

フォルダの構成

使用開始時に管理研究室が各研究室のフォルダを作成します・・・基本設定ファイルを含むフォルダも作成します。

D:\¥DataSet¥○○○(研究室名)_lab ... この下に各研究室のユーザーフォルダ、測定フォルダを作成してください。

D:\¥DataSet¥○○○_lab¥○○○¥121112 → この下に各測定に必要な設定ファイルが入ったフォルダが作成され、各スポットのスペクトルも複数保存されていく。

研究室名 ユーザー名など

測定前にあらかじめフォルダ作成しておく必要あり

任意の名前 (New Dataset で入力した名のフォルダが作成される)

D:\¥Method¥Control Method¥○○○_lab ... 測定モードに応じた Method ファイル(Calibration も含まれる)が入ったフォルダ (各研究室独自の Method ファイルも保存可)

使用の流れ

- ・初心者はキャリブレーション試料を用意しなくても測定できる。
 - ・デフォルトのキャリブレーションファイルの精度がよいのでほとんどの場合、1 マスもずれることはありません。
 - ・キャリブレーションを行う場合(精度の高い測定を行いたい時など)、必ず **Save Method** で異なる **Control Method ファイル** として自研究室フォルダに保存してください。現在のファイルに上書きしないこと。
- 以下ではキャリブレーションファイルの作成は省略しています(詳細は講習テキスト p15 参照)。

1. **msTornado Control** を起動する。1 ～ 2 分かかる。起動済みの場合、2 へ。 (年月日など)
2. "New DataSet" より、今回の測定に用いるデータセット(フォルダ)を作成。DataSet Name に新しく作成するフォルダ名を入力。保存場所(Location)をユーザー名のフォルダに設定する (D:\¥DataSet¥○○○_lab¥○○○)。
・・・基本は、1 プレートの挿入ごとに 1 つのデータセット (フォルダ) で十分だが、各スポットの測定ごとに作成してもよい (1 プレート内に多数のユーザーの試料を載せている場合などは、分けた方が管理しやすい)。
Target Plate ID は、**96 Spot Stainless Steel Type II (111)** を選ぶ。Number は入力しなくてよい。
3. ターゲットプレートをホルダーに載せる (実験台上で)。サニメント手袋着用のこと。固定ねじを軽く留める。なくさないよう注意。
4. 取り出しボタン [▲] を押して OK 後、LED が点灯したらドアを開く。大気圧に戻すため、開けるようになるまで 5 分ほどかかる。
5. ホルダーごと本体にセットする。向きに注意 (プレート ID の番号が手前にくる向き)。
6. ドアを閉めて、再度取り出しボタン [▲] を押して OK 後、プレートの搬送を行う。真空になるまで 3～5 分待つ。
7. **Set Loaded Target Plate ID** ボタンを押す。緑色に変わるのを確認。
8. **Load Method**(上部)→**Control Method**→OK 後、Control Method フォルダ内の各研究室のフォルダから、測定したいモードを選び(現れたウィンドウの右下から)、分子量範囲に合わせた Method ファイルを読み込む。

(各 Method ファイル名の数字は、観測の焦点およびキャリブレーションがその分子量に合っているという意味)

測定領域 (限界はもう少し上)

初期に準備されている Method ファイル

- | | | | |
|-------------------|------------------------------|-----------------------|--------|
| ① Spiral Positive | (～ 20,000) ... 高分解能 正電荷検出 : | 2000 / 10000 | *.spcm |
| ② Spiral Negative | (～ 20,000) ... 高分解能 負電荷検出 : | 2000 | *.snm |
| ③ Linear Positive | (～ 150,000) ... 低分解能 正電荷検出 : | 1000 / 10000 / 100000 | *.lpcm |
| ④ Linear Negative | (～ 150,000) ... 低分解能 負電荷検出 : | 2000 | *.lnm |

9. キャリブレーションファイルが **Current Calibration** にセットされていることを確認 (各測定でキャリブレーションを行わなくとも、すでにある程度精度の良いキャリブレーションファイルが用意されている)

別のキャリブレーションファイルを選ぶ場合は、**Load Method** でキャリブレーションファイルを含む Method ごと読み込む必要あり

10. 後で測定モードを切り替える場合は、**Load Method** から選ぶ (もしこのとき[HV ON]だったとしても問題ない)

(画面上部の[Control Method :]で選ぶとキャリブレーションの分子量範囲が追従しない)

11. Stage 真空度が (緑色になれば測定可能だが) 5×10^{-5} Pa 以下になっていることをチェックし真空度をノートに記録
12. [HV Switch] ボタンを ON にする。加速、分離、検出のための電圧がかかる。安定するまで 1 分くらい待つ。
13. 右下のプレート図をクリックして測定したいスポットに移動させる

1 4. パラメータをセットする。以下の値は、Spiral POS 2000/Linear POS 1000 のデフォルト値

Laser Intensity (%) : 30% / 30% レーザー強度 ↓ピークの分解能に関連
Delay Time (ns) : 400ns/150ns 質量範囲に依存 0-1500(MW 30000) 400ns で MW 2000 位が目安
Detector (%) : 55% / 76% ピークが小さい (検出しづらい) ととき少し上げる。リニアは 80%以上推奨

以下のパラメータは、変更した後、Apply ボタンを押さないと更新されないで注意
Mass Range: 500-4000 測定する分子量範囲
Sampling Interval : 0.5ns ピークのポイント数と関連。基本的に自動設定 分子量多いと長い時間に設定される
Laser Frequency (Hz): 250 Hz よい照射位置を選ぶまでは 50Hz 以下がよい気がする。
Intensity Offset (%): 0% ノイズカットの Threshold
Real Time Smooth: Spiral モードでは OFF Linear モードでは ON (低分子の場合は OFF)
Spec Trace 内の設定は、得られたスペクトルのどの部分を積算して表示させるかを設定する部分

1 5. [Laser ON]により積算開始。適宜、照射位置を移動しながら測定。(画面上の矢印ボタン + ENTER or クリック)

1 6. [Laser OFF]により測定終了。

1 7. スペクトル左下の [Save Spectrum]の横の Description にコメント記入 (記入しないと何の測定かわからなくなる)
サンプル番号や名前、マトリクス、Laser の Hz やパワー(%), Delay(ns)を記入しておくといでしょう、

1 8. [Save Spectrum]を押して保存。ファイル名は自動でつけられる (自分で名前を付けることはできない)
(SP-C06-01-001 など → 測定モード-スポット番号-番号-連番) 同じスポット内であれば、最後の連番だけ変わる。

1 9. 次の測定に移る場合、[Clear Spec Trace]を押す (押さないと追加で積算されていく)。

2 0. 他のスポットを測定する。スポット画面をクリックして移動しないと、スポット番号との連携が取れなくなる (矢印ボタンで隣まで移動しないこと)

2 1. 測定した (複数の) データは、左側のタブの「Data Processing」で確認可能
小さいピークにラベルがつかないときには Cut Off 値を 100 程度に下げる

2 2. 現状では、測定条件を含んだスペクトルの印刷は、この Data Processing からしかできないのでここで印刷しておく。

2 3. 解析ソフトにデータをエクスポートする。

DataSet → Export → Manual Batch Export

右側に見えるプレートの上の「Spots」および「All」を選択。・・・なお、5 つ並んだスポットのうち中心のキャリブレーション用スポットはエクスポートできず、この画面にも表示されていないので注意 (測定したいサンプルは 5 つの中心に載せてはいけないということ)
保存フォルダ (基本的には ¥DataSet¥研究室_lab¥(ユーザー)¥(今回の実験フォルダ) を選んで、[Export]を押す。
もし、テキストファイルでエクスポートしたい場合、msTornado Analysis のタブではなく Plain Text のタブを選ぶ

2 4. すべての測定が終了したら[HV Switch]を押して OFF にする。

2 5. 取り出しボタン [▲]を押して OK 後、プレートとホルダーを取り出す。ホルダーは専用のケースに保管。ねじの紛失に注意。

2 6. ドアを開めたのち、取り出しボタン[▲]を押して OK 後、試料室を真空に保つ (LED 消灯を確認)。

データ解析 (セカンド PC でも可能 → その場合、事前に USB メディアにデータを転送しておく必要がある)

2 7. msTornado Analysis を起動する。

2 8. Project folder を読み込む。同じデータセットフォルダー内のスペクトルがすべて読み込まれる。

2 9. 表示したいスペクトル名 (コメントも併記されている) をダブルクリックして表示

3 0. 適宜、表示方法を設定。ただし測定条件、ピークリストは印刷できない (上記 Data Processing からなら可能)。

3 1. HR-MS としての組成推定 : 外部標準としてキャリブレーションを実施している場合→テキスト 7.4 参照 ←試料側のピーク
内部標準入り試料の場合→ スペクトル画面を右クリック → Calibration → データテーブル or カスタム(分子量入力) →
(Edit → Select Peak to Estimation → ピークを右クリック → 組成範囲入力 → Estimate → Print)

3 2. 操作終了後、Laser OFF, HV OFF, ドア開閉部の LED 消灯を確認。ソフトは起動したまま、ディスプレイのみ OFF。

PC および本体の電源は OFF にしないこと