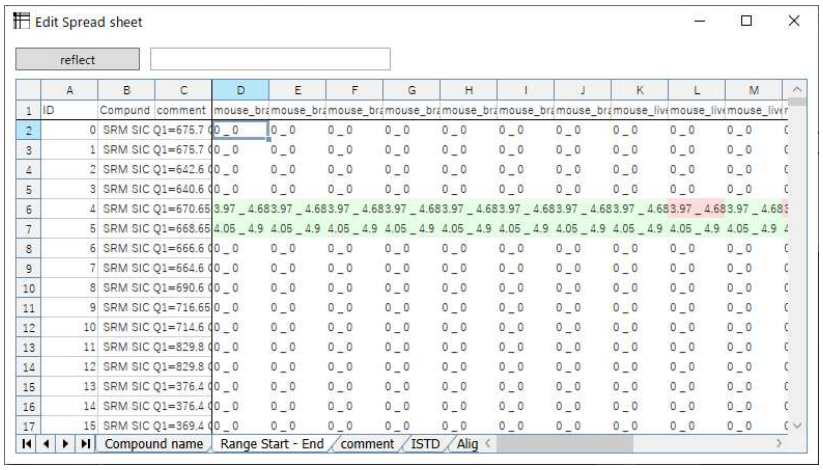
1 つ目の方法の詳細を次に述べます．まず面積値を求めたいクロマトグラムを②化合物ウィンドウの一列を左クリックすることで，③クロマトウィンドウにクロマトグラムを表示させます．次に③クロマトウィンドウのクロマトグラムが表示されている画面に対して，ピーク面積値を求めるための**始点**を左クリックします．



左クリックをしたままマウスを右方向に動かすと範囲が下図のように白っぽく表示されます．また左クリックを離すとそこが**終点**となり②の化合物ウィンドウの Start と End の部分に数字が自動入力され解析結果も同時に反映されます．補足となりますが，左クリックをした後にマウスを左方向に動かした場合は始点と終点が入れ替わった状態で入力されます（必ず End 時間> Start 時間となるように入力されます）．

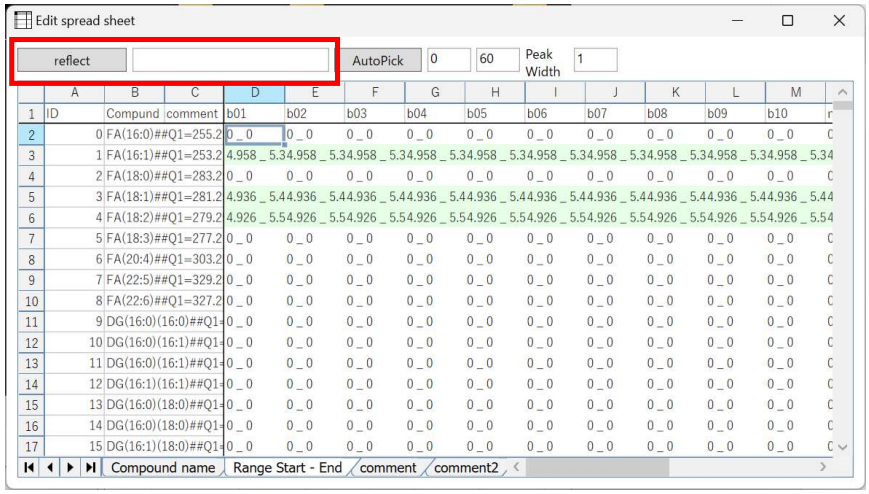


続いてもう一つの方法である「クロマトグラムのピーク範囲を直接数字で入力する方法」について説明します．ソフトウェア上部の **Edit>Edit spread sheet** を選択すると，下図のような画面が Popup します．



Range start-end タブが数字で範囲指定を行うためのエリアとなり，現在表示されている 0-0 は何も範囲指定されていないことを示しています．マウス操作でピーク範囲指定を行ったクロマトグラムは既に指定した数字が入力されており，色が変わっているのが分かると思います．（6,7 行目の ID4，ID5）ここで，数字を新たに入力して，Edit spread sheet ウィンドウの上部にある[Reflect]ボタンを押すと，表示されている範囲指定が実際の解析に反映されます．[Reflect]ボタンを押すまでは入力した数字は反映されません．範囲数字の入力方法は始点の時間_（半角アンダーバーが間に必須）終点の時間を入力する必要があります．繰り返しの説明になりますが，**入力後に[Reflect]ボタンを押すと，**押された時刻（update….）が隣の空白部分に表示されると同時に**化合物ウィンドウに入力した値（☞Start,☜End）以外にも comment や comment2, Alignment, ISTD, Area value, Intensity threshold などすべ**

ての値が入力されると同時に，解析結果（Height や Area）が②化合物ウィンドウに反映されます．それぞれのタブの意味については次章(6-2)で詳細に説明します．



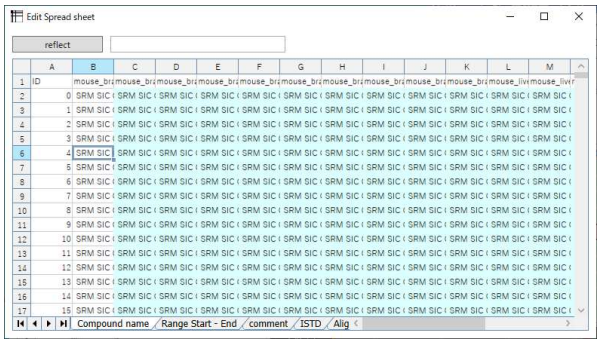
refrect ボタンの右側にある AutoPick は範囲選択を行っていないクロマトグラムに対して，最も高いピークを自動で選択するデモンストレーション的な機能になります．具体的には AutoPick 右側の二つの数字がクロマトグラム選択する開始時間と終了時間となります．６０分以上のクロマトグラムは 60 の数字の部分を該当する時間に変更してください．スタート時間を変更したい場合は 0 の部分の数字を変更すると，それ以前に測定しているクロマトグラムに対しては無反応となります．また PeakWidth の値は，最も高い height を中心として PeakWidth の値（分）の範囲を選択します．

6-2. Edit spread sheet について

次に Edit spread sheet の Range start-end 以外のタブについて説明します．

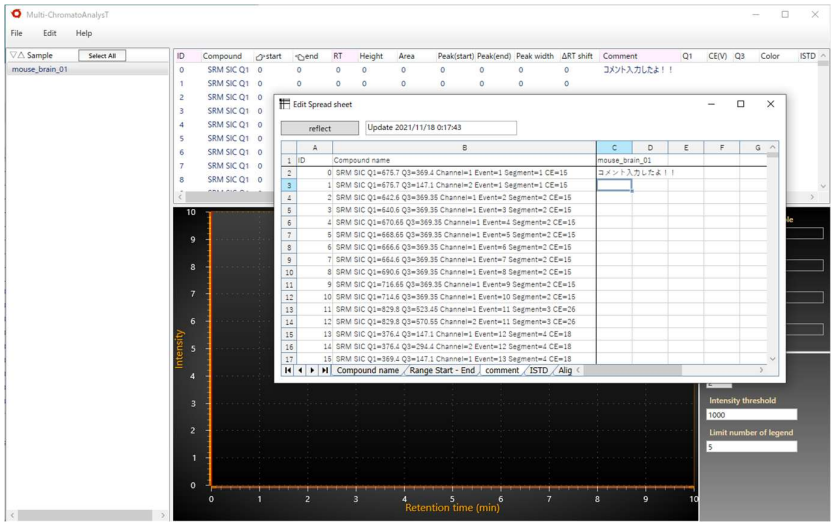
[Compound name]

化合物名を一覧表記します(MS コンバーターを使用した場合は化合物名ではなく SIM…と表記になります)．サンプルの MRM トランジション名が同じであれば水色表示を行う仕様のため，全く同じメソッドで測定を行った場合は必然的に 2 番目以降のサンプルの MRM トランジション部分が水色表示になります．全てが水色表示にならない場合は別のメソッドで測定した質量分析のデータが紛れ込んでいる可能性があるため本ソフトウェアでは解析できません．同時に解析するサンプルのメソッドが同一のもので測定したサンプルのみを使用し，本シートはその確認に使用して下さい．



[Comment]

コメント欄に文字列を入力した後に[Reflect]ボタンを押すと，化合物ウィンドウの Commnet に反映されます（下図参照）．MS コンバーターを使用した場合のデータは Compound name に名前が挿入されないため，代理として Comment に化合物名などを入力することで解析をスムーズに進める事ができます． また，一度解析データを Export した後にそのまま Import を行うと，Compound name にある##よりも前の文字列が自動で comment に入力されます，また同時に Compound name に Q1,Q3 等のデータが存在する場合も，自動で②化合物ウィンドウの Q1,Q3 へ反映されます．



[Comment2]

予備的なコメント欄として活用ください．Commnet2 に入力された文字列は，Summay の８行目に表示されます．Comment の項目は実質 MRM の場合は化合物の名称になることから，本部分を実質的なメモとして活用ください．

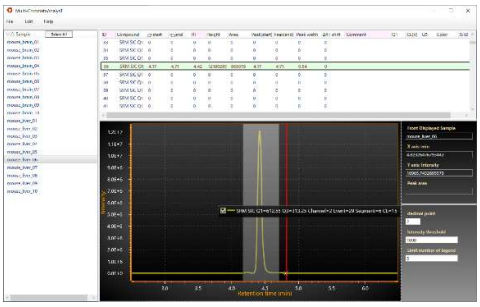
[ISTD]

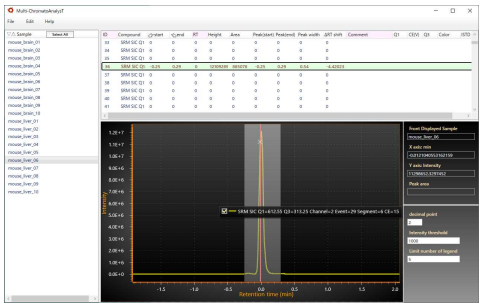
化合物毎に ISTD（内部標準物質）を個別に設定して，相対定量値を自動算出することが可能になります．さらに，内部標準物質の濃度も個別に設定することができます．具体的には

ISTD の化合物濃度が 25 μ M だったとすると，化合物名の後に##25 と入力することで定量値に 25 をかけた値を自動計算します．特に濃度を記載しない場合は##1 と入力した結果と同じになります．

[Alignment]

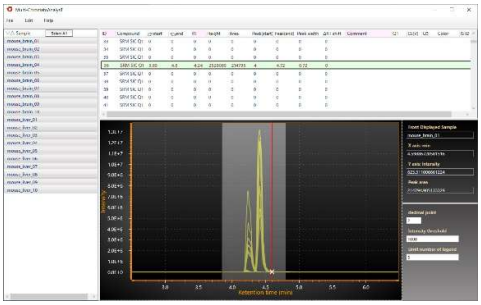
アライメント欄にはデフォルトでは 0 と入力されています．ここに数字を入力後に Reflect ボタンを押して反映するとクロマトグラムの X 軸が入力した数字分シフトします．－（マイナス）表記の場合は逆に移動します．つまり実際の RT は表示上の RT-(マイナス) Alignment の数字になります．Range start-end の数字入力と併用される場合は，Alignment の入力でずれますのでご注意下さい．

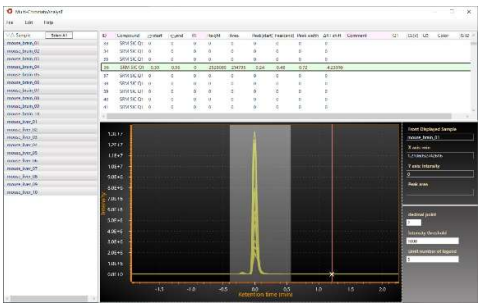




次に実際のアライメントの仕方について説明します．例えば下左図のように，複数表示した際のピークトップがずれている場合に，それらの複数のピークを含む範囲の指定を行った後に該当 MRM トランジションが選択している状態で④情報ウィンドウ下部の

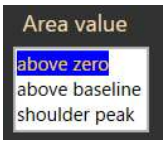
の Alignment ボタンか，キーボードの「A」キーを押すと下右図のようにピークトップの RT は④情報ウィンドウの Front displayed sample に表示されているサンプルに合わせる形でアライメントが行われます．（この際には Δ RT shift が RT 分移動します）．また Cancel ボタンか，「Z」キーを押すと，選択されているクロマトグラムの Δ RT shift がすべて 0 となりアライメントが解除されます．このようにしてそれぞれのサンプルで RT がずれている場合でもピーク範囲を厳密に指定することができます．





[Area_value]

対象化合物のクロマトグラムにおけるピーク面積値の取り方を選択することができます．情報ウィンドウの Area value で選択したピーク面積値の取り方が本表にそのまま反映されます．



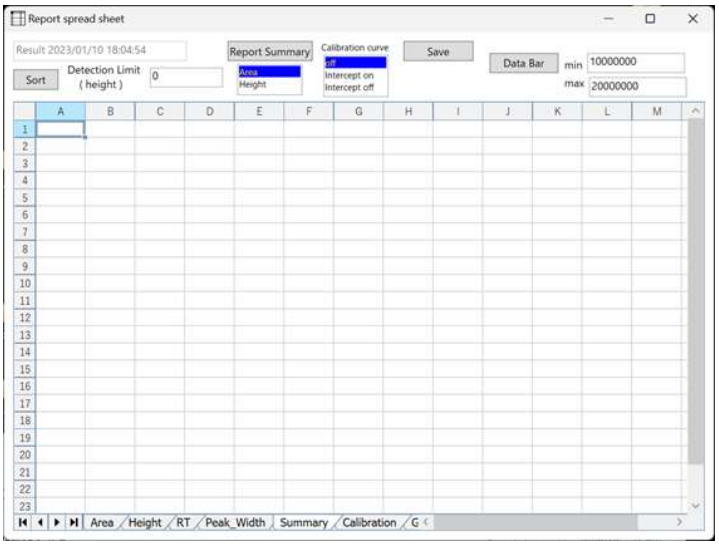
Edit spread sheet で直接選択する場合は，above_baseline, shoulder_peak　と単語の間にアンダーバーを忘れずに入力してください．空白もしくは上記 2 種類以外の文字列が入力されている場合はデフォルトの above zero が自動選択されます．

[Intensity_threshold]

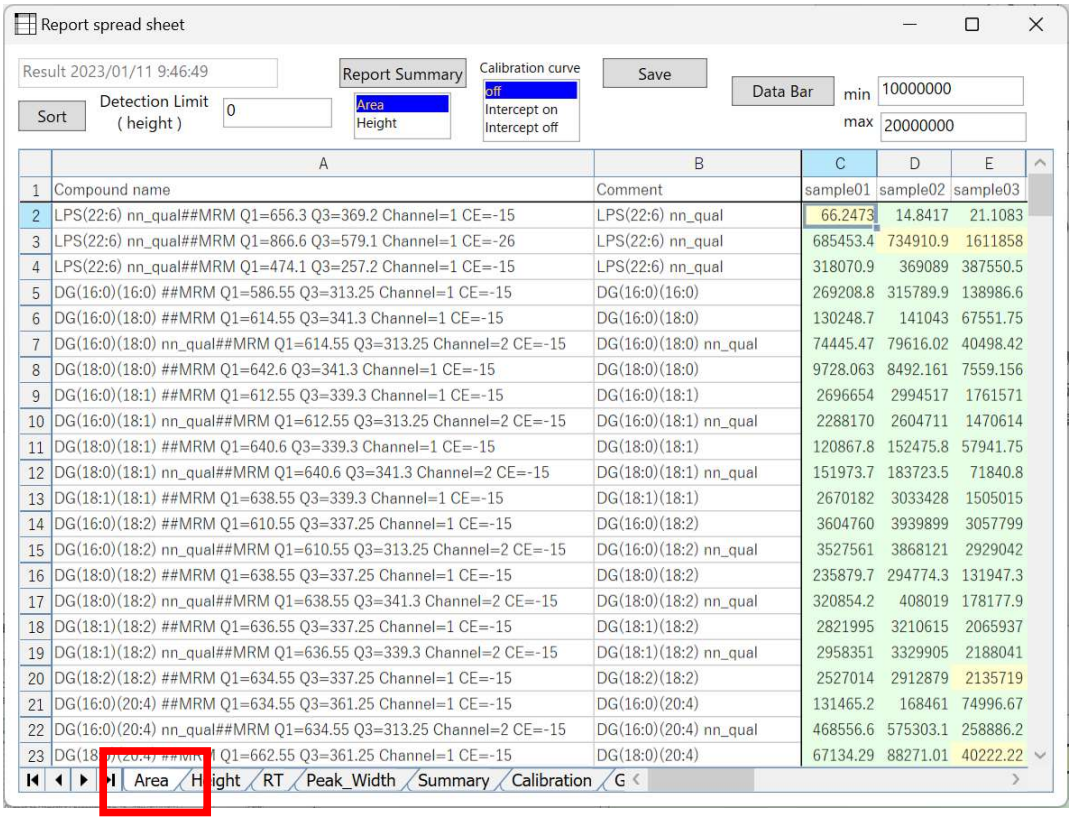
ピークを認識し，積分が開始される Intensity を対象化合物毎に設定します．デフォルトでは 0 に設定しております．

6-3. Report spread sheet について

クロマトグラムのピーク面積値の算出が終わった後に，結果を表示したい場合は，**Edit>Report spread sheet** を選択すると下図のような画面が表示されます．



左上のボックスに（Result ＋ 表示した時点での時刻）を示しており，表示した時刻における解析結果となります．表示させたままの状態で他の作業を継続解析することも可能です．シートのうち，Summary のタブが表示されているかと思いますが，マイクロソフトエクセルの操作と同様に Area, Hegiht, RT, Peak_width タブをクリックすることで該当のシートを表示することが可能です．これらのタブは解析を行った結果を表示しているにすぎませんが，後に述べるように，[Repot Summary]のボタンを押すことで，結果をまとめて Summary タブと Calibration タブに表示します．



	A	B	C	D	E
1	Compound name	Comment	sample01	sample02	sample03
2	LPS(22:6) nn_qual##MRM Q1=656.3 Q3=369.2 Channel=1 CE=-15	LPS(22:6) nn_qual	66.2473	14.8417	21.1083
3	LPS(22:6) nn_qual##MRM Q1=866.6 Q3=579.1 Channel=1 CE=-26	LPS(22:6) nn_qual	685453.4	734910.9	1611858
4	LPS(22:6) nn_qual##MRM Q1=474.1 Q3=257.2 Channel=1 CE=-15	LPS(22:6) nn_qual	318070.9	369089	387550.5
5	DG(16:0)(16:0) ##MRM Q1=586.55 Q3=313.25 Channel=1 CE=-15	DG(16:0)(16:0)	269208.8	315789.9	138986.6
6	DG(16:0)(18:0) ##MRM Q1=614.55 Q3=341.3 Channel=1 CE=-15	DG(16:0)(18:0)	130248.7	141043	67551.75
7	DG(16:0)(18:0) nn_qual##MRM Q1=614.55 Q3=313.25 Channel=2 CE=-15	DG(16:0)(18:0) nn_qual	74445.47	79616.02	40498.42
8	DG(18:0)(18:0) ##MRM Q1=642.6 Q3=341.3 Channel=1 CE=-15	DG(18:0)(18:0)	9728.063	8492.161	7559.156
9	DG(16:0)(18:1) ##MRM Q1=612.55 Q3=339.3 Channel=1 CE=-15	DG(16:0)(18:1)	2696654	2994517	1761571
10	DG(16:0)(18:1) nn_qual##MRM Q1=612.55 Q3=313.25 Channel=2 CE=-15	DG(16:0)(18:1) nn_qual	2288170	2604711	1470614
11	DG(18:0)(18:1) ##MRM Q1=640.6 Q3=339.3 Channel=1 CE=-15	DG(18:0)(18:1)	120867.8	152475.8	57941.75
12	DG(18:0)(18:1) nn_qual##MRM Q1=640.6 Q3=341.3 Channel=2 CE=-15	DG(18:0)(18:1) nn_qual	151973.7	183723.5	71840.8
13	DG(18:1)(18:1) ##MRM Q1=638.55 Q3=339.3 Channel=1 CE=-15	DG(18:1)(18:1)	2670182	3033428	1505015
14	DG(16:0)(18:2) ##MRM Q1=610.55 Q3=337.25 Channel=1 CE=-15	DG(16:0)(18:2)	3604760	3939899	3057799
15	DG(16:0)(18:2) nn_qual##MRM Q1=610.55 Q3=313.25 Channel=2 CE=-15	DG(16:0)(18:2) nn_qual	3527561	3868121	2929042
16	DG(18:0)(18:2) ##MRM Q1=638.55 Q3=337.25 Channel=1 CE=-15	DG(18:0)(18:2)	235879.7	294774.3	131947.3
17	DG(18:0)(18:2) nn_qual##MRM Q1=638.55 Q3=341.3 Channel=2 CE=-15	DG(18:0)(18:2) nn_qual	320854.2	408019	178177.9
18	DG(18:1)(18:2) ##MRM Q1=636.55 Q3=337.25 Channel=1 CE=-15	DG(18:1)(18:2)	2821995	3210615	2065937
19	DG(18:1)(18:2) nn_qual##MRM Q1=636.55 Q3=339.3 Channel=2 CE=-15	DG(18:1)(18:2) nn_qual	2958351	3329905	2188041
20	DG(18:2)(18:2) ##MRM Q1=634.55 Q3=337.25 Channel=1 CE=-15	DG(18:2)(18:2)	2527014	2912879	2135719
21	DG(16:0)(20:4) ##MRM Q1=634.55 Q3=361.25 Channel=1 CE=-15	DG(16:0)(20:4)	131465.2	168461	74996.67
22	DG(16:0)(20:4) nn_qual##MRM Q1=634.55 Q3=313.25 Channel=2 CE=-15	DG(16:0)(20:4) nn_qual	468556.6	575303.1	258886.2
23	DG(18:0)(20:4) ##MRM Q1=662.55 Q3=361.25 Channel=1 CE=-15	DG(18:0)(20:4)	67134.29	88271.01	40222.22

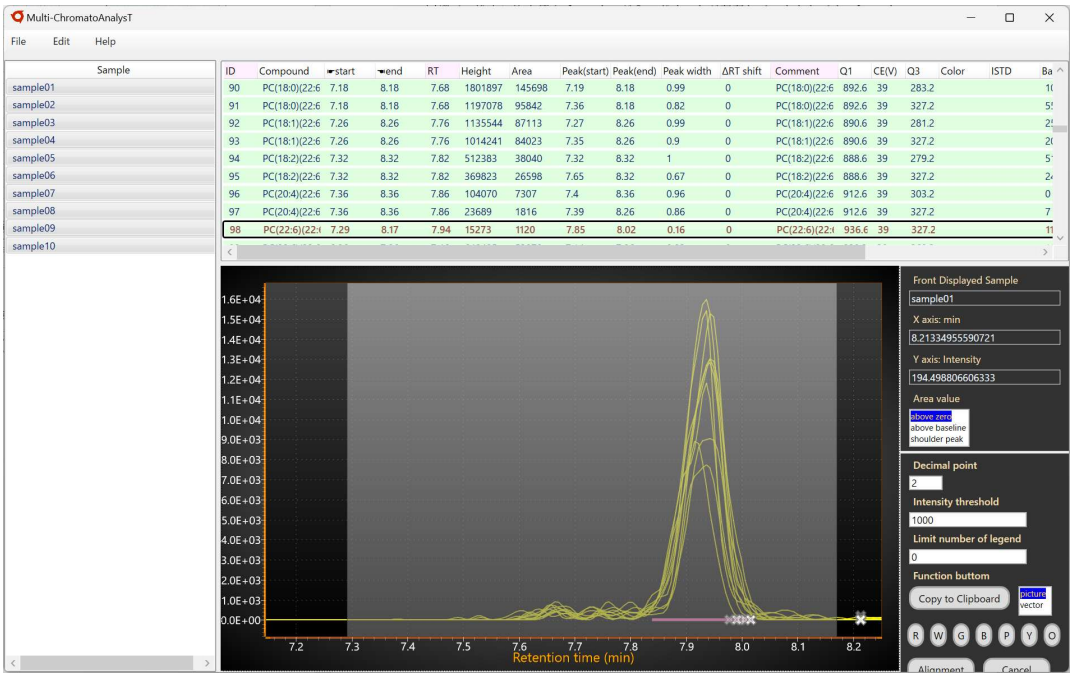
[Area]を左クリックしてピーク面積値の一覧表示を行った図（一番上にサンプル名，左側に compound name(MS コンバーター使用時にはトランジション名)＋コメントが表示される）

また，ピークの面積値以外にもピークの高さ[Height]，ピークの溶出時間[RT]，ピークの幅（ピーク選択の範囲ではないので注意）[Peak_width]などの一覧表もあるので必要に応じて活用して下さい．[calibration]は内部検量線，外部検量線による定量を行う際に利用します．（別の章で詳細に説明します）

７．ピークスタート位置，ピーク幅

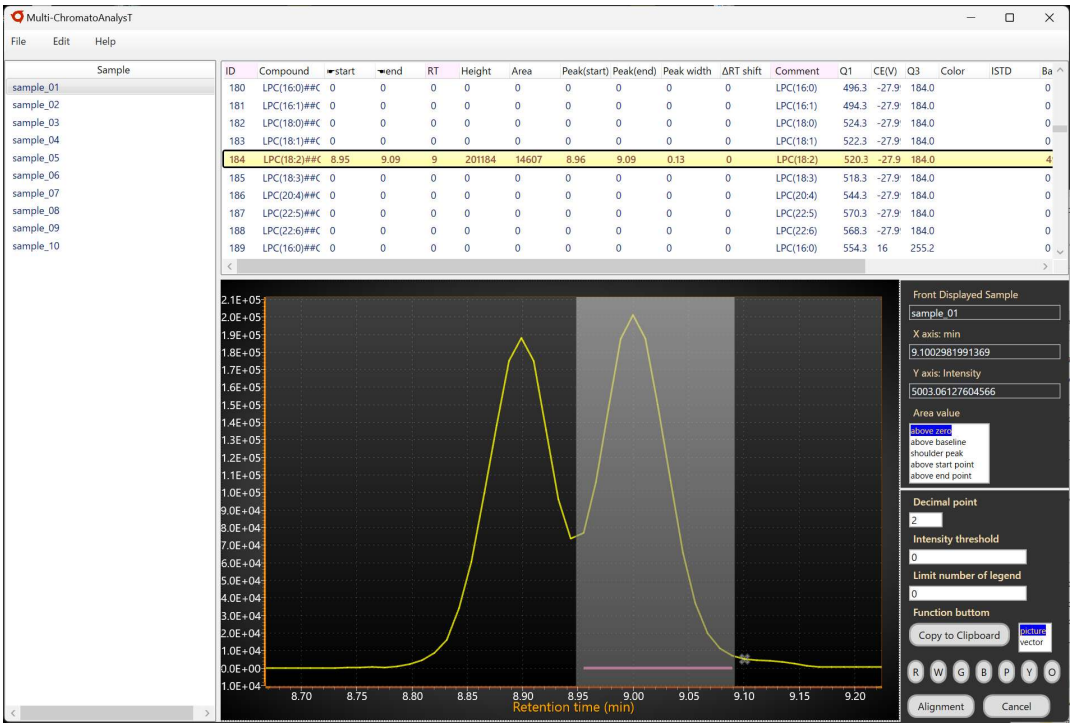
クロマトグラムのピーク面積値を求めるにあたり，本ソフトウェアの設定部分について説明します．②化合物ウィンドウに表示される，Peak（Start）と Peak（End）は，start と end で範囲指定をした間にあるピークになります．このピークに対する RT や height，Area を計算した結果を②化合物ウィンドウ．また実際の Peak 検出は，④情報ウィンドウにある Intensity threshold の値を超えたポイントの 1 つ手前から検出されます．ピークの終わりも同様で，途中に極小値や Intensity が 0 のポイントが存在していたとしても，Intensity threshold 以上のポイントが存在すれば，そこまではピークとして認識されます．MRM クロマトグラムはベースラインが 0 の場合が多いため，Intensity threshold の値を 0 にすることで，範囲内全てのピークの面積値を求めることができます．

下記のようにベースラインが 0 でない場合のクロマトグラムにおいて，Intensity threshold を設定することで，ピンク色のラインから左右に存在する小さいピークは認識されなくなっているのが分かります．

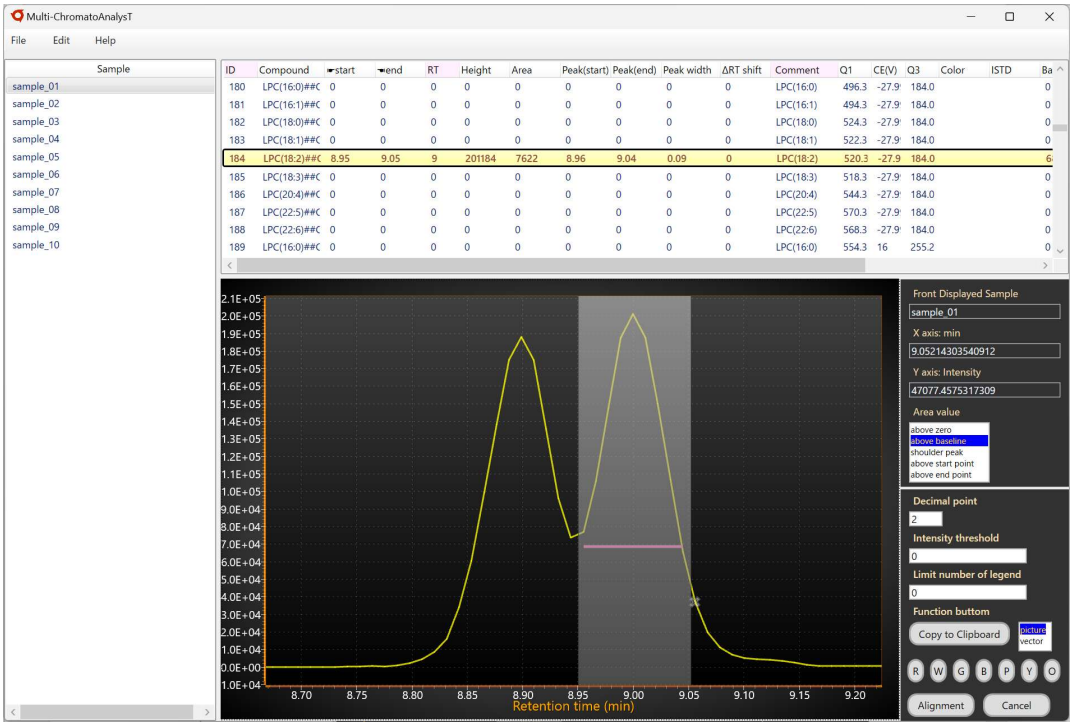


またデフォルトの above zero（Intensity が 0 より大きいすべてのピークを選択する）以外にも above baseline や shoulder peak といった面積値の求め方もあります．
面積値を求める際のベースラインは範囲選択時にピンク色のラインが表示されますので，そのピンク色のラインより上の面積値が合計され，②化合物ウィンドウに反映，表示されます．②の化合物ウィンドウには面積値以外にも，Area_value(3 種類の面積値の算出方法)や Intensity threshold(ピークを認識する強度)も表示され，これらの項目は Edit Spreadsheet にて個別に設定することも可能です．

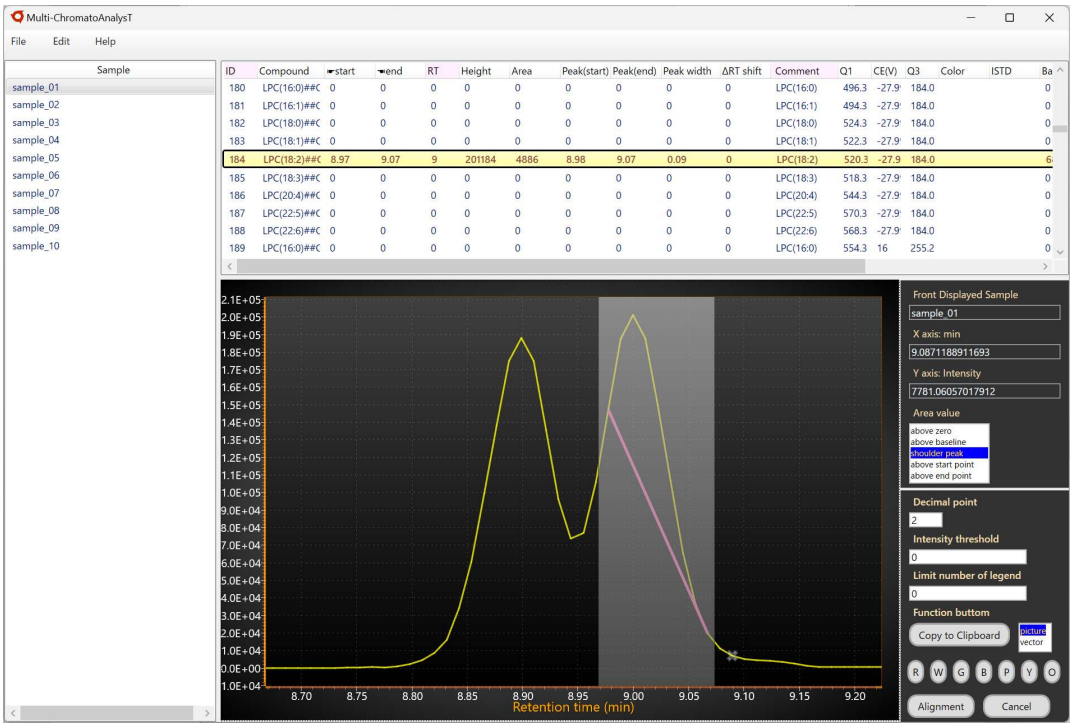
・Above zero で範囲選択した場合



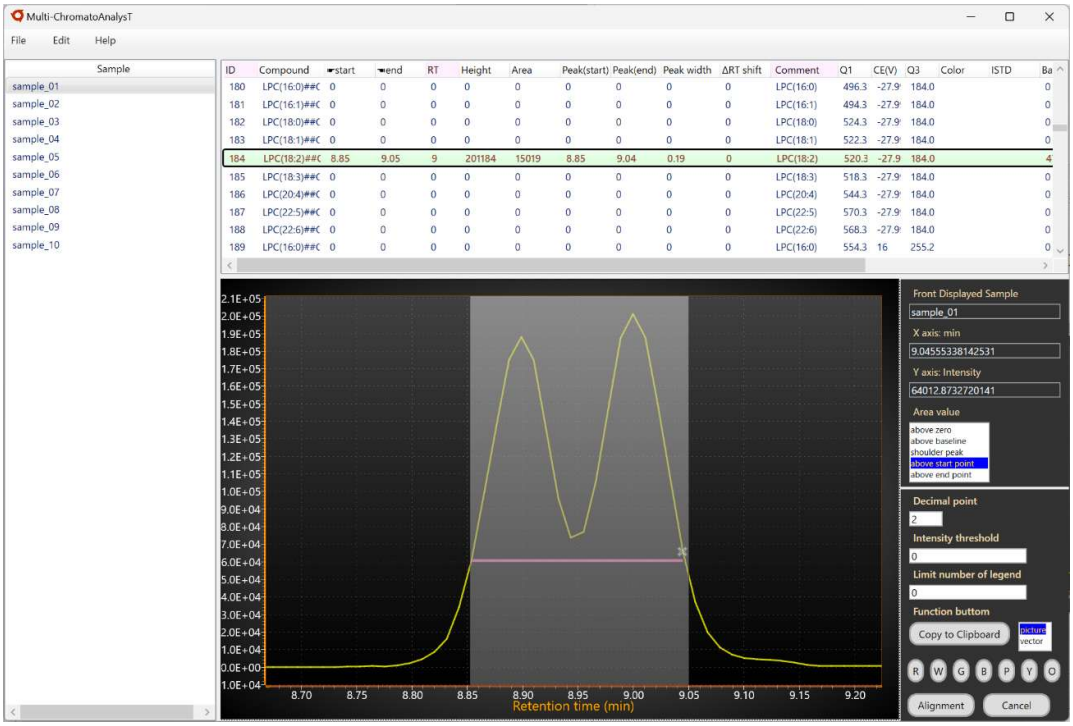
・Above baseline で範囲選択した場合



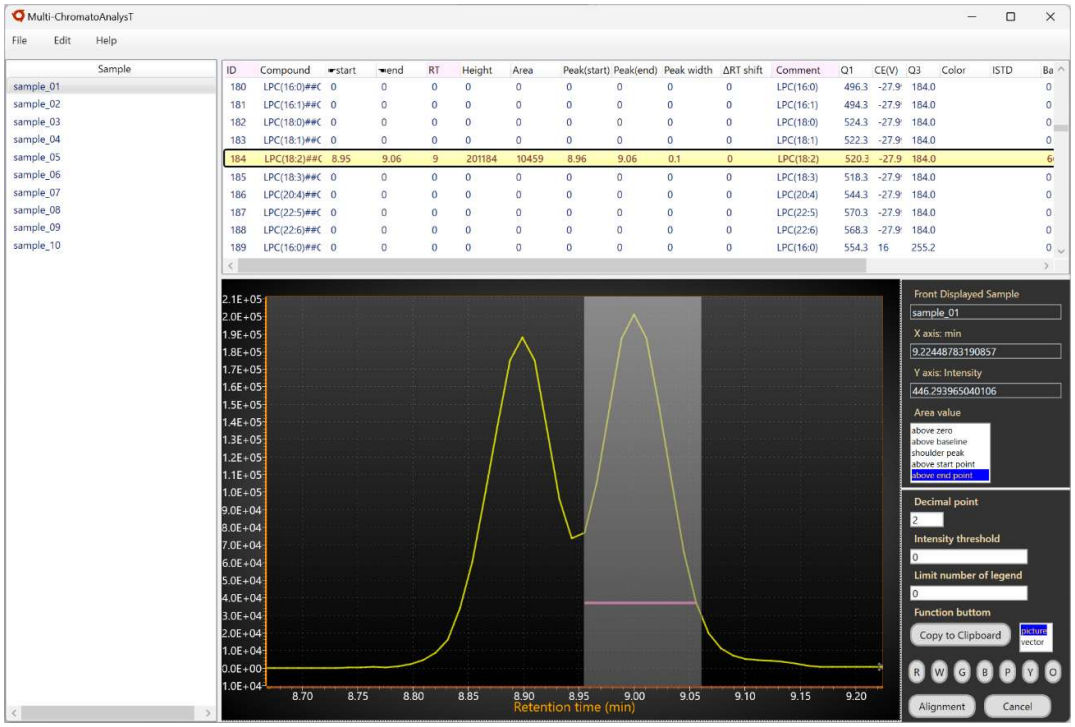
・Shoulder peak で範囲選択した場合



・Above start point で範囲選択した場合

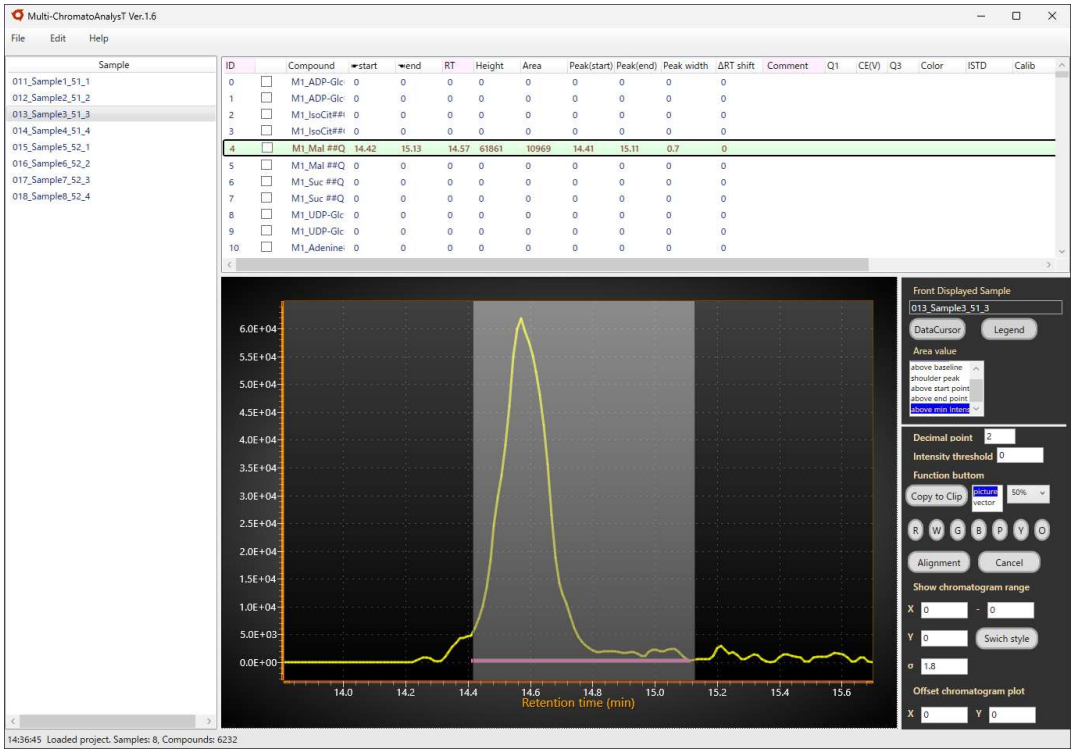


・Above end point で範囲選択した場合



・Above min Intensity で範囲選択した場合

（範囲内でもっとも Intensity が低いポイントをベースラインとする）



８．結果の保存方法と直接編集による自動解析方法

結果の保存方法は次節（8-1）の通りです．また Export した結果を Import すると，本ソフトウェアではピークの高さや面積値などは再計算されます．また comment や Q1 等が空白の場合は，Compound name を参照して，②の化合物ウィンドウ上へ自動的に##の前の name が comment に，Q1,Q3 の値なども自動で挿入されます．Comment は後から Edit spread sheet で自由に書き換えることがきますが，Q1,Q3,CE の値は Export ファイルを直接書き換えるのみでしか対応しておりません．さらに，この再計算される事を見越して，ファイルを手動で作成・訂正することで自動解析も可能ですが，ソフトウェアの操作に慣れるまでは行わないでください．（手動で Export データを書き換えますと，Import 不可能になる可能性があります．慣れない間はファイルのコピーを行った上で手動書き換えを行ってください）Export ファイルの手動書き換えは 8-2 を参照ください．

8-1. 結果の保存方法

解析を行った結果の保存は **File>Export file(.xlsx)**で行います．この時に注意しなければならないのは，①サンプルウィンドウの表示枠内で選択されているサンプルのみの結果を Export するということです．そのため，全サンプルの解析結果をセーブ（Export）したい場合は，全てのサンプルを選択して Export する必要があります．また Export した結果はエクセル形式（.xlsx）で保存されるため，解析内容をマイクロソフトのエクセルで自由に閲覧，改訂することもできます．保存した結果をロードしたい場合は **File＞Import file(.xlsx)**で前回の解析結果を呼び出すことが可能です．この際には Export した Start と End のピーク範囲指定を基に面積値などは再計算されます．つまり，**Area value の選択や Intensity threshold の値によっては，再計算の結果が変わります**ので，読み込み時にはご注意下さい．

8-2. セーブファイルと直接編集する解析方法

本ソフトウェアの特徴として，セーブファイル（Export file）はエクセル形式で解析の途中経過を保存することが特徴です．そのため手持ちのエクセル（Microsoft）にて編集することでも解析が可能です．

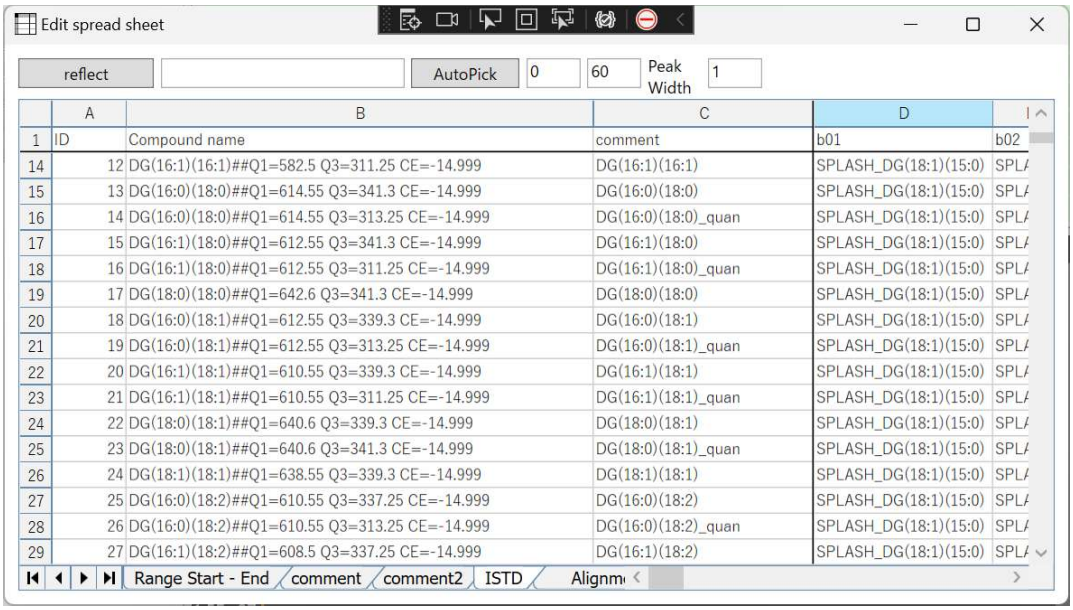
7．で Export したエクセルファイルを閲覧していただくと，下記のようになっています．つまりエクセル上で編集したファイルを Import することで解析する事も可能です．Import される際にピーク範囲の Start から End におけるピーク面積値の再計算が行われるため，本ソフトウェアではエクセルファイルの数値入力による再解析が可能です．これは全く同じメソッドで測定されたサンプル解析に対して威力を発揮します．仮に Peak の RT（溶出時間）等の条件が全く変動ないのであれば，数値のコピーで解析が完了します．

エクセル上で直接編集して解析を行う場合の注意点を記載します．タブに表示されている数字（0,1,2,…）は解析とは関係ありません（便宜上空白にはできないので，数字が代入されているだけです．好きに付け直して頂いても問題ありません）．

質量分析計の測定データ（いわゆるサンプル名）との照合は，シートの一番左上に記載されている名前と完全一致した場合に，該当ファイルの読み込みを行います．該当サンプル名が無い場合は，その解析メソッドシートは読み込みを行いません．その後に B 列，C 列に記載している Srart と End，さらには本バージョンより新しく加わった Area value や Intensity threshold の値を読み込んでピーク認識後に RT，Height，Area，Peak_Start，Peak_End 等を「**再計算**」します．つまり，Import 時にはこれらの値は読み込みません．Comment や LineColor は読み込みを行い，そのまま反映，再表示します．再解析結果をセーブする際に上書き保存されるときは注意して下さい（別名保存を推奨します）．シートに少しでも不備がありますと，読み込み時に Data invalid と表示され，その部分で Import が止まってしまいます．Export したデータを自身で編集して Import，そして再解析に利用される場合はご注意下さい．

9．定量結果の表示方法

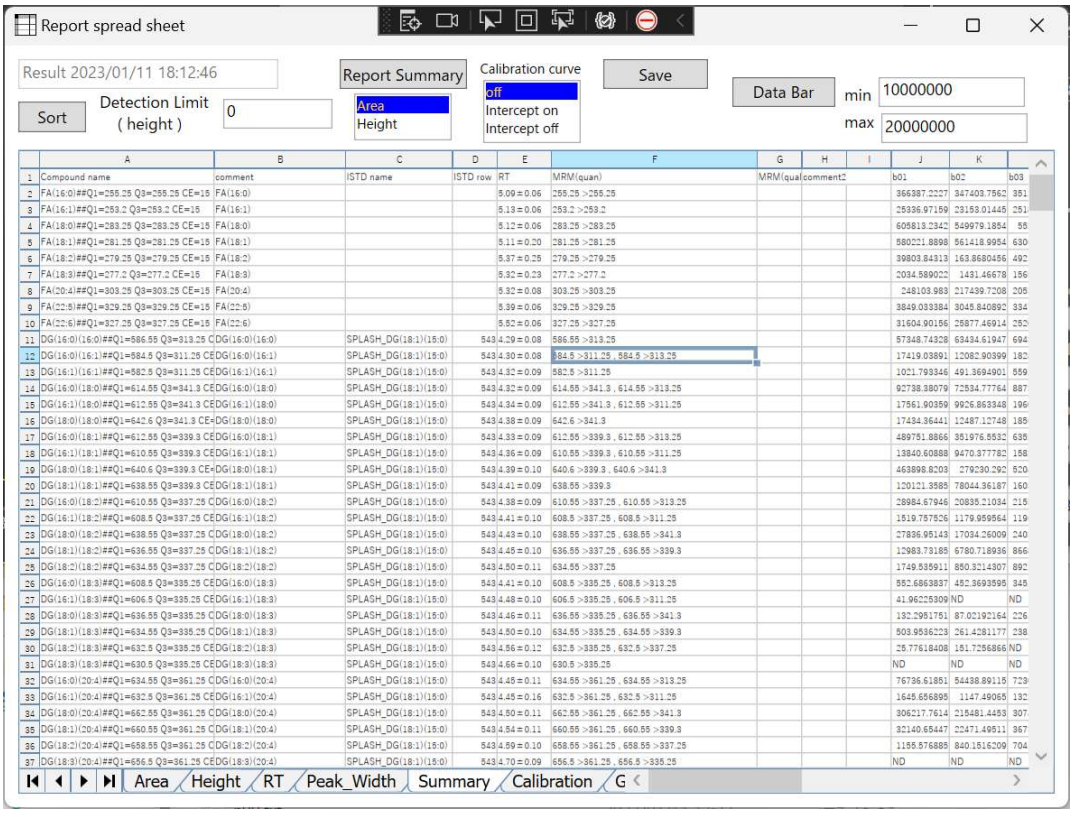
ここまでの解析はあくまでクロマトグラムの面積値の算出方法について説明をしてきました．通常，相対定量値は，測定対象物の面積値を既知濃度の内部標準物質（Internal standard，以下 ISTD）の面積値で除した値を使用します．本ソフトウェアではあらかじめ ISTD の情報を入力しておくことで自動計算して相対定量値を算出することが可能となっております（**Edit>Edit Spread sheet** の ISTD タブ）．



	A	B	C	D	
1	ID	Compound name	comment	b01	b02
14	12	DG(16:1)(16:1)##Q1=582.5 Q3=311.25 CE=-14.999	DG(16:1)(16:1)	SPLASH_DG(18:1)(15:0)	SPL
15	13	DG(16:0)(18:0)##Q1=614.55 Q3=341.3 CE=-14.999	DG(16:0)(18:0)	SPLASH_DG(18:1)(15:0)	SPL
16	14	DG(16:0)(18:0)##Q1=614.55 Q3=313.25 CE=-14.999	DG(16:0)(18:0)_quan	SPLASH_DG(18:1)(15:0)	SPL
17	15	DG(16:1)(18:0)##Q1=612.55 Q3=341.3 CE=-14.999	DG(16:1)(18:0)	SPLASH_DG(18:1)(15:0)	SPL
18	16	DG(16:1)(18:0)##Q1=612.55 Q3=311.25 CE=-14.999	DG(16:1)(18:0)_quan	SPLASH_DG(18:1)(15:0)	SPL
19	17	DG(18:0)(18:0)##Q1=642.6 Q3=341.3 CE=-14.999	DG(18:0)(18:0)	SPLASH_DG(18:1)(15:0)	SPL
20	18	DG(16:0)(18:1)##Q1=612.55 Q3=339.3 CE=-14.999	DG(16:0)(18:1)	SPLASH_DG(18:1)(15:0)	SPL
21	19	DG(16:0)(18:1)##Q1=612.55 Q3=313.25 CE=-14.999	DG(16:0)(18:1)_quan	SPLASH_DG(18:1)(15:0)	SPL
22	20	DG(16:1)(18:1)##Q1=610.55 Q3=339.3 CE=-14.999	DG(16:1)(18:1)	SPLASH_DG(18:1)(15:0)	SPL
23	21	DG(16:1)(18:1)##Q1=610.55 Q3=311.25 CE=-14.999	DG(16:1)(18:1)_quan	SPLASH_DG(18:1)(15:0)	SPL
24	22	DG(18:0)(18:1)##Q1=640.6 Q3=339.3 CE=-14.999	DG(18:0)(18:1)	SPLASH_DG(18:1)(15:0)	SPL
25	23	DG(18:0)(18:1)##Q1=640.6 Q3=341.3 CE=-14.999	DG(18:0)(18:1)_quan	SPLASH_DG(18:1)(15:0)	SPL
26	24	DG(18:1)(18:1)##Q1=638.55 Q3=339.3 CE=-14.999	DG(18:1)(18:1)	SPLASH_DG(18:1)(15:0)	SPL
27	25	DG(16:0)(18:2)##Q1=610.55 Q3=337.25 CE=-14.999	DG(16:0)(18:2)	SPLASH_DG(18:1)(15:0)	SPL
28	26	DG(16:0)(18:2)##Q1=610.55 Q3=313.25 CE=-14.999	DG(16:0)(18:2)_quan	SPLASH_DG(18:1)(15:0)	SPL
29	27	DG(16:1)(18:2)##Q1=608.5 Q3=337.25 CE=-14.999	DG(16:1)(18:2)	SPLASH_DG(18:1)(15:0)	SPL

また本ソフトウェアでは，MRM クロマトグラムは ID で管理され，定性用，定量用という概念が存在しません．しかし表示上定性用 MRM クロマトグラムで面積値等の表示が不必要な場合は，Summary 表示で消去することが可能です．具体的な方法は Comment 欄に化合物名を入力する際の語尾に_qual という文字列を含んでいるトランジションは，Summary 部分では削除されます．また化合物名に_quan という文字列を含むことで，該当する MRM トランジション（_quan と comment 欄に表記している一つ上の ID）を合算するという特殊な計算も自動で行えるよう設計しております．この特殊な合算値の算出方法は，どちらか一方の面積値が 0 の場合は，たとえ片方の面積値が 0 より上であったとしても合算値も 0（ND）となります．このように Summary タブには_quan, _qual と語尾についている MRM トランジションは削除され，純粋な化合物名のみが列挙されます．

上記で述べたように，MRM トランジションの異なるクロマトグラムの面積値合算等に加えて，ISTD による相対定量も即座に計算，表示されるよう設計されています．またこの際に計算される値は同じ画面の別シート上の Area や ISTD の部分を基に計算されます．メイン画面で解析を進めた場合は，メイン画面での進行分が反映されていませんのでご注意下さい．



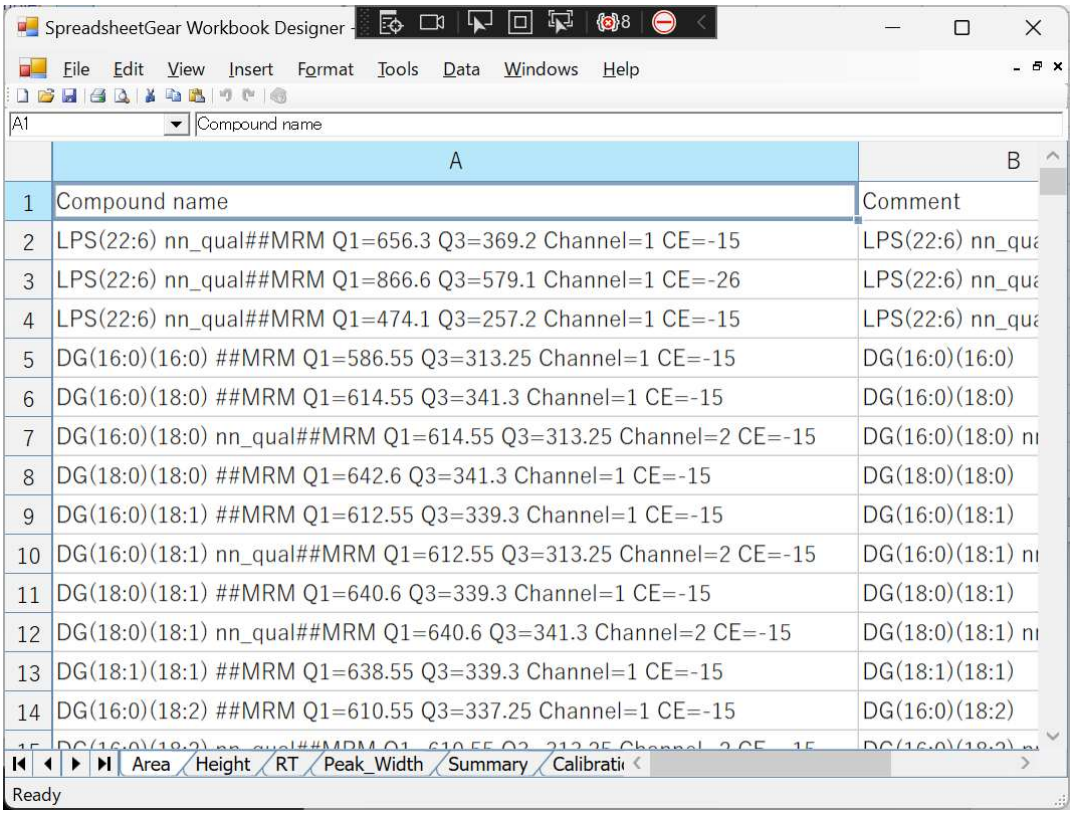
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	
1	Compound name	comment	ISTD name	ISTD row	RT	MRM(quan)	MRM(qual	comment2		b01	b02	b03
2	FA(16:0)##Q1=255.25 Q3=255.25 CE=15	FA(16:0)			5.09 ± 0.06	255.25 >255.25				366387.2227	347403.7562	351
3	FA(16:1)##Q1=253.2 Q3=253.2 CE=15	FA(16:1)			5.13 ± 0.06	253.2 >253.2				25336.97159	23153.01445	251
4	FA(18:0)##Q1=283.25 Q3=283.25 CE=15	FA(18:0)			5.12 ± 0.06	283.25 >283.25				605813.2342	549979.1854	55
5	FA(18:1)##Q1=281.25 Q3=281.25 CE=15	FA(18:1)			5.11 ± 0.20	281.25 >281.25				580221.8898	561418.9954	630
6	FA(18:2)##Q1=279.25 Q3=279.25 CE=15	FA(18:2)			5.37 ± 0.25	279.25 >279.25				39803.84313	163.8680456	492
7	FA(18:3)##Q1=277.2 Q3=277.2 CE=15	FA(18:3)			5.32 ± 0.23	277.2 >277.2				2034.589022	1431.46678	156
8	FA(20:4)##Q1=303.25 Q3=303.25 CE=15	FA(20:4)			5.32 ± 0.08	303.25 >303.25				248103.983	217439.7208	205
9	FA(22:5)##Q1=329.25 Q3=329.25 CE=15	FA(22:5)			5.39 ± 0.06	329.25 >329.25				3849.033384	3045.840892	334
10	FA(22:6)##Q1=327.25 Q3=327.25 CE=15	FA(22:6)			5.52 ± 0.06	327.25 >327.25				31604.90156	25877.46914	252
11	DG(16:0)(16:0)##Q1=586.55 Q3=313.25 C	DG(16:0)(16:0)	SPLASH_DG(18:1)(15:0)	543	4.29 ± 0.08	586.55 >313.25				57348.74328	63434.61947	694
12	DG(16:0)(16:1)##Q1=584.5 Q3=311.25 CE	DG(16:0)(16:1)	SPLASH_DG(18:1)(15:0)	543	4.30 ± 0.08	584.5 >311.25 , 584.5 >313.25				17419.03891	12082.90399	182
13	DG(16:1)(16:1)##Q1=582.5 Q3=311.25 CE	DG(16:1)(16:1)	SPLASH_DG(18:1)(15:0)	543	4.32 ± 0.09	582.5 >311.25				1021.793346	491.3694901	559
14	DG(16:0)(18:0)##Q1=614.55 Q3=341.3 CE	DG(16:0)(18:0)	SPLASH_DG(18:1)(15:0)	543	4.32 ± 0.09	614.55 >341.3 , 614.55 >313.25				92738.38079	72534.77764	887
15	DG(16:1)(18:0)##Q1=612.55 Q3=341.3 CE	DG(16:1)(18:0)	SPLASH_DG(18:1)(15:0)	543	4.34 ± 0.09	612.55 >341.3 , 612.55 >311.25				17561.90359	9926.863348	196
16	DG(18:0)(18:0)##Q1=642.6 Q3=341.3 CE=	DG(18:0)(18:0)	SPLASH_DG(18:1)(15:0)	543	4.38 ± 0.09	642.6 >341.3				17434.36441	12487.12748	185
17	DG(16:0)(18:1)##Q1=612.55 Q3=339.3 CE	DG(16:0)(18:1)	SPLASH_DG(18:1)(15:0)	543	4.33 ± 0.09	612.55 >339.3 , 612.55 >313.25				489751.8866	351976.5532	635
18	DG(16:1)(18:1)##Q1=610.55 Q3=339.3 CE	DG(16:1)(18:1)	SPLASH_DG(18:1)(15:0)	543	4.36 ± 0.09	610.55 >339.3 , 610.55 >311.25				13840.60888	9470.377782	158
19	DG(18:0)(18:1)##Q1=640.6 Q3=339.3 CE=	DG(18:0)(18:1)	SPLASH_DG(18:1)(15:0)	543	4.39 ± 0.10	640.6 >339.3 , 640.6 >341.3				463898.8203	279230.292	520
20	DG(18:1)(18:1)##Q1=638.55 Q3=339.3 CE	DG(18:1)(18:1)	SPLASH_DG(18:1)(15:0)	543	4.41 ± 0.09	638.55 >339.3				120121.3585	78044.36187	160
21	DG(16:0)(18:2)##Q1=610.55 Q3=337.25 C	DG(16:0)(18:2)	SPLASH_DG(18:1)(15:0)	543	4.38 ± 0.09	610.55 >337.25 , 610.55 >313.25				28984.67946	20835.21034	215
22	DG(16:1)(18:2)##Q1=608.5 Q3=337.25 CE	DG(16:1)(18:2)	SPLASH_DG(18:1)(15:0)	543	4.41 ± 0.10	608.5 >337.25 , 608.5 >311.25				1519.757526	1179.959564	119
23	DG(18:0)(18:2)##Q1=638.55 Q3=337.25 C	DG(18:0)(18:2)	SPLASH_DG(18:1)(15:0)	543	4.43 ± 0.10	638.55 >337.25 , 638.55 >341.3				27836.95143	17034.26009	240
24	DG(18:1)(18:2)##Q1=636.55 Q3=337.25 C	DG(18:1)(18:2)	SPLASH_DG(18:1)(15:0)	543	4.45 ± 0.10	636.55 >337.25 , 636.55 >339.3				12983.73185	5780.718936	866
25	DG(18:2)(18:2)##Q1=634.55 Q3=337.25 C	DG(18:2)(18:2)	SPLASH_DG(18:1)(15:0)	543	4.50 ± 0.11	634.55 >337.25				1749.535911	850.3214307	892
26	DG(16:0)(18:3)##Q1=608.5 Q3=335.25 CE	DG(16:0)(18:3)	SPLASH_DG(18:1)(15:0)	543	4.41 ± 0.10	608.5 >335.25 , 608.5 >313.25				552.6863837	452.3693595	345
27	DG(16:1)(18:3)##Q1=606.5 Q3=335.25 CE	DG(16:1)(18:3)	SPLASH_DG(18:1)(15:0)	543	4.48 ± 0.10	606.5 >335.25 , 606.5 >311.25				41.96225309	ND	ND
28	DG(18:0)(18:3)##Q1=636.55 Q3=335.25 C	DG(18:0)(18:3)	SPLASH_DG(18:1)(15:0)	543	4.46 ± 0.11	636.55 >335.25 , 636.55 >341.3				132.2951751	87.02192164	226
29	DG(18:1)(18:3)##Q1=634.55 Q3=335.25 C	DG(18:1)(18:3)	SPLASH_DG(18:1)(15:0)	543	4.50 ± 0.10	634.55 >335.25 , 634.55 >339.3				503.9536223	261.4281177	238
30	DG(18:2)(18:3)##Q1=632.5 Q3=335.25 CE	DG(18:2)(18:3)	SPLASH_DG(18:1)(15:0)	543	4.56 ± 0.12	632.5 >335.25 , 632.5 >337.25				25.77618408	151.7256866	ND
31	DG(18:3)(18:3)##Q1=630.5 Q3=335.25 CE	DG(18:3)(18:3)	SPLASH_DG(18:1)(15:0)	543	4.66 ± 0.10	630.5 >335.25				ND	ND	ND
32	DG(16:0)(20:4)##Q1=634.55 Q3=361.25 C	DG(16:0)(20:4)	SPLASH_DG(18:1)(15:0)	543	4.45 ± 0.11	634.55 >361.25 , 634.55 >313.25				76736.61851	54438.89115	723
33	DG(16:1)(20:4)##Q1=632.5 Q3=361.25 CE	DG(16:1)(20:4)	SPLASH_DG(18:1)(15:0)	543	4.45 ± 0.16	632.5 >361.25 , 632.5 >311.25				1645.656895	1147.49065	192
34	DG(18:0)(20:4)##Q1=662.55 Q3=361.25 C	DG(18:0)(20:4)	SPLASH_DG(18:1)(15:0)	543	4.50 ± 0.11	662.55 >361.25 , 662.55 >341.3				306217.7614	215481.4453	307
35	DG(18:1)(20:4)##Q1=660.55 Q3=361.25 C	DG(18:1)(20:4)	SPLASH_DG(18:1)(15:0)	543	4.54 ± 0.11	660.55 >361.25 , 660.55 >339.3				32140.65447	22471.49511	367
36	DG(18:2)(20:4)##Q1=658.55 Q3=361.25 C	DG(18:2)(20:4)	SPLASH_DG(18:1)(15:0)	543	4.59 ± 0.10	658.55 >361.25 , 658.55 >337.25				1155.576885	840.1516209	704
37	DG(18:3)(20:4)##Q1=656.5 Q3=361.25 CE	DG(18:3)(20:4)	SPLASH_DG(18:1)(15:0)	543	4.70 ± 0.09	656.5 >361.25 , 656.5 >335.25				ND	ND	ND

また_quan 以外にも特殊計算を自動で行うための関数は下記の通り存在します．状況により使い分けてください．

文字列	Summay ボタンでの処理
_qual	定性トランジションとして，定量値には使用しない．トランジションは qual の欄に記載される．
_quan	第 2 の定量イオンとして採用し，※前列（上の列）の値と合算する．どれか一つでも 0 のトランジションが存在すると，合算値は N.D となる．
_quanplus	第 2 の定量イオンとして採用し，前列（上の列）の値と合算する．
_quanmin	第 2 の定量イオンとして採用し，前列（上の列）と比較して，小さい値を採用する．
_quanmax	第 2 の定量イオンとして採用し，前列（上の列）と比較して，大きな値を採用する．
_quansubt	第 2 の定量イオンとして採用し，前列（上の列）から値を差し引く（減算する） そのため，場合によっては値がマイナスとなる場合が存在する．

※Report spread sheet 上で，該当文字列の存在する comment 欄を参照して機能する．

Summary 計算についてまとめます．実際の化合物名（comment 欄）の語尾に_quan，_qual 等付いているものは上述の通りの計算を行った後に削除され，ピークの面積値を算出した後に，ISTD による相対定量値を同時に表示します．また対象化合物の RT の平均値±SD 値を E 列に表示します．本結果の保存は Report Spread Sheet の上部に存在する save ボタンで，エクセル形式ですべてのタブがセーブされます．結果を閲覧するためにはマイクロソフトエクセルが必要となります．マイクロソフトエクセルがインストールされていない PC で定量結果をまとめたい場合は，Alt＋A ボタンによる全選択の後に他のソフトウェア上へコピー＆ペーストを行ってください．もしくはセルの適当な所で右クリック時に表示される Workbook designer を選択すると下記のような本ソフトウェアのライブラリーで使用している SpreadsheetGear の簡易表計算ソフトウェアが起動します．



本ソフトウェア（SpreadsheetGear）の Save アイコンもしくは File より，画面に表示されている情報を自由にエクセル形式で保存，読み込みを行うことが可能です．Summry ボタンを押した際の挙動は，基本的に本画面のタブに表示されている Area や RT を基に算出されます．また，本 SpreadsheetGear の既知の仕様として，コピー＆ペーストは古いエクセルの仕様と同等に 255 列までしか対応しておりません．それ以上のサンプル数にて解析される場合はご注意ください．（save による全シートのセーブは，すべてのサンプル，タブが保存されますのでご安心ください）

１０．ピーク範囲指定の自動判定（色）について

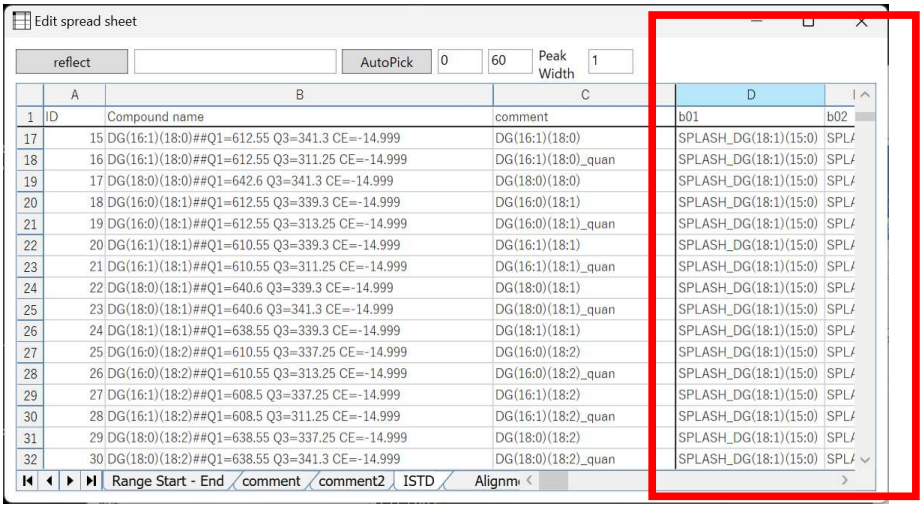
③クロマトウィンドウや Edit spread sheet でピーク範囲を選択し，②化合物ウィンドウで MRM トランジション表示部分にピーク面積値を表示すると同時に該当部分には下記のような配色（緑，黄，赤，灰色）が付きます．これは一定の基準でその範囲内に存在するピークが的確に指定されているかどうかを表しておりますが，確実に定量ができていることを保証するものではありません．

ピーク範囲が指定されていない初期状態は白色で，ピーク範囲指定後に範囲内に全くピークが存在しない（Y 軸が 0 のみ）の場合は灰色で表示されます．各色の判断基準は下記の通りで，セーブファイル（Export file .xlsx）での Judgment の項目に該当します．

色	範囲指定の状況
赤色■	明らかにピーク範囲の指定がおかしい場合. 具体的にはピーク範囲指定の Start ポイントか End ポイントに最大値が存在する場合がこれに該当します．ピークの途中で範囲指定を行っていると予想され，正常な範囲指定の場合は Start ポイントと End ポイントの間にピークの最大値が存在するはずです．
黄色■	ピークは存在するが，その強度が他のピークと比較して著しく低い場合に黄色表示になります．もちろん該当色でも真のピークである可能性はあります．基準値として，範囲選択したピーク強度に対して，範囲選択していない部分の平均値を比較しています．そのため選択していない範囲に強度の高いピークが存在する場合は警告色として黄色が表示されます．
緑色■	ピークが存在しており，一定の強度以上の場合は緑色表示になります．

１１．ISTD の設定について

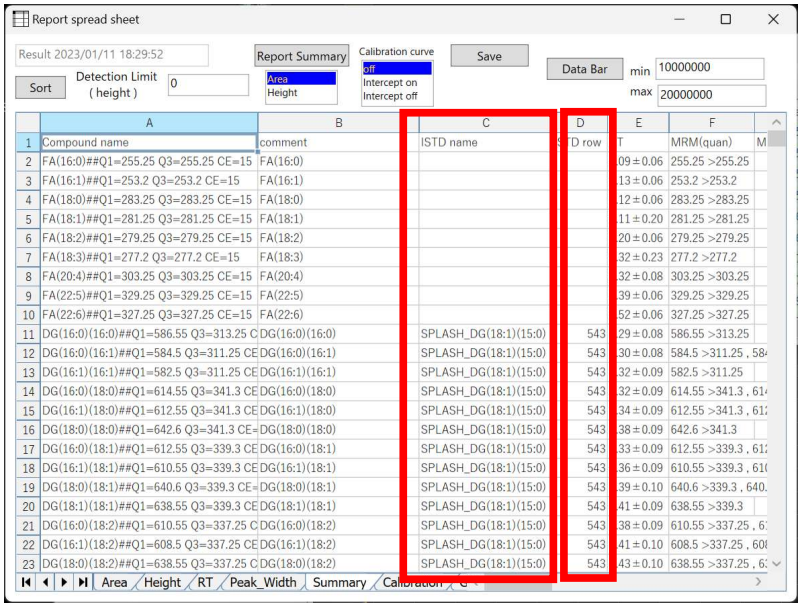
本ソフトウェアでは，各化合物個別に ISTD を設定することが可能です．ISTD の設定方法は，Edit＞Edit spread sheet から ISTD のタブを選択して入力します．各化合物の D 列以降に ISTD として使用する化合物の Compound name もしくは Comment の欄に記載している文字列を入力（コピー）して下さい．Report 時に該当化合物が ISTD として自動計算されます．



	A	B	C	D	
1	ID	Compound name	comment	b01	b02
17	15	DG(16:1)(18:0)##Q1=612.55 Q3=341.3 CE=-14.999	DG(16:1)(18:0)	SPLASH_DG(18:1)(15:0)	SPL
18	16	DG(16:1)(18:0)##Q1=612.55 Q3=311.25 CE=-14.999	DG(16:1)(18:0)_quan	SPLASH_DG(18:1)(15:0)	SPL
19	17	DG(18:0)(18:0)##Q1=642.6 Q3=341.3 CE=-14.999	DG(18:0)(18:0)	SPLASH_DG(18:1)(15:0)	SPL
20	18	DG(16:0)(18:1)##Q1=612.55 Q3=339.3 CE=-14.999	DG(16:0)(18:1)	SPLASH_DG(18:1)(15:0)	SPL
21	19	DG(16:0)(18:1)##Q1=612.55 Q3=313.25 CE=-14.999	DG(16:0)(18:1)_quan	SPLASH_DG(18:1)(15:0)	SPL
22	20	DG(16:1)(18:1)##Q1=610.55 Q3=339.3 CE=-14.999	DG(16:1)(18:1)	SPLASH_DG(18:1)(15:0)	SPL
23	21	DG(16:1)(18:1)##Q1=610.55 Q3=311.25 CE=-14.999	DG(16:1)(18:1)_quan	SPLASH_DG(18:1)(15:0)	SPL
24	22	DG(18:0)(18:1)##Q1=640.6 Q3=339.3 CE=-14.999	DG(18:0)(18:1)	SPLASH_DG(18:1)(15:0)	SPL
25	23	DG(18:0)(18:1)##Q1=640.6 Q3=341.3 CE=-14.999	DG(18:0)(18:1)_quan	SPLASH_DG(18:1)(15:0)	SPL
26	24	DG(18:1)(18:1)##Q1=638.55 Q3=339.3 CE=-14.999	DG(18:1)(18:1)	SPLASH_DG(18:1)(15:0)	SPL
27	25	DG(16:0)(18:2)##Q1=610.55 Q3=337.25 CE=-14.999	DG(16:0)(18:2)	SPLASH_DG(18:1)(15:0)	SPL
28	26	DG(16:0)(18:2)##Q1=610.55 Q3=313.25 CE=-14.999	DG(16:0)(18:2)_quan	SPLASH_DG(18:1)(15:0)	SPL
29	27	DG(16:1)(18:2)##Q1=608.5 Q3=337.25 CE=-14.999	DG(16:1)(18:2)	SPLASH_DG(18:1)(15:0)	SPL
30	28	DG(16:1)(18:2)##Q1=608.5 Q3=311.25 CE=-14.999	DG(16:1)(18:2)_quan	SPLASH_DG(18:1)(15:0)	SPL
31	29	DG(18:0)(18:2)##Q1=638.55 Q3=337.25 CE=-14.999	DG(18:0)(18:2)	SPLASH_DG(18:1)(15:0)	SPL
32	30	DG(18:0)(18:2)##Q1=638.55 Q3=341.3 CE=-14.999	DG(18:0)(18:2)_quan	SPLASH_DG(18:1)(15:0)	SPL

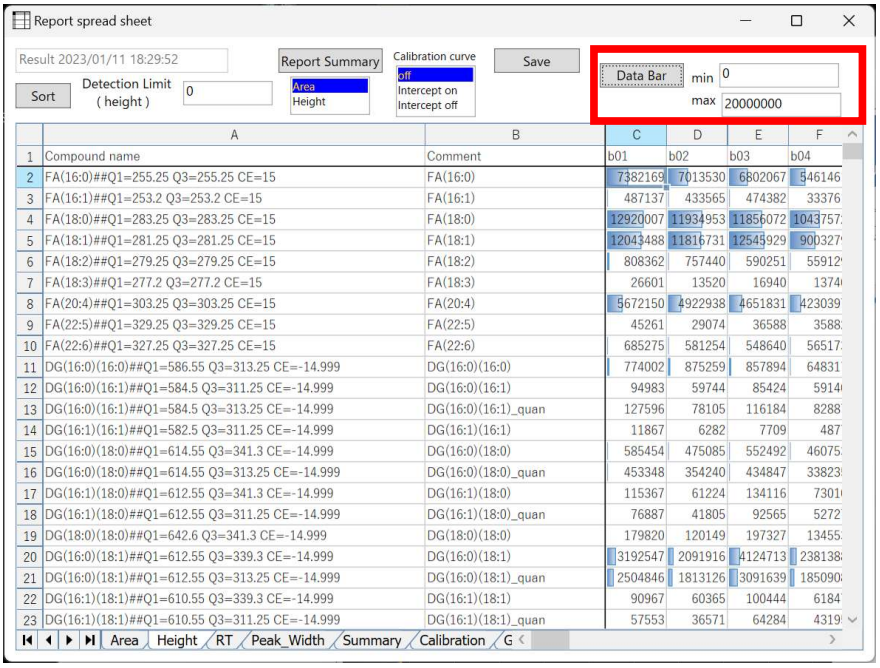
Edit＞Report spread sheet で Report Summary ボタン後の ISTD は以下の通りに表記されます．

C 列に各化合物に対する ISTD の化合物名（Edit で入力した化合物名），D 列に ISTD の化合物に関する情報が記載されている行数が表示されています．



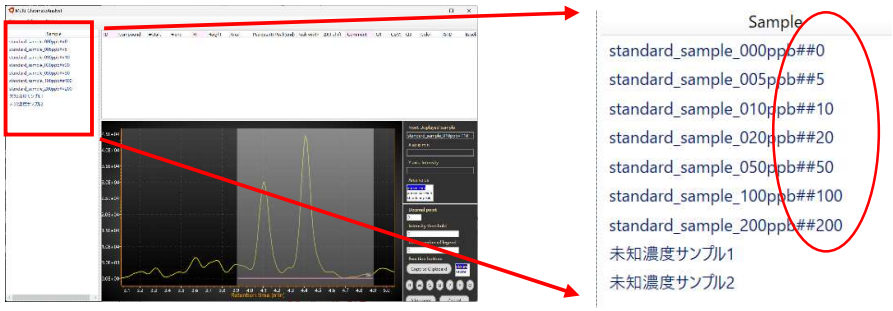
	A	B	C	D	E	F
1	Compound name	comment	ISTD name	TD row	T	MRM(quan)
2	FA(16:0)##Q1=255.25 Q3=255.25 CE=15	FA(16:0)			09±0.06	255.25 >255.25
3	FA(16:1)##Q1=253.2 Q3=253.2 CE=15	FA(16:1)			13±0.06	253.2 >253.2
4	FA(18:0)##Q1=283.25 Q3=283.25 CE=15	FA(18:0)			12±0.06	283.25 >283.25
5	FA(18:1)##Q1=281.25 Q3=281.25 CE=15	FA(18:1)			11±0.20	281.25 >281.25
6	FA(18:2)##Q1=279.25 Q3=279.25 CE=15	FA(18:2)			20±0.06	279.25 >279.25
7	FA(18:3)##Q1=277.2 Q3=277.2 CE=15	FA(18:3)			32±0.23	277.2 >277.2
8	FA(20:4)##Q1=303.25 Q3=303.25 CE=15	FA(20:4)			32±0.08	303.25 >303.25
9	FA(22:5)##Q1=329.25 Q3=329.25 CE=15	FA(22:5)			39±0.06	329.25 >329.25
10	FA(22:6)##Q1=327.25 Q3=327.25 CE=15	FA(22:6)			52±0.06	327.25 >327.25
11	DG(16:0)(16:0)##Q1=586.55 Q3=313.25 C	DG(16:0)(16:0)	SPLASH_DG(18:1)(15:0)	543	29±0.08	586.55 >313.25
12	DG(16:0)(16:1)##Q1=584.5 Q3=311.25 CE	DG(16:0)(16:1)	SPLASH_DG(18:1)(15:0)	543	30±0.08	584.5 >311.25 , 58
13	DG(16:1)(16:1)##Q1=582.5 Q3=311.25 CE	DG(16:1)(16:1)	SPLASH_DG(18:1)(15:0)	543	32±0.09	582.5 >311.25
14	DG(16:0)(18:0)##Q1=614.55 Q3=341.3 CE	DG(16:0)(18:0)	SPLASH_DG(18:1)(15:0)	543	32±0.09	614.55 >341.3 , 61
15	DG(16:1)(18:0)##Q1=612.55 Q3=341.3 CE	DG(16:1)(18:0)	SPLASH_DG(18:1)(15:0)	543	34±0.09	612.55 >341.3 , 61
16	DG(18:0)(18:0)##Q1=642.6 Q3=341.3 CE=	DG(18:0)(18:0)	SPLASH_DG(18:1)(15:0)	543	38±0.09	642.6 >341.3
17	DG(16:0)(18:1)##Q1=612.55 Q3=339.3 CE	DG(16:0)(18:1)	SPLASH_DG(18:1)(15:0)	543	33±0.09	612.55 >339.3 , 61
18	DG(16:1)(18:1)##Q1=610.55 Q3=339.3 CE	DG(16:1)(18:1)	SPLASH_DG(18:1)(15:0)	543	36±0.09	610.55 >339.3 , 61
19	DG(18:0)(18:1)##Q1=640.6 Q3=339.3 CE=	DG(18:0)(18:1)	SPLASH_DG(18:1)(15:0)	543	39±0.10	640.6 >339.3 , 640.
20	DG(18:1)(18:1)##Q1=638.55 Q3=339.3 CE	DG(18:1)(18:1)	SPLASH_DG(18:1)(15:0)	543	41±0.09	638.55 >339.3
21	DG(16:0)(18:2)##Q1=610.55 Q3=337.25 C	DG(16:0)(18:2)	SPLASH_DG(18:1)(15:0)	543	38±0.09	610.55 >337.25 , 6
22	DG(16:1)(18:2)##Q1=608.5 Q3=337.25 CE	DG(16:1)(18:2)	SPLASH_DG(18:1)(15:0)	543	41±0.10	608.5 >337.25 , 60
23	DG(18:0)(18:2)##Q1=638.55 Q3=337.25 C	DG(18:0)(18:2)	SPLASH_DG(18:1)(15:0)	543	43±0.10	638.55 >337.25 , 6

J 列より，サンプル数分の各化合物の Area 値（quan,qual の行を削除したもの）が表示されており，2 行空白行をあけて，再度サンプル数分の相対定量値が表示されます．相対定量値とは各化合物の面積値に対して，ISTD の面積値で割った値が表示されます．
また，Data bar ボタンを押しますと右側に表示している数字を最小値，最大値として簡易的なバーグラフ（スパークライン）が表示されます．

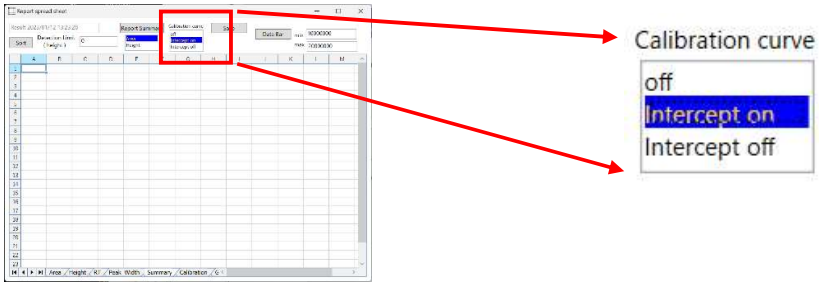


１２．　検量線の利用方法

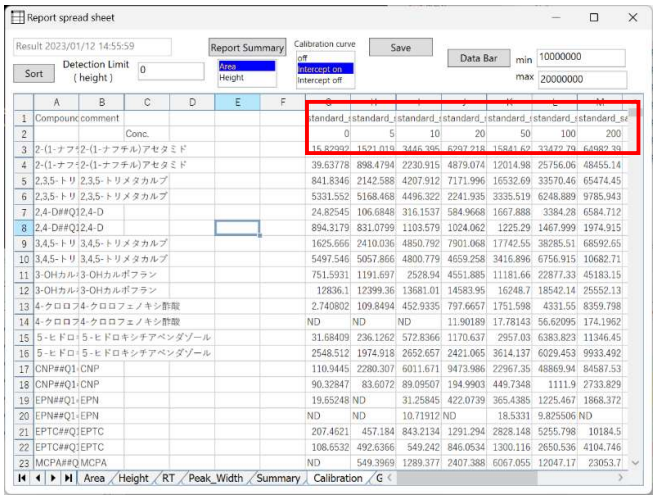
濃度既知のサンプルをサンプル名##濃度（数字）とサンプル名を予め設定しておくことで，検量線と濃度未知サンプルの濃度算出を自動化することが可能です．



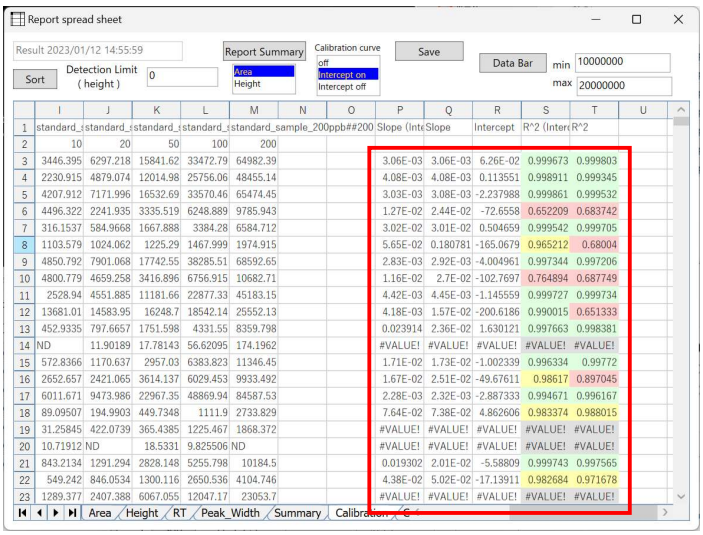
サンプル名の末尾に##数字を入力している状態で，ピーク範囲指定後（解析後）に Report spread sheet の Calibration curve を off から Intercept on（Y 切片が存在する検量線）Intercept off（原点を通過する検量線）のどちらかを選択して，Report summary ボタンを押すと未知濃度のサンプル定量を行います．計算量が多いため，サンプル数によっては時間がかかります．



なお，検量線はどちらを選択しても，Intercept on, off 両方の検量線は算出します．
検量線，定量結果は Calibration タブに表示されます．

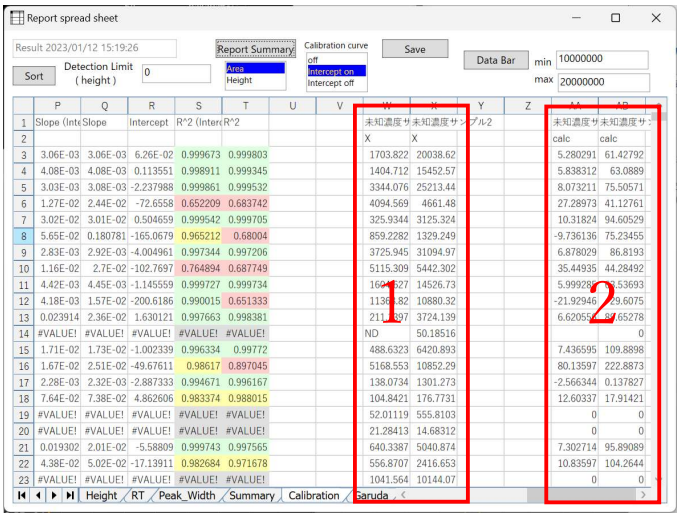


##+数字の部分のうち，数字が，conc.の列に反映されていることを確認ください．
次に検量線の slope や Intercept（切片）などの表示の後に，色付きで検量線の決定係数（R は相関係数，R^2 値が高いほど直線性が高い）を表示しています．
色の内訳は下記のとおりです．



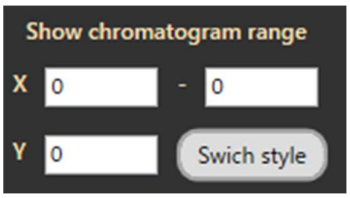
R^2	色
>0.99	緑色
>0.9	黄色
それ以下	赤色
値がなく，近似できない場合	グレー

検量線の行の右方向に未知濃度サンプルの面積値と，検量線による計算結果（calc）が表示されているのが分かります．ソフトウェアで取り扱っている数字には特に単位がありません．下図の赤枠 1 が面積値（Area のタブの面積値をコピーしたもの），赤枠 2 が検量線による定量結果となります．



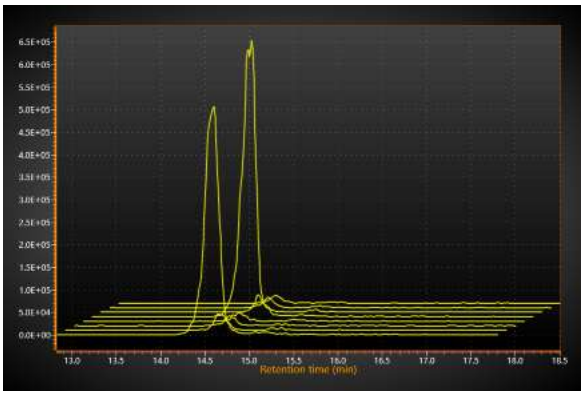
１３．　クロマトグラムの表示、コピー方法

13-1 クロマトグラムの表示



情報ウィンドウ下部にある「Show chromatogram range」以下の X および Y の項目は、③クロマトウィンドウに表示される X 軸範囲および Y 軸高さを、自動調整ではなく指定した値で固定するための機能です。この機能は、条件を揃えてクロマトグラムをコピーしたい場合などにご活用いただけます。

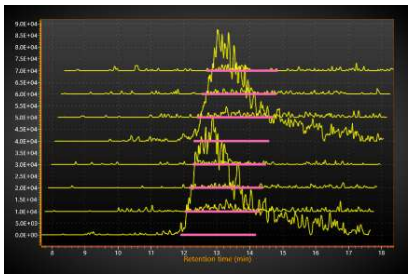
「Offset chromatogram plot」以下の X および Y の項目は、複数のクロマトグラムを同時表示する際に、表示位置をクロマトグラムごとに段階的にずらすための機能です。1 本目のクロマトグラムはオフセットなし、2 本目以降は入力値に表示順を掛けた値だけ X 軸方向または Y 軸方向にオフセットされます。たとえば 5 本のクロマトグラムを表示している場合、最後のクロマトグラムには入力値の 4 倍のオフセットが適用されます。なお、このオフセットは表示上の位置調整のみであり、元データ、ピーク範囲、積分値などは変更されません。



さらに、「Switch Style」ボタンを押すことで、③クロマトウィンドウの表示スタイルを以下の 3 種類で切り替えることができます。

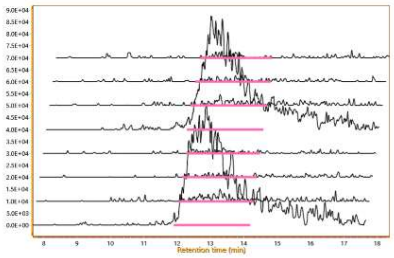
1. 通常表示

　標準の暗色背景でクロマトグラムを表示します。



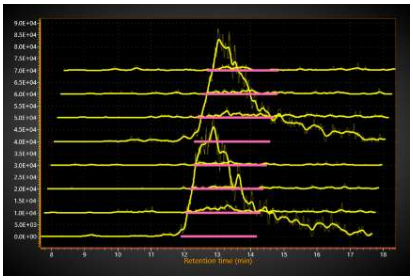
2. 白色背景表示

背景を白色に切り替えて表示します。視認性を確保するため、表示されるクロマトグラムの色は自動で調整されます。特に、黄色は黒色、白色は灰色として表示されます。印刷や報告書作成時には、色の変化にご注意ください。



3. スムージング表示

黒色背景で、通常のクロマトグラムに加えて平滑化されたクロマトグラムを重ねて表示します。平滑化の強さは「σ」の値で調整できます。値を大きくするとより滑らかな表示になりますが、ピーク形状の見え方も変化します。なお、スムージングは表示上の処理であり、元データや積分結果は変更されません。



13-2 クロマトグラムのコピー方法

④ 情報ウィンドウ内の「Copy to Clip」ボタンを押すと、現在③クロマトウィンドウに表示されているクロマトグラムをクリップボードにコピーすることができます。コピー方法には以下の 2 種類があり、それぞれに縮小率の設定が存在します。

Picture：通常の画像形式でコピー
Vector：ベクターイメージ形式でコピー（拡大しても劣化しない）
縮小率は 100%（等倍）から 10%縮小まで設定可能です。

また、接頭辞に「Ex」が付いている縮小率を選択した場合は、コピー後に自動的に Excel シートへペーストが行われます。このとき、以下の情報も Excel に貼り付けられます。

・Comment 欄の内容
・RT（保持時間）
・Intensity（強度）
・Baseline の強度
なお、Copy to Clip ボタンを短時間に連打すると、ソフトウェアがクラッシュする場合があります。そのため、Excel への自動コピー前には、一度データの保存を行うことを推奨いたします。

１４．　AI Pick 機能

14-1 使用方法

Edit Spread Sheet、シート右上部の AI Pick ボタンを押すと、AI 学習済みモデルを用いて、表示中のサンプルに対するピーク範囲を自動推定することができます。

本機能では、あらかじめ作成した ONNX 形式の AI モデルファイルを使用します。AI Pick ボタンを押すと、ONNX ファイルが保存されているフォルダを選択する画面が表示されます。選択したフォルダ内の unet1d_*.onnx ファイルが読み込まれ、ファイル名に含まれる化合物名と、プロジェクト内の化合物名が対応付けられます。
AI モデルのファイル名は、対象とする化合物名に対応しています。また、ファイル名中の“_”はワイルドカードとして扱われるため、記号やスペースなどを含む化合物名にも対応しやすくなっています。

AI Pick を実行すると、該当する化合物について、各サンプルのピーク開始時間および終了時間が、自動で反映されます。ピーク面積、RT、ピーク幅、判定結果なども再計算されます。反映後は、Edit Spread Sheet 内の Range Start - End タブにも推定された範囲が表示されます。

ONNX モデルにメタ情報が含まれている場合は、以下の項目も自動的に反映されます。

・Comment & Comment2
・Q1,Q2,Q3
・Chromato_color
・ISTD
・Area_value
・Intensity_threshold
・Calib
・IsChecked

これらの情報は、AI モデル作成時に使用したプロジェクトデータの最初のサンプルから取得されます。ONNX モデルにメタ情報が含まれていない場合、または該当項目が空の場合は、既存の値が維持されるか、空欄として扱われます。

AI Pick の実行中は、情報ウィンドウ上部に処理状況が表示されます。表示には、読み込んだモデル数、処理中のサンプル数、更新されたピーク数などが含まれます。多数のサンプルや多数のモデルを処理する場合は、完了まで時間がかかることがあります。

AI Pick を使用する前には、以下を確認してください。

・ONNX 形式の AI モデルが作成済みであること
・ONNX ファイル名が対象化合物名に対応していること
・解析対象のサンプルデータが読み込まれていること
・必要に応じて、AI モデルに Comment、ISTD、Area_value などのメタ情報が含まれていること

なお、AI Pick によるピーク範囲は、学習データに基づく推定結果です。クロマトグラムの形状、ノイズ、保持時間のずれ、対象化合物のピーク強度などによって、推定範囲が適切でない場合があります。重要な解析や報告書作成の前には、推定されたピーク範囲を必ず確認し、必要に応じて手動で修正してください。

14-2 ONNX 形式 AI 推定モデルの作成について

AI Pick 機能で使用する ONNX 形式の AI 推定モデルは、本ソフトウェア上でピーク範囲を推定するための学習済みモデルです。このモデルを作成するには、事前に解析済みのクロマトグラムデータを教師データとして用意し、AI 学習を行う必要があります。

本ソフトウェアをご購入の方に限り、解析済みデータをもとにした AI 推定モデルの作成を弊社でお引き受けいたします。

教師データとしては、すでにピーク範囲が適切に設定された解析済みデータを使用します。教師データの品質は AI 推定モデルの性能に大きく影響します。ピーク範囲の設定が不正確なデータを使用した場合、推定結果の精度が低下する可能性があります。そのため、モデル作成前には、できるだけ正確にピークピッキングされた解析済みデータを準備することを推奨します。

作成した AI 推定モデルは、学習に使用したデータと近い測定条件・装置条件・解析条件で使用することで、より安定した推定結果が期待できます。一方で、測定条件、カラム、メソッド、装置、サンプルマトリックスなどが大きく異なる場合には、推定精度が低下することがあります。そのような場合は、新しい条件に対応した教師データを追加して、モデルを再作成または再学習することを推奨します。

１５．AI Train 機能

15-1 ML フォルダのセットアップ方法
AI Train 機能を使用する前に、ML フォルダ内の機械学習用 Python 環境をセットアップする必要があります。初回使用時、または別 PC で使用する場合は、以下を実行してください。

1. ¥ML¥Setup_unet1d_1_3_env.bat をダブルクリックして実行します。
2. セットアッププログラムが Python 3.11.9 を準備し、機械学習に必要なライブラリを自動インストールします。
3. PC の GPU 構成に応じて、NVIDIA GPU では CUDA 版 PyTorch、AMD/Intel GPU では DirectML、対応 GPU がない場合は CPU 版が選択されます。
4. セットアップが完了すると、Setup finished. と表示されます。

作成される Python 環境は、通常 C:¥Users¥<ユーザー名>¥AppData¥Local¥MCAT_UNET¥py311 に保存されます。そのため、ML フォルダだけを別 PC へコピーしても Python 環境は移動されません。別 PC で使用する場合は、その PC 上で再度 Setup_unet1d_1_3_env.bat を実行してください。

セットアップに失敗した場合は、ML フォルダ内の以下のログを確認します。

・`setup_unet1d13_env.log`
・`python_install_unet1d13.log`

なお、Learn_unet1d_1_3_AutoGPU.bat は単独で学習プログラムを起動するための補助バッチファイルです。ソフトウェアの AI Train ボタンを使用する場合は、通常このファイルを直接実行する必要はありません。

15-2 AI Train の使用方法
Edit Spread Sheet 右上部の AI Train ボタンを押すと、現在選択しているピーク範囲付きクロマトグラムを教師データとして、AI 推定モデルを作成できます。

AI Train では、すでに手動でピーク範囲が指定されているクロマトグラムのみが学習対象になります。ピーク範囲が設定されていないデータは学習に使用されません。学習対象は、現在選択中のクロマトグラム、またはチェック済みの化合物データです。

AI Train を実行すると、選択された教師データが一時的に JSON 形式で出力され、ML フォ

ルダ内の mcat_train_selected_unet1d_headless.py によって学習が行われます。学習完了後、化合物ごとに以下の形式の ONNX ファイルが作成されます。

「unet1d_化合物名.onnx」

保存先は、Help > Config の ONNX folder で指定したフォルダです。同じ化合物名の ONNX ファイルが既に存在する場合は、新しい学習結果で更新されます。

15-3 AI Train の設定項目

AI Train の学習条件は、Help > Config で設定できます。主な項目は以下です。

・Epochs: 学習の繰り返し回数。既定値は 600。
・Batch size: 一度に学習するデータ数。既定値は 8。
・Target length: クロマトグラムを AI へ入力する際の長さ。既定値は 2048。
・Learning rate: 学習率。値が大きすぎると不安定になり、小さすぎると学習が進みにくくなります。
・Use StepLR: 学習途中で Learning rate を段階的に下げる設定です。
・Step size: 何 epoch ごとに Learning rate を下げるかを指定します。既定値は 200。
・Gamma: StepLR で Learning rate を何倍にするかを指定します。既定値は 0.3。
・ONNX folder: 学習済み ONNX ファイルの保存先です。

15-4 学習結果と AI Pick との関係

AI Train で作成された ONNX ファイルは、そのまま AI Pick で使用できます。AI Pick では、ONNX ファイル名に含まれる化合物名と、プロジェクト内の化合物名を対応付けてピーク範囲を推定します。

AI Train で作成される ONNX ファイルには、学習時の化合物名、学習ピーク数、Epoch 数、Batch size、使用デバイス、Comment、Q1/Q2/Q3、Area_value、Intensity_threshold などのメタ情報が保存されます。これにより、AI Pick 実行時にピーク範囲だけでなく、関連する解析情報も反映できます。

複数ピーク範囲を指定したデータで学習した場合、ONNX ファイルには学習時のピーク数情報も保存されます。ただし、AI Pick で実際に反映されるピーク数は、Config で設定された「1 クロマトグラムあたりの最大ピーク選択数」によって制限されます。

15-5 注意点

AI Train の精度は、教師データの品質に強く依存します。誤ったピーク範囲、ノイズを含む範囲、保持時間が大きくずれたデータを教師データにすると、AI Pick の推定精度が低下する可能性があります。

学習には、できるだけ同じ測定条件、装置条件、カラム、メソッド、サンプルマトリックスで取得されたデータを使用してください。測定条件が大きく変わる場合は、その条件に対応したピーク範囲付きデータを追加して、再学習することを推奨します。

以上です。

株式会社ビーフォース（BeForce Inc.）
〒812-0011
福岡県福岡市博多区博多駅前 1 丁目 23 番 2 号
ParkFront 博多駅前 1 丁目 5F-B
TEL : 092-982-2566 FAX : 092-982-2677
URL : https://be-force.co.jp