
Analyst MD Software

Handbuch über informationsabhängige Aufnahmen



Dieses Dokument wird Käufern eines SCIEX-Geräts für dessen Gebrauch zur Verfügung gestellt. Dieses Dokument ist urheberrechtlich geschützt und jegliche Vervielfältigung dieses Dokuments, im Ganzen oder in Teilen, ist strengstens untersagt, sofern keine schriftliche Genehmigung von SCIEX vorliegt.

IVD

Die in diesem Dokument beschriebene Software unterliegt einer Lizenzvereinbarung. Das Kopieren, Ändern oder Verbreiten der Software auf einem beliebigen Medium ist rechtswidrig, sofern dies nicht ausdrücklich durch die Lizenzvereinbarung genehmigt wird. Darüber hinaus kann es nach der Lizenzvereinbarung untersagt sein, die Software zu disassemblieren, zurückzuentwickeln oder zurückzuübersetzen. Es gelten die aufgeführten Garantien.

Teile dieses Dokuments können sich auf andere Hersteller und/oder deren Produkte beziehen, die wiederum Teile enthalten können, deren Namen als Marken eingetragen sind und/oder die Marken ihrer jeweiligen Inhaber darstellen. Jede Nennung solcher Marken dient ausschließlich der Bezeichnung von Produkten eines Herstellers, die von SCIEX für den Einbau in die eigenen Geräte bereitgestellt werden, und bedeutet nicht, dass eigene oder fremde Nutzungsrechte und/oder -lizenzen zur Verwendung derartiger Hersteller- und/oder Produktnamen als Marken vorliegen.

CE

Die Garantien von SCIEX beschränken sich auf die zum Verkaufszeitpunkt oder bei Erteilung der Lizenz für die eigenen Produkte ausdrücklich anerkannten Garantien und sind die von SCIEX alleinig und ausschließlich anerkannten Zusicherungen, Garantien und Verpflichtungen. SCIEX gibt keinerlei andere ausdrückliche oder implizite Garantien wie beispielsweise Garantien zur Marktgängigkeit oder Eignung für einen bestimmten Zweck, unabhängig davon, ob diese auf gesetzlichen oder sonstigen Rechtsvorschriften beruhen oder aus Geschäftsbeziehungen oder Handelsbrauch entstehen, und lehnt alle derartigen Garantien ausdrücklich ab; zudem übernimmt SCIEX keine Verantwortung und Haftungsverhältnisse, einschließlich solche in Bezug auf indirekte oder nachfolgend entstehenden Schäden, die sich aus der Nutzung durch den Käufer oder daraus resultierende widrige Umstände ergeben.

UK
CA

Zur Verwendung in der *In-vitro*-Diagnostik. Das Produkt/die Produkte ist/sind nicht in allen Ländern verfügbar. Weitere Informationen erhalten Sie von Ihrem lokalen Vertriebspartner oder unter sciex.com/diagnostics.

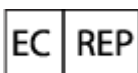
Rx only.

Ein oder mehrere Produkte sind möglicherweise nicht in allen Ländern erhältlich. Weitere Informationen erhalten Sie von Ihrem Vertriebspartner vor Ort oder unter sciex.com.

Die hier erwähnten Marken und/oder eingetragenen Marken, einschließlich deren Logos, sind Eigentum der AB Sciex Pte. Ltd. oder ihrer jeweiligen Inhaber in den Vereinigten Staaten und/oder anderen Ländern (siehe sciex.com/trademarks).

AB Sciex™ wird unter Lizenz verwendet.

© 2022 DH Tech. Dev. Pte. Ltd.



Leica Microsystems CMS GmbH
Ernst-Leitz-Strasse 17-37
35578 Wetzlar
Germany



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

Inhalt

Kapitel 1: Handbuch über informationsabhängige Aufnahmen	5
Über IDA-Methoden	5
Zugehörige Dokumente	6
Voraussetzungen	6
 Kapitel 2: Erstellen von IDA-Methoden	 7
Erstellen einer IDA-Methode mit dem IDA-Methoden-Assistent und einem Triple- Quadrupol-System	7
Erstellen einer IDA-Methode mit dem IDA-Methoden-Assistent und einem LIT System	9
Erstellen einer IDA-Methode mit dem Acquisition Method Editor	11
Erstellen einer IDA-Methode mit einem <i>Scheduled</i> MRM Algorithmus-Scan	13
Erstellen einer IDA-Methode mit zwei <i>Scheduled</i> MRM Algorithmus-Scans	14
Über Polaritätswechsel	15
Über Platzhalter	16
Auswirkungen des <i>Scheduled</i> MRM Pro Algorithmus in IDA	17
Erstellen einer IDA <i>Scheduled</i> MRM Pro Algorithmus-Erfassungsmethode	17
Erstellen einer IDA-Methode mit Scheduled Ionization	18
 Kapitel 3: Anzeigen von IDA-Daten	 19
Einstellen von IDA-Explorer-Optionen	19
Anzeigen von IDA-Daten	20
Anzeigen von IDA-Daten, wenn IDA Explorer nicht aktiv ist	21
Über den Dynamic Background Subtraction-Algorithmus	23
Über Dynamic Fill Time (Dynamische Füllzeit)	24
Symbole	24
 Kontaktangaben	 25
Kundenschulung	25
Online-Lernzentrum	25
SCIEX Support	25
Cybersicherheit	25
Dokumentation	25

Handbuch über informationsabhängige Aufnahmen 1

Über IDA-Methoden

Eine IDA-Methode verarbeitet Experimente automatisch aufgrund der Ergebnisse, die in früheren Experimenten aus dem gleichen Zeitraum gewonnen wurden. Optimieren Sie mit IDA-Kriterien die Datenerfassungseinstellungen während der Datenerfassung und verkürzen Sie dadurch die Probenerfassungsdauer bei einer einzigen Injektion. Durch IDA werden weniger Proben gebraucht und wertvolle Arbeitszeit gespart.

Sie können eine IDA-Methode mit bis zu zwei Vorläuferscans und acht abhängigen Scans in einem einzigen Zeitabschnitt erstellen. Ein Vorläuferscan löst bei IDA weitere Experimente aus. Jeder der folgenden Scans kann als Vorläuferscan verwendet werden:

- Q3 MS
- Erweiterte MS (EMS)
- MRM
- Neutralverlust (NL)
- Vorläufer-Ion (Prec)
- Enhanced Product Ion (EPI) (zweiter Vorläuferscan)
- *Scheduled* MRM-Algorithmus

Die folgenden Scans sind abhängige Scans:

- EPI
- MS/MS/MS (MS3) (abhängiger Scan auf zweiter Ebene)

Bei einem IDA-Versuch variieren die Aktionen im Massenspektrometer von Scan zu Scan aufgrund der in einem vorhergehenden Scan erfassten Daten. Die Software analysiert die Daten bei der Erfassung und bestimmt dann die Massen, mit denen abhängige Scans durchzuführen sind. Legen Sie die Kriterien für die Auslösung eines IDA-Experiments und die zu verwendenden Methoden-Parameter fest.

IDA verändert Experimente und verbessert die Ergebnisse aufgrund der folgenden benutzerdefinierten Kriterien:

- Ionen-Intensität und Ladungszustand
- Liste mit Einschluss- und Ausschlusskriterien
- Isotopenmuster
- Dynamischer Ausschluss

Wenn die Polarität bei einem Zyklus nicht gewechselt wird, muss die Zahl der abhängigen Experimente mit der Anzahl der intensivsten Ionen auf der Registerkarte „IDA Criteria“ übereinstimmen.

Zugehörige Dokumente

- Systemhandbuch für das Massenspektrometer
- *Handbuch für fortgeschrittene Benutzer*
- *Scheduled MRM Algorithmus-Tutorial*
- Analyst MD Software-Hilfe

Voraussetzungen

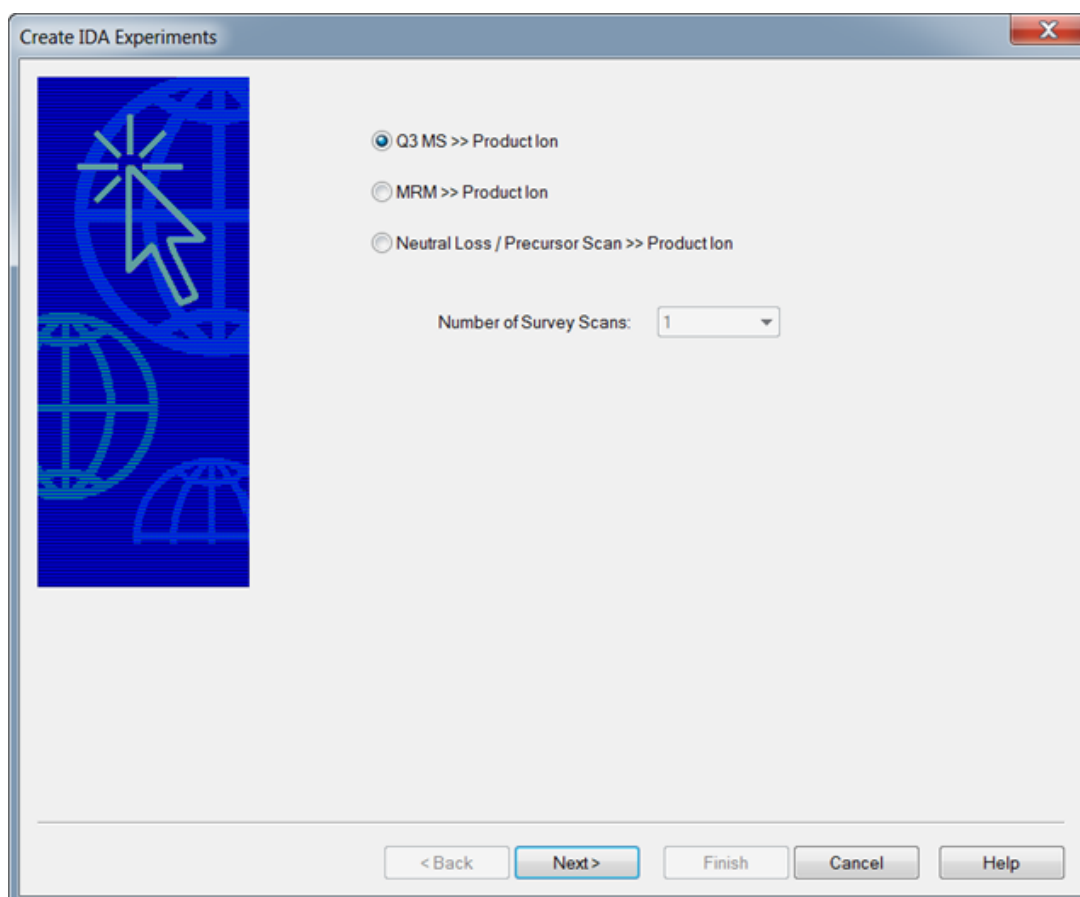
Voraussetzungen
Benutzer sollten in der Lage sein: <ul style="list-style-type: none">• eine Erfassungsmethode zu erstellen• eine Charge zu übertragen

Verwenden Sie den IDA Method Wizard zum Erstellen von LIT- (lineare Ionenfallen - Linear Ion Trap) und Triple-Quadrupol-IDA-Erfassungsmethoden. Eine beliebige Kombination von zwei Prüfanalysen kann verwendet werden. Wenn EPI als Vorläuferscan ausgewählt ist, dann ist die Registerkarte „IDA–Second Level Criteria“ verfügbar. Wenn diese Übersichtsversuche verwendet werden, dann können keine zusätzlichen IDA-Kriterien festgelegt werden.

Erstellen einer IDA-Methode mit dem IDA-Methoden-Assistent und einem Triple-Quadrupol-System

1. Doppelklicken Sie in der Navigationsleiste unter **Acquire** auf **IDA Method Wizard**.

Abbildung 2-1: Erstellen einer IDA Experiments Page



2. Wählen Sie den Scantyp **Neutral Loss / Precursor Scan >> Product Ion** aus.

3. In der Liste **Number of Survey Scans** wählen Sie die Anzahl der durchzuführenden Scans und klicken dann auf **Next**.
Die Survey Scan-Seite wird angezeigt. Das Erscheinungsbild dieser Seite hängt vom gewählten Scan ab.
4. Stellen Sie die Parameter ein und klicken Sie dann auf **Next**.
Die Seite Dependent Scan – Product Ion Scan wird angezeigt.
5. Wählen Sie die Anzahl der zu überwachenden Peaks, stellen Sie die Scan-Parameter ein und klicken Sie dann auf **Next**.
Die Seite „Dependent Scan – IDA Criteria“ wird geöffnet.

Hinweis: Stellen Sie sicher, dass der IDA-Bereich gleich dem Vorläuferscan ist oder in dessen Bereich liegt.

6. Zur Bestimmung des Ionen-Massenbereichs geben Sie die unteren und oberen Grenzen des Ionen-Massenbereichs ein. Für Massen in diesem Bereich wird ein abhängiger Scan durchgeführt.
7. Geben Sie im Feld **Which exceed** die minimale Anzahl der Impulse pro Sekunde ein, die erforderlich sind, um einen abhängigen Scan auszulösen.
8. Führen Sie in der Gruppe **Exclude Former Target Ions** einen der folgenden Schritte aus:
 - Um alle früheren, im IDA-Experiment auftretenden Ziel-Ionen zu ignorieren, wählen Sie **Always**.
 - Um alle früheren Ziel-Ionen nach einer festgelegten Häufigkeit zu ignorieren, wählen Sie **Always**, anschließend **After** und geben Sie dann die Häufigkeit (Anzahl) ein.
 - Um frühere Ziel-Ionen für eine bestimmte Zeit zu ignorieren, wählen Sie **For** und geben dann die Anzahl der Sekunden ein, für die die Ionen ignoriert werden sollen.
 - Um frühere Ziel-Ionen für eine bestimmte Zeit und nach einer bestimmten Häufigkeit zu ignorieren, wählen Sie **For** und geben Sie dann die Anzahl der Sekunden ein, für die die Ionen ignoriert werden sollen. Wählen Sie **After** und geben Sie dann die Häufigkeit (Anzahl) ein.

Tipp! Um alle früheren Ziel-Ionen im IDA-Experiment zu erkennen, führen Sie den Assistenten vollständig aus und klicken auf der Registerkarte „IDA - First Level Criteria“ im Erfassungsmethoden-Editor unter **Exclude former target ions** auf **Never**.

9. Um frühere Ziel-Ionen nach einer bestimmten Häufigkeit in der Gruppe **Exclude Former Target Ions** auszuschließen, wählen Sie **After X occurrences** und geben die Häufigkeit (Anzahl) ein, wie oft ein früheres Ziel-Ion angezeigt wird, bevor es von weiteren Scans ausgeschlossen wird.
10. Klicken Sie auf **Finish**.
Das IDA-Experiment wird automatisch im „Acquisition Method Editor“ angezeigt. LC-Methoden und andere IDA-Kriterien (zum Beispiel Liste mit Einschluss- und Ausschlusskriterien) können nun bearbeitet werden.

11. Überprüfen Sie bei Bedarf die MS-Methode und Bearbeitungsparameter sowie weitere IDA-Kriterien.
12. Fügen Sie die Geräte hinzu, falls diese nicht bereits inbegriffen sind, und aktualisieren Sie alle relevanten Parameter.

Tipp! Alle Ionenquellen/Gas-Parameter können nun aktualisiert werden. Klicken Sie in der Registerkarte „MS“ auf **Edit Parameters**. Geben Sie auf der Registerkarte „Source/Gas“ die entsprechenden Werte ein und aktivieren dann das Kontrollkästchen **Source/Gas** am unteren Rand, um die Parameter auf alle Experimente anzuwenden.

13. Speichern Sie die Erfassungsmethodendatei.

Erstellen einer IDA-Methode mit dem IDA-Methoden-Assistent und einem LIT System

1. Doppelklicken Sie in der Navigationsleiste unter **Acquire** auf **DA Method Wizard**. Die Seite „Create IDA Experiments“ wird angezeigt.
2. In der Gruppe **Type of IDA Experiment** wählen Sie die Vorläuferscan-Art und klicken dann auf **Next**.
3. Wenn der Scantyp **Neutral Loss / Precursor Scan >> Enhanced Product** ausgewählt ist, dann wählen Sie in der Liste **Number of Survey Scans** die Anzahl der durchzuführenden Scans aus.
4. Um zu bestätigen, dass die vom IDA-Experiment erfassten Daten die vom Benutzer angegebenen Ladungszustände oder Isotopenmuster vor der Durchführung eines abhängigen Scans besitzen, aktivieren Sie unter **Use Enhanced Resolution Scan to confirm Charge State and Isotope Pattern**, „ das Kontrollkästchen.
5. Um einen MS3-Scan zum Experiment hinzuzufügen, aktivieren Sie das Kontrollkästchen **Enable MS3 Experiment generation**3 .
6. Wenn die entsprechende Füllzeit für die LIT von der Software dynamisch berechnet werden soll, vergewissern Sie sich, dass das Kontrollkästchen **Dynamic Fill Time** ausgewählt ist.
7. Klicken Sie auf **Next**.
Die Vorläuferscan-Seite wird geöffnet. Das Erscheinungsbild dieses Dialogfelds hängt vom ausgewählten Vorläuferscan ab.
8. Bearbeiten Sie die Parameter entsprechend dem ausgewählten Scan-Typ und klicken dann auf **Next**.
Die Seite „Dependent Scan – Enhanced Product Ion (EPI)“ (Abhängiger Scan - Erweiterte Produkt-Ionen) wird geöffnet.
9. Wählen Sie die Anzahl der zu überwachenden Peaks, stellen Sie die Scan-Parameter ein und klicken Sie dann auf **Next**.
Die Seite „Dependent Scan – IDA Criteria“ wird geöffnet.
10. Zur Bestimmung des Ionen-Massenbereichs geben Sie die unteren und oberen Grenzen des Ionen-Massenbereichs ein. Für Massen in diesem Bereich wird ein abhängiger Scan durchgeführt.

11. Geben Sie im Feld **Which exceed** die minimale Anzahl der Impulse pro Sekunde ein, die erforderlich sind, um einen abhängigen Scan auszulösen.
12. Um den Ladungszustandsbereich für das IDA-Experiment festzulegen, aktivieren Sie das Kontrollkästchen **With charge state X to Y charges** und klicken dann auf die Ladezustände.

Tipp! Der Ladungszustandsbereich ist von der richtigen Bestimmung der Isotopenverhältnisse abhängig. Darum sollte ein ER-Scan verwendet werden, um den Ladungszustand zu bestätigen.

13. Um Peaks mit unbekannten Ladungszuständen einzuschließen, aktivieren Sie das Kontrollkästchen **Include unknowns**.
14. Führen Sie in der Gruppe **Exclude Former Target Ions** einen der folgenden Schritte aus:
 - Um alle früheren, im IDA-Experiment auftretenden Ziel-Ionen zu ignorieren, wählen Sie **Always**.
 - Um alle früheren, im IDA-Experiment auftretenden Ziel-Ionen zu erkennen, wählen Sie **Never**.
 - Um frühere Ziel-Ionen für eine bestimmte Zeit zu ignorieren, wählen Sie **For** und geben dann die Anzahl der Sekunden ein, für die die Ionen ignoriert werden sollen.
 - Um frühere Ziel-Ionen für eine bestimmte Zeit und nach einer bestimmten Häufigkeit zu ignorieren, wählen Sie **For** und geben Sie dann die Anzahl der Sekunden ein, für die die Ionen ignoriert werden sollen. Wählen Sie **After** und geben Sie dann die Häufigkeit (Anzahl) ein.
 - Um alle früheren Ziel-Ionen nach einer festgelegten Häufigkeit zu ignorieren, wählen Sie **Always**, anschließend **After** und geben Sie dann die Häufigkeit (Anzahl) ein.
15. Um frühere Ziel-Ionen nach einer bestimmten Häufigkeit in der Gruppe **Exclude Former Target Ions** auszuschließen, wählen Sie **After X occurrences** und geben die Häufigkeit (Anzahl) ein, wie oft ein früheres Ziel-Ion angezeigt wird, bevor es von weiteren Scans ausgeschlossen wird.
16. Klicken Sie auf **Finish**.
Das IDA-Experiment wird automatisch im „Acquisition Method Editor“ angezeigt. LC-Methoden und andere IDA-Kriterien (zum Beispiel Liste mit Einschluss- und Ausschlusskriterien) können nun bearbeitet werden.
17. Überprüfen Sie bei Bedarf die MS-Methode und Bearbeitungsparameter sowie weitere IDA-Kriterien.
18. Fügen Sie die Geräte hinzu, falls diese nicht bereits inbegriffen sind, und aktualisieren Sie alle relevanten Parameter.

Tipp! Alle Ionenquellen/Gas-Parameter können nun aktualisiert werden. Klicken Sie in der Registerkarte „MS“ auf **Edit Parameters**. Geben Sie auf der Registerkarte „Source/Gas“ die entsprechenden Werte ein und aktivieren dann das Kontrollkästchen **Source/Gas** am unteren Rand, um die Parameter auf alle Experimente anzuwenden.

19. Speichern Sie die Erfassungsmethodendatei.

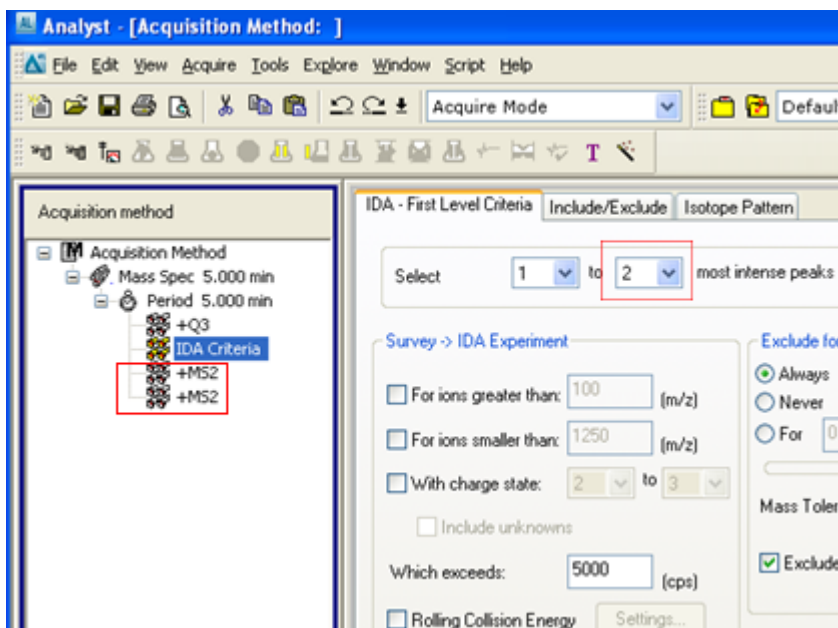
Erstellen einer IDA-Methode mit dem Acquisition Method Editor

Hinweis: Experimente müssen in der Reihenfolge eingegeben werden, in der sie abgearbeitet werden sollen. Experimente können nicht zwischen bestehenden Experimenten eingefügt werden.

Tipp! Um den Bedarf an einem Polaritätswechsel zu minimieren und die Zykluszeit zu minimieren, gruppieren Sie alle positiven abhängigen Experimente zusammen und alle negativen abhängigen Experimente zusammen in einer Periode.

1. Doppelklicken Sie in der Navigationsleiste unter **Acquire** auf **Build Acquisition Method**.
2. Erstellen Sie eine neue Erfassungsmethode mit einem oder zwei Vorläuferscans.
3. Wählen Sie den Vorläuferscan und wählen dann die entsprechenden Parameter.
4. Wenn Sie einen Enhanced Resolution Scan verwenden wollen, um den Ladungszustand oder das Isotopenmuster der Auswahl auf einem QTRAP-System zu bestätigen, dann gehen Sie wie folgt vor:
 - Klicken Sie mit der rechten Maustaste auf das Symbol **Period** und dann auf **Add experiment**.
 - Klicken Sie auf der Registerkarte „MS“ in der Liste **Scan type** auf **Enhanced Resolution (ER)**.
 - Geben Sie die entsprechenden Informationen für den Enhanced Resolution-Scan ein.
5. Klicken Sie mit der rechten Maustaste auf das Symbol **Period** und dann auf **Add IDA Criteria Level**.
6. Legen Sie in den Feldern **Select X to Y most intense peaks** den Bereich der intensivsten Ionenpeaks fest, den das IDA-Experiment überwachen soll. Bei IDA mit einzelner Prüfung muss die Gesamtzahl der überwachten Peaks gleich der Anzahl der festgelegten, abhängigen Experimente sein. Bei IDA mit zweifacher Prüfung mit Polaritätswechsel in den Vorläuferscans muss die Anzahl der abhängigen Experimente doppelt so hoch sein wie die Gesamtanzahl der zu überwachenden Peaks, wobei sich die Hälfte davon in einer Polarität und die andere Hälfte in der anderen Polarität befindet.

Abbildung 2-2: Beispiel einer IDA-Methode mit zwei abhängigen Scan-Typen und zwei intensivsten Ionen



7. Wenn ein ER (Enhanced Resolution)-Scan verwendet wird, dann fügen Sie einen Platzhalter für jeden überwachten Peak hinzu.
Geben Sie für ER-Platzhalter 1 im mittleren (amu 0) Fenster ein. Wenn 4 Peaks überwacht werden, dann gibt es 4 Reihen mit den Zahlen 1, 2, 3 und 4 in der mittleren Spalte. Weitere Informationen finden Sie im Abschnitt: [Über Platzhalter](#).
8. Wenn ein ER-Scan verwendet wird, um den Ladungszustand oder das Isotopenmuster der Auswahl zu bestätigen oder die Massengenauigkeit wiederzugewinnen, dann aktivieren Sie das Kontrollkästchen **Use Enhanced Resolution Scan to confirm Charge State OR Isotope Pattern Selection** auf der Registerkarte „IDA - First Level Criteria“.
9. Setzen Sie die übrigen Parameter auf der Registerkarte IDA - First Level Criteria auf die gewünschten Werte.
10. Falls erforderlich, ändern Sie auf der Registerkarte „Include/Exclude“ die entsprechende Liste zum Aktivieren der Kontrollkästchen **Include List** oder **Exclude List** und geben Sie dann die Ziel-Ionen an oder schließen Sie Ionen aus.
11. Falls erforderlich, aktivieren Sie auf der Registerkarte „Include/Exclude“ das Kontrollkästchen **Match Isotopes** und geben dann das Isotopenverteilungsmuster ein, das verglichen werden soll.
12. Für das erste abhängige Experiment, das hinzugefügt werden soll (eines für jeden Peak, der durch die erste Ebene der IDA-Kriterien überwacht wird), gehen Sie folgendermaßen vor:
 - a. Klicken Sie mit der rechten Maustaste auf das Symbol **Period** und dann auf **Add experiment**.
Ein Experiment wird unter den IDA-Kriterien hinzugefügt.

- b. Geben Sie die entsprechenden Informationen für den abhängigen Scan ein.

Tipp! Wenn mehr als ein abhängiger Scan verwendet wird, klicken Sie mit der rechten Maustaste auf den EPI-Scan und wählen Sie dann **Copy this experiment**, bis die richtige Anzahl an abhängigen Scans haben enthalten ist. Durch „Kopieren“ anstelle von „Experiment hinzufügen“ werden alle gleichen Einstellungen für die neuen abhängigen Scans kopiert.

13. Öffnen Sie die Methode.
14. Fügen Sie die Geräte hinzu und aktualisieren Sie alle relevanten Parameter.
15. Speichern Sie die Erfassungsmethodendatei.

Erstellen einer IDA-Methode mit einem *Scheduled* MRM Algorithmus-Scan

Erstellen Sie für dieses Beispiel eine IDA-Methode, die nach dem intensivsten Ion im Vorläuferscan-Typ sucht. Die Erfassungsmethode enthält einen Vorläuferscan und einen abhängigen Scan.

Um eine Methode mit mehreren abhängigen Scans zu erstellen, stellen Sie sicher, dass die Zahl der intensiven Peaks mit der Anzahl der abhängigen Scans auf der Registerkarte „IDA Criteria“ übereinstimmt (gilt nur bei IDA mit einzelner Prüfung). Wenn die Methode beispielsweise drei abhängige Scans enthält, dann wählen Sie die ersten drei intensivsten Peaks aus.

1. Erstellen Sie ein *Scheduled* MRM Experiment. Siehe das Dokument: *Scheduled MRM Algorithmus-Tutorial*.

Hinweis: Wenn die Option „Target Cycle Time“ zur Verwendung im *Scheduled* MRM-Experiment ausgewählt ist, gilt die Zielzykluszeit nur für dieses *Scheduled* MRM-Experiment und nicht für alle Experimente innerhalb der IDA-Erfassungsmethode.

Tipp! Um eine ER-Scan-Methode hinzuzufügen, fügen Sie sie vor dem Hinzufügen der IDA-Kriterien hinzu.

2. Klicken Sie mit der rechten Maustaste auf das Symbol **Period** und dann auf **Add IDA Criteria Level**.
3. Geben Sie die **IDA Criteria**-Parameter ein.
4. Klicken Sie mit der rechten Maustaste auf das Symbol **Period** und dann auf **Add experiment**.
5. Wählen Sie auf der Registerkarte „MS“ in der Liste **Scan type** einen abhängigen Scan-Typ. Wählen Sie für dieses Beispiel **Product Ion (MS2)** oder **Enhanced Product Ion (EPI)** aus.

Hinweis: Für alle abhängigen Scan-Typen muss **Product Of** 30 Da sein.

6. Geben Sie die Experiment-Parameter ein.

7. Speichern Sie die Erfassungsmethode in dem Projekt, aus dem die Erfassung durchgeführt wird.

Erstellen einer IDA-Methode mit zwei *Scheduled* MRM Algorithmus-Scans

Für dieses Beispiel erstellen Sie eine IDA-Methode, die nach den zwei intensivsten Ionen aus beiden kombinierten Vorläuferscan-Experimenten sucht. Die Beispielerfassungsmethode umfasst zwei Vorläuferscan-Experimente und vier abhängige Scan-Experimente.

Tipp! Wenn während der Vorläuferscan-Typen ein Polaritätswechsel stattfindet, dann siehe Abschnitt: [Über Polaritätswechsel](#).

Hinweis: Für eine IDA-Erfassungsmethode mit zwei Vorläufern können auch zwei MRM-Experimente oder zwei EMS (Enhanced MS)-Experimente für die Vorläuferscans verwendet werden.

1. Erstellen Sie ein *Scheduled* MRM Experiment. Siehe Schritt 1 bis Schritt 7 in *Erstellen einer Scheduled MRM-Algorithmus-Erfassungsmethode* im Dokument: *Scheduled MRM Algorithmus-Tutorial*.
2. Klicken Sie mit der rechten Maustaste auf das Symbol **Period** und dann auf **Add experiment**.
Ein zweiter MRM-Scan wird erstellt. Stellen Sie ihn auf die entgegengesetzte Polarität ein.
3. Markieren Sie das Kontrollkästchen **Enabled** in der Gruppe **Scheduled MRM**, um ein anderes *Scheduled* MRM Experiment. Siehe das Dokument: *Scheduled MRM Algorithmus-Tutorial*.
4. Klicken Sie mit der rechten Maustaste auf das Symbol **Period** und dann auf **Add IDA Criteria Level**.
5. Geben Sie die **IDA Criteria**-Parameter ein.
6. Klicken Sie mit der rechten Maustaste auf das Symbol **Period** und dann auf **Add experiment**.
7. Wählen Sie auf der Registerkarte „MS“ in der Liste **Scan type** einen abhängigen Scan-Typ. Wählen Sie für dieses Beispiel **Product Ion (MS2)** oder **Enhanced Product Ion (EPI)** aus.

Hinweis: Für alle abhängigen Scan-Typen muss **Product Of** 30 Da sein.

8. Geben Sie die Experiment-Parameter ein.
9. Klicken Sie mit der rechten Maustaste auf das **MS2**- oder **EPI**-Experiment und anschließend auf **Copy this experiment**.
10. Wiederholen Sie Schritt 9 zwei Mal. Stellen Sie sicher, dass die Polarität entsprechend der Beschreibung in folgendem Abschnitt eingestellt ist: [Über Polaritätswechsel](#).

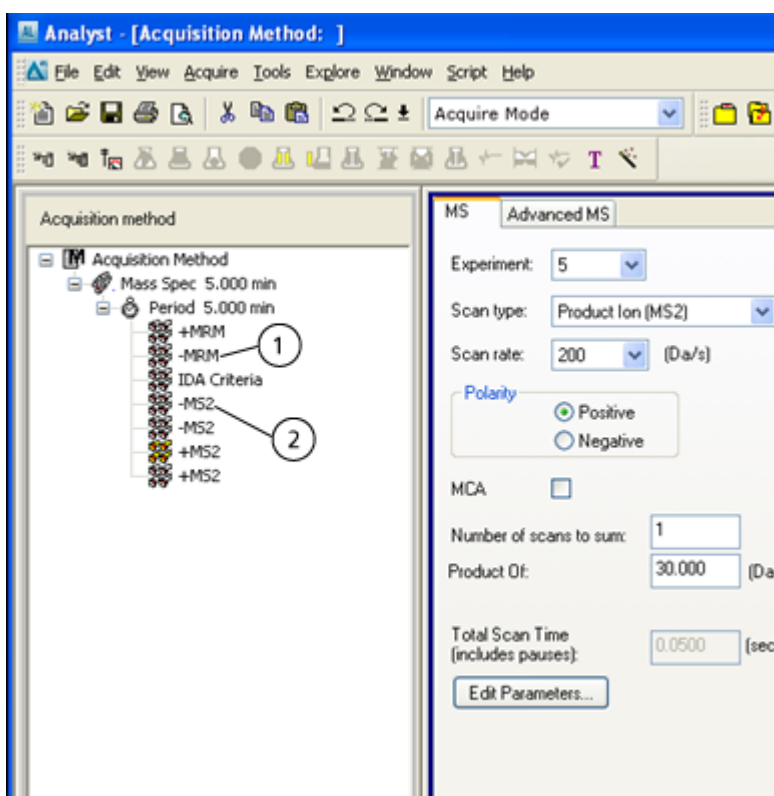
- Speichern Sie die Erfassungsmethode in dem Projekt, aus dem die Erfassung durchgeführt wird.

Über Polaritätswechsel

Wenn die Vorläuferscans in verschiedenen Polaritäten sind, dann vergewissern Sie sich, dass die Erfassungsmethode wie folgt eingerichtet wurde:

- Stellen Sie sicher, dass die Polarität des *ersten* abhängigen Scantyps gleich der Polarität des *letzten* Vorläuferscantyps ist.

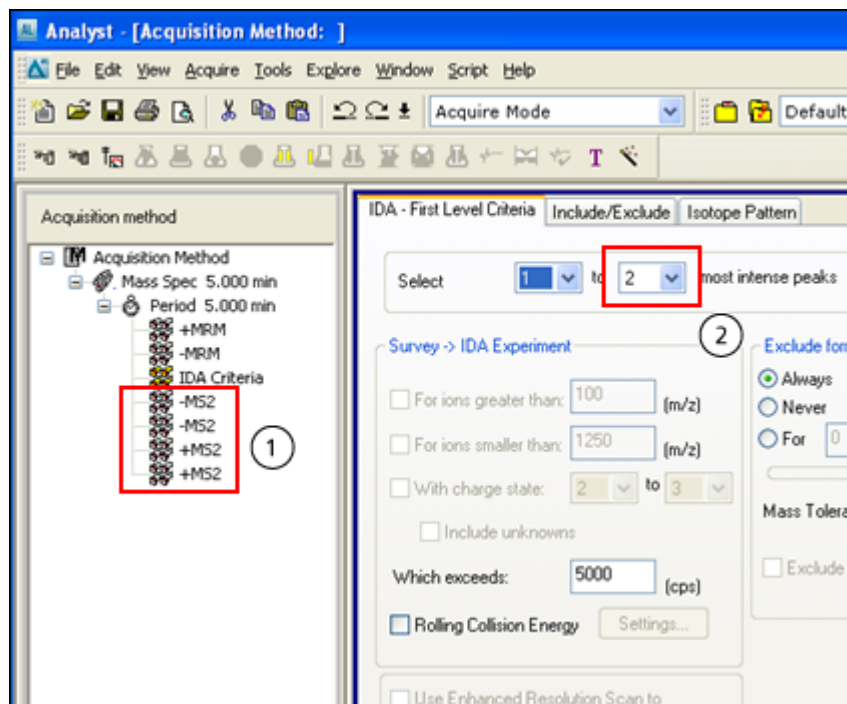
Abbildung 2-3: Beispiel für Scan-Typen, die für Polaritätswechsel eingestellt wurden



Element	Beschreibung
1	Letzter Vorläuferscan
2	Erster abhängiger Scan

- Erstellen Sie eine Erfassungsmethode mit der doppelten Anzahl an abhängigen Scans im Verhältnis zur Anzahl der intensivsten Ionen. Wenn Sie z.B. nach den beiden intensivsten Ionen suchen, müssen vier abhängige Scan-Typen enthalten sein.

Abbildung 2-4: Beispiel abhängiger Scan-Typen und Anzahl der intensivsten Ionen



Element	Beschreibung
1	Abhängige Scan-Typen (vier)
2	Intensivste Ionen (zwei)

Hinweis: Die ausgewählten Kandidaten werden nur in abhängigen Experimenten der gleichen Polarität ausgelöst. Die abhängigen Scans werden dort, wo kein Kandidat zugewiesen ist, nicht in diesem Zyklus durchgeführt. Es wird maximal die Hälfte der abhängigen Experimente in einem Zyklus ausgelöst.

- Stellen Sie bei jedem abhängigen Scanexperiment sicher, dass, wenn die Polarität gleich der Polarität im vorhergehenden Experiment ist, die Einschwingzeit auf Null gestellt wird.

Über Platzhalter

Platzhalter sind in Scans verwendete generische Zahlen, die durch bestimmte Zahlen ersetzt werden. Die Software ersetzt den Platzhalter-Wert mit einem bestimmten Wert aus dem IDA-Auswahlprozess. Platzhalter sind entscheidend für das richtige Funktionieren von IDA-Methoden.

Wenn einige Experimente zum ersten Mal ausgewählt werden, werden Platzhalterwerte automatisch hinzugefügt.

- NL, Prec und EPI = 30
- MS/MS/MS

- First Precursor (erster Vorläufer) = 30
- Second Precursor (zweiter Vorläufer) = 10

Für ER werden ebenfalls Platzhalter verwendet.

- Die Platzhalter beginnen mit 1 in der ersten Zeile in einer IDA-Methode. Jede folgende Zeile wird um 1 bis auf ein Maximum von 8 Zeilen erhöht.
- Wenn der „IDA Method Wizard“ verwendet wird, dann wird automatisch die richtige Anzahl von ER-Platzhaltern hinzugefügt.

Auswirkungen des *Scheduled* MRM Pro Algorithmus in IDA

Wenn ein Vorläuferscan einer informationsabhängigen Erfassung (Information Dependent Acquisition, IDA) mithilfe des *Scheduled* MRM Pro Algorithmus durchgeführt wird, dann wird der abhängige Scan in einer IDA-Methode nur dann ausgelöst, wenn die Intensitäten aller MRM-Übergänge in einer Gruppe über ihren Schwellenwerten liegen. Dies verbessert die Zykluszeit, da irrtümliche Auslösungen von abhängigen Scans verhindert werden.

Erstellen einer IDA *Scheduled* MRM Pro Algorithmus-Erfassungsmethode

1. Erstellen Sie eine *Scheduled* MRM Pro-Algorithmus-Methode. Siehe das Dokument: *Scheduled MRMTutorial*.
2. Fügen Sie ggf. ein Experiment vom ER-Scantyp hinzu, bevor Sie weitere IDA-Kriterien in den Zeitabschnitt einfügen.
3. Klicken Sie mit der rechten Maustaste auf das Symbol **Period** und dann auf **Add IDA Criteria Level**.
4. Geben Sie die Parameter der IDA-Kriterien ein. Siehe Abschnitt: [Erstellen von IDA-Methoden](#).
5. Klicken Sie mit der rechten Maustaste auf das Symbol **Period** und dann auf **Add experiment**.
6. Wählen Sie auf der Registerkarte „MS“ in der Liste **Scan type** einen abhängigen Scan-Typ. Wählen Sie für dieses Beispiel **Product Ion (MS2)** oder **Enhanced Product Ion (EPI)** aus.

Hinweis: Für alle abhängigen Scan-Typen muss **Product Of** 30 Da sein.

7. Geben Sie die Experiment-Parameter ein.
8. Speichern Sie die Erfassungsmethode in dem Projekt, aus dem die Erfassung durchgeführt wird.

Hinweis: Während der Datenerfassung mithilfe einer IDA *Scheduled* MRMPPro Algorithmus-Methode wird der Trigger-Schwellenwert für jeden MRM-Übergang in der Methode anstelle des IDA-Schwellenwerts benutzt.

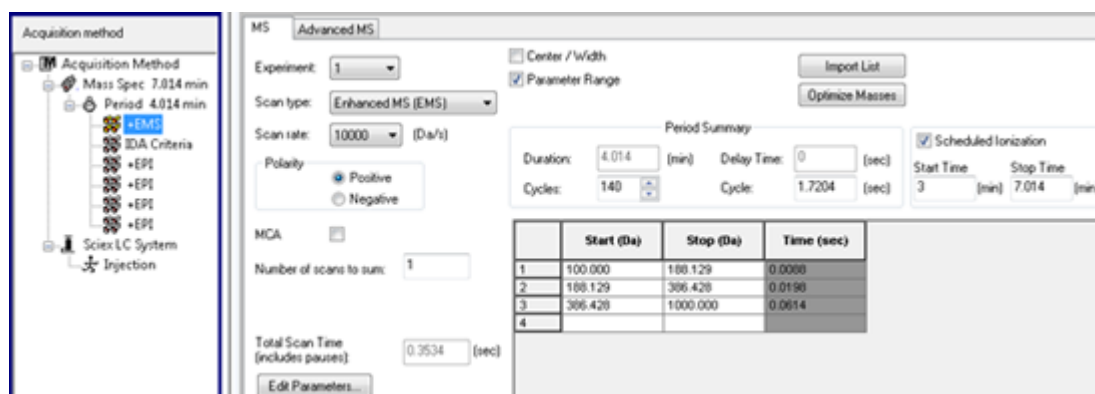
Erstellen einer IDA-Methode mit Scheduled Ionization

1. Erstellen Sie eine IDA-Methode manuell im „Method Editor“ oder automatisch mithilfe des **IDA Method Wizard**.
2. Wählen Sie eines der Experimente in der Methode und aktivieren Sie dann das Kontrollkästchen **Scheduled Ionization**.
3. Geben Sie in der Gruppe **Scheduled Ionization** die entsprechende **Start Time** und **Stop Time** ein. Stellen Sie sicher, dass die relevanten Peaks zwischen der **Start Time** und der **Stop Time** eluieren. Stellen Sie außerdem sicher, dass der **Synchronization Mode** und der LC-Teil der Erfassungsmethoden so eingestellt sind, wie wenn die **Scheduled Ionization** nicht verwendet wird.

Hinweis: **Scheduled ionization** ist nur für Erfassungsmethode für einen Zeitraum verfügbar.

Die folgende Abbildung zeigt, dass der **LC Synchronization Mode** verwendet wird und die LC-Methode 10 Minuten lang ist. Alle relevanten Peaks eluieren nach 3 Minuten und unter 7 Minuten. Eine **IonSpray**-Spannung von 0 wird vor der **Start Time** und nach der **Stop Time** angewendet. Die in der Methode festgelegte **IonSpray**-Spannung wird nur zwischen der **Start Time** und der **Stop Time** angewendet. Die Funktion **Scheduled Ionization** kann das Risiko einer Verunreinigung des Geräts verringern und somit die Ausfallzeiten des Massenspektrometers reduzieren. Für weitere Informationen über die **Scheduled Ionization** siehe das Dokument: *Handbuch für fortgeschrittene Benutzer*.

Abbildung 2-5: Geplante Ionisation



4. Speichern Sie die Erfassungsmethode.

Wenn Daten mithilfe einer IDA-Methode erfasst werden, dann werden die Daten im IDA-Viewer so lange nicht geöffnet, bis die Erfassung abgeschlossen ist. Sie werden jedoch im Explorer-Fenster während der Erfassung geöffnet.

Um IDA-Daten einfacher anzuzeigen, können Sie den IDA-Explorer als Standardprogramm zur Anzeige festlegen. Unter der Registerkarte „IDA Explorer“ im Dialogfeld „Appearance Options“ können Sie den IDA Explorer zur Anzeige von IDA-Daten auswählen. Der Benutzer kann außerdem die Spalten für den Ansichtsbereich „Mass-List List“ auswählen. Der IDA-Explorer ist voreingestellt, IDA-Proben anzuzeigen.

Einstellen von IDA-Explorer-Optionen

1. Klicken Sie auf **Tools > Settings > Appearance Options**.
Das Dialogfeld Appearance Options wird geöffnet.
2. Öffnen Sie die Registerkarte „IDA Explorer“.
3. Aktivieren Sie das Kontrollkästchen **Use IDA Explorer to Display IDA Samples**.
4. Im Abschnitt **Column Options** aktivieren Sie die folgenden Kontrollkästchen nach Bedarf:

Tabelle 3-1: Column Options

Feld	Beschreibung
Intensity	(Intensität)Zeigt die Intensität für ein bestimmtes <i>m/z</i> -Verhältnis.
Molecular Weight (MW)	(Molekulargewicht (MW))Zeigt das berechnete Molekulargewicht für ein bestimmtes <i>m/z</i> -Verhältnis.
Scan	(Scan)Zeigt den Scan-Typ, der für ein bestimmtes <i>m/z</i> -Verhältnis verwendet wird.
Collision Energy (CE)	(Stoßenergie (CE))Zeigt die Stoßenergie für ein bestimmtes <i>m/z</i> -Verhältnis.
Charge (Z)	(Ladung (Z))Zeigt die Ladung für ein bestimmtes Ion.

5. Aktivieren Sie bei einem LIT System im Abschnitt **LIT Column Options** die folgenden Kontrollkästchen nach Bedarf:

Tabelle 3-2: LIT-Spaltenoptionen

Feld	Beschreibung
Excitation Energy (AF2)	(Anregungsenergie (AF2))Zeigt die Anregungsenergie für das zweite Vorläufer-Ion bei MS/MS/MS-Experimenten.

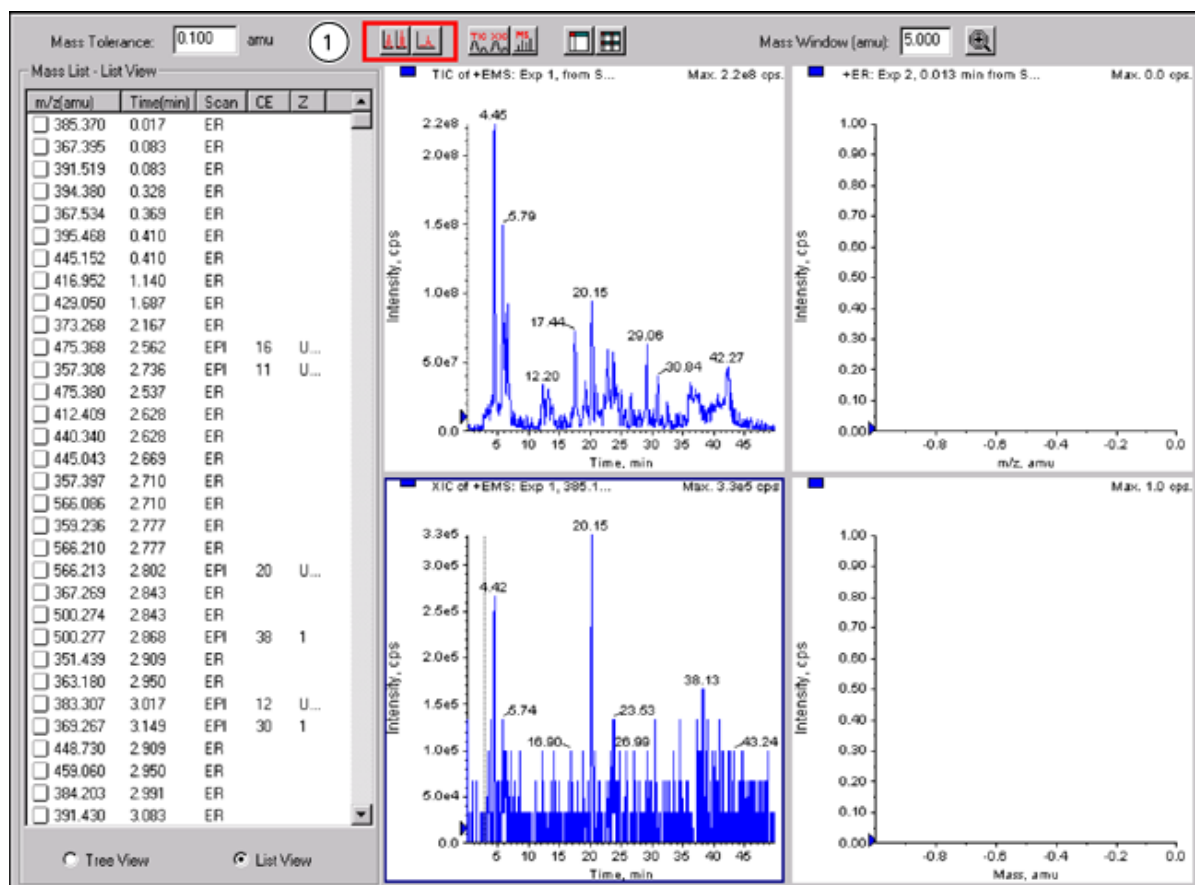
Tabelle 3-2: LIT-Spaltenoptionen (Fortsetzung)

Feld	Beschreibung
MS3 2nd Precursor (2nd Pre)	(MS3 zweiter Vorläufer (2nd Pre))Zeigt das zweite MS/MS/MS-Vorläufer-Ion.
DFT (Dynamic Fill Time)	(DFT (Dynamic Fill Time - Dynamische Füllzeit))Zeigt die Fülldauer für eine LIT.

Anzeigen von IDA-Daten

1. Stellen Sie sicher, dass das Projekt „Example“ in der Analyst MD Software ausgewählt ist.
2. Doppelklicken Sie in der Navigationsleiste unter **Explore** auf **Open Data File**. Das Dialogfeld „Select Sample“ wird geöffnet.
3. Doppelklicken Sie im Feld **Data Files** auf **LIT** und dann auf **IDA BSA Digest.wiff**.
4. In der **Samples**-Liste klicken Sie auf eine Probe und klicken dann auf **OK**. Der IDA Explorer wird angezeigt. Der linke Teil des Fensters zeigt eine Liste der Massen an, die an den abhängigen Scan geschickt wurden. Um zwischen Ansichten zu wechseln, wählen Sie **Tree View** oder **List View** am unteren Rand des Teilfensters „Mass List“ aus. Der rechte Teil des Fensters enthält grafische Informationen über die IDA-Daten.

Abbildung 3-1: Schaltflächen für Einzel- und Multi-Grafik



5. Mit den beiden Tasten (Element 1) über dem Diagramm können Sie zwischen Einzel- und Multi-Grafik wechseln. Um nur das aktive Diagramm anzuzeigen, klicken Sie auf die Schaltfläche, die ein Diagramm zeigt. Um wieder zur Multi-Grafik-Ansicht zurückzukehren, klicken Sie auf die Schaltfläche, die zwei Diagramme zeigt.

Tipp! Um auf **Explore**-Modus-Funktionen zuzugreifen, die im „IDA Viewer“ nicht verfügbar sind, klicken Sie auf **Export Active Graph to Explorer** und **Export All Graphs to Explorer** im Fenster über den Diagrammen, um die aktuellen Grafiken im Explorer-Fenster zu öffnen.

Anzeigen von IDA-Daten, wenn IDA Explorer nicht aktiv ist

Wenn der IDA Explorer nicht aktiv ist, werden die IDA-Daten im Explore-Fenster angezeigt. Um die IDA-Daten anzuzeigen, doppelklicken Sie auf den grünen Pfeil an der Unterseite der X-Achse.

Abbildung 3-2: TIC mit allen Scans (der IDA-Daten-Pfeil ist eingekreist)

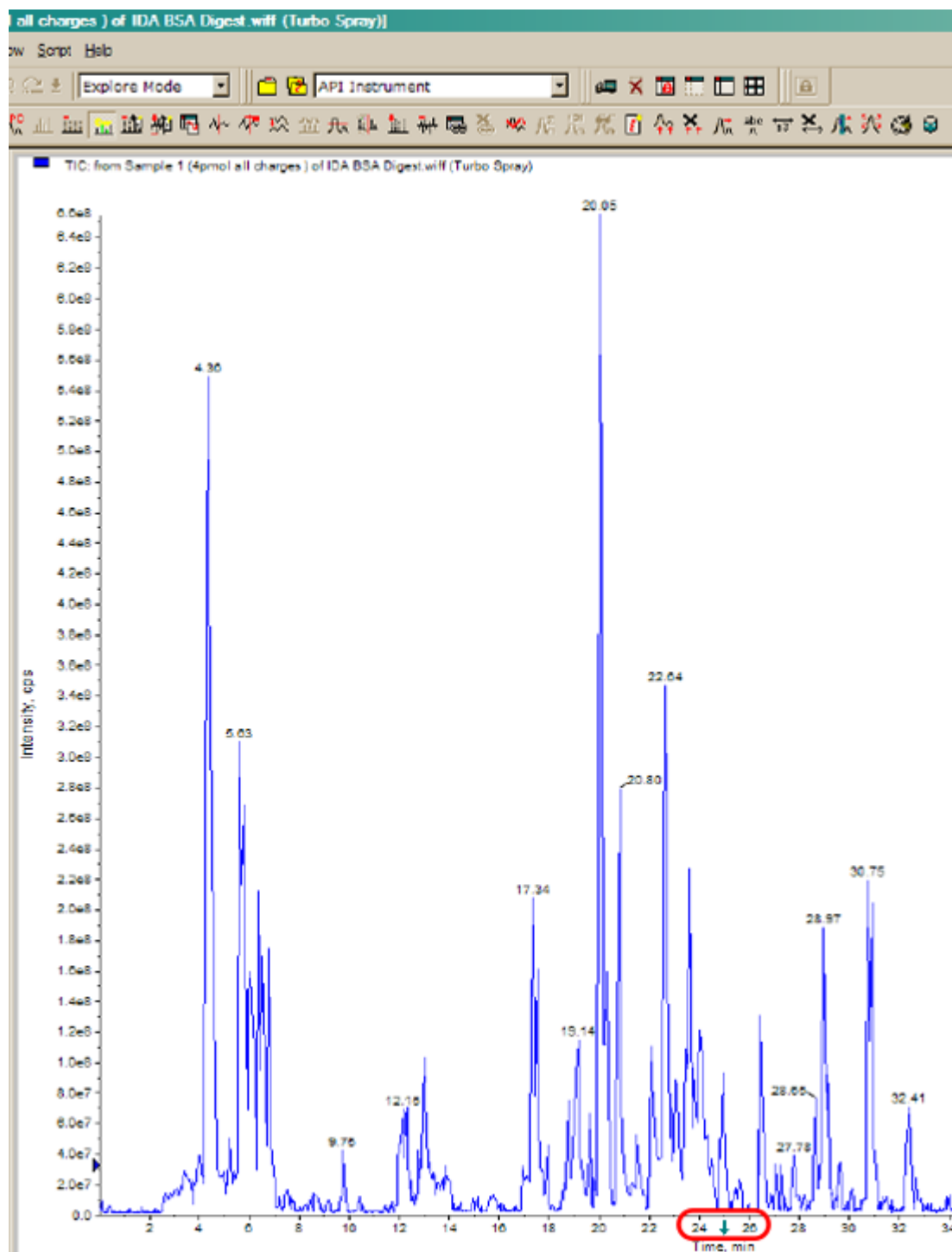
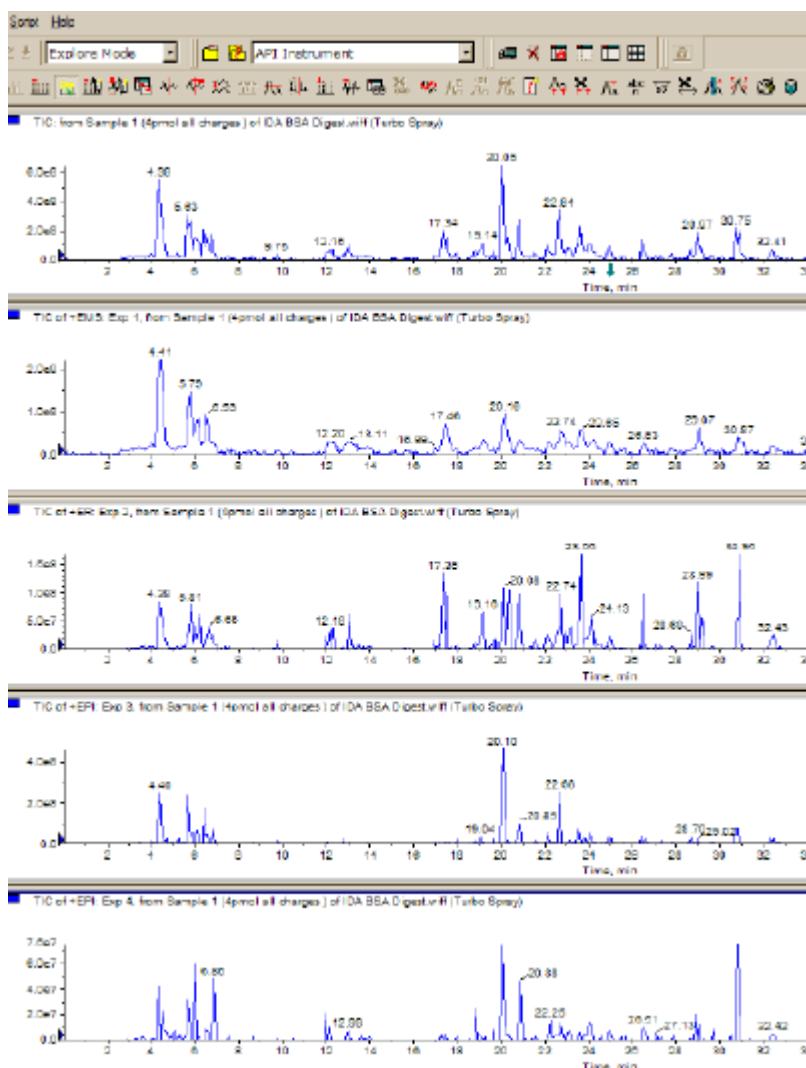


Abbildung 3-3: Individuelle und additive TIC-Scans



Über den Dynamic Background Subtraction-Algorithmus

Der Dynamic Background Subtraction (DBS)-Algorithmus verbessert die Detektion von Vorläufer-Ionen in einem IDA-Experiment. Wird DBS durch Aktivierung des Kontrollkästchens **After Dynamic Background Subtraction of Survey scan** auf der Registerkarte „IDA - First Level Criteria“ aktiviert, verwendet IDA zur Auswahl möglicher relevanter Ionen für eine MS/MS-Analyse ein Spektrum, dessen Hintergrund subtrahiert wurde, anstatt einen Vorläufer direkt aus dem Übersichtsspektrum zu wählen. Da dieser Prozess während einer LC-Analyse stattfindet, ermöglicht DBS den Nachweis von Spezies, wenn deren Signal an Intensität zunimmt. Dadurch fokussiert er sich auf die Detektion und Analyse von Vorläufer-Ionen im ansteigenden Abschnitt bis hin zur Spitze eines LC-Peaks (maximale Intensität).

Wenn DBS in einer IDA-Methode mit dem *Scheduled* MRM Algorithmus als Vorläuferscans verwendet wird, steht die DBS-Option nicht in den *Scheduled* MRM-Experimenten zur

Verfügung, doch sie wird verwendet, um sowohl die sekundären Übergänge als auch die abhängigen Scans auszulösen.

Über Dynamic Fill Time (Dynamische Füllzeit)

DFT (Dynamische Füllzeit) ist eine Funktion, die speziell dafür entwickelt wurde, um in einem Spektrum erfasste Daten für LIT-Funktionen zu optimieren. DFT passt die zum Füllen einer LIT verwendete Zeit entsprechend dem Ionenfluss aus der Ionenquelle automatisch an.









Für intensivere Ionen wird die Füllzeit automatisch verringert, um sicherzustellen, dass die LIT nicht mit Ionen überfüllt wird. Für weniger intensive Ionen wird die Füllzeit automatisch erhöht, um sicherzustellen, dass man im Spektrum eine gute Ionen-Statistik erhält. DFT ist für die folgenden Scan-Typen möglich:

- Erweiterte MS (EMS)
- Enhanced Resolution (ER)
- Enhanced Product Ion (EPI)
- MS/MS/MS (MS³)

Benutzer können die DFT-Einstellungen anpassen, indem Sie **Tools > Settings > Method Options** in der Analyst MD Software auswählen.

Symbole

Tabelle 3-3: Acquisition Method Editor-Symbole

Symbol	Name	Beschreibung
	Masse Spek	Klicken Sie hier, um die Registerkarte „MS“ im „Acquisition Method Editor“ anzuzeigen.
	Zeitabschnitt	Klicken Sie hier mit der rechten Maustaste, um ein Experiment hinzuzufügen, ein IDA Criteria Level hinzuzufügen oder den Zeitraum zu löschen.
	Autosampler	Klicken Sie hier, um die Registerkarte „Autosampler Properties“ zu öffnen.
	Spritzenpumpe	Klicken Sie hier, um die Registerkarte „Syringe Pump Properties“ zu öffnen.
	Column Oven	Klicken Sie hier, um die Registerkarte „Column Oven Properties“ zu öffnen.
	Ventil	Klicken Sie hier, um die Registerkarte „Valve Properties“ zu öffnen.
	DAD	Klicken Sie hier, um den „DAD Method Editor“ zu öffnen.
	ADC	Klicken Sie hier, um die Registerkarte „ADC Properties“ zu öffnen.

Kontaktangaben

Kundenschulung

- In Nordamerika: NA.CustomerTraining@sciex.com
- In Europa: Europe.CustomerTraining@sciex.com
- Die Kontaktinformationen für Länder außerhalb der EU und Nordamerikas finden Sie unter sciex.com/education.

Online-Lernzentrum

- [SCIEX Now Learning Hub](#)

SCIEX Support

SCIEX und seine Vertretungen beschäftigen weltweit einen Stab an ausgebildeten Servicekräften und technischen Spezialisten. Der Support kann Fragen zum System oder anderen auftretenden, technischen Problemen beantworten. Weitere Informationen finden Sie auf der SCIEX-Website unter sciex.com, oder kontaktieren Sie uns unter:

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

Cybersicherheit

Die aktuellsten Hinweise zur Cybersicherheit von SCIEX-Produkten finden Sie unter sciex.com/productsecurity.

Dokumentation

Diese Version des Dokuments ersetzt alle vorherigen Versionen.

Für die Anzeige des Dokuments wird der Adobe Acrobat Reader benötigt. Um sich die neueste Version herunterzuladen, besuchen Sie <https://get.adobe.com/reader>.

Softwareprodukt dokumentationen entnehmen Sie den Versionshinweisen oder dem mit der Software mitgelieferten Software-Installationshandbuch.

Informationen zur Hardware-Produkt dokumentation finden Sie auf der mit dem System oder der Komponente gelieferten *Customer Reference*-DVD.

Hinweis: Wenn Sie eine kostenlose gedruckte Ausgabe dieses Dokuments wünschen, wenden Sie sich bitte an sciex.com/contact-us.
