

# 定量解析の方法

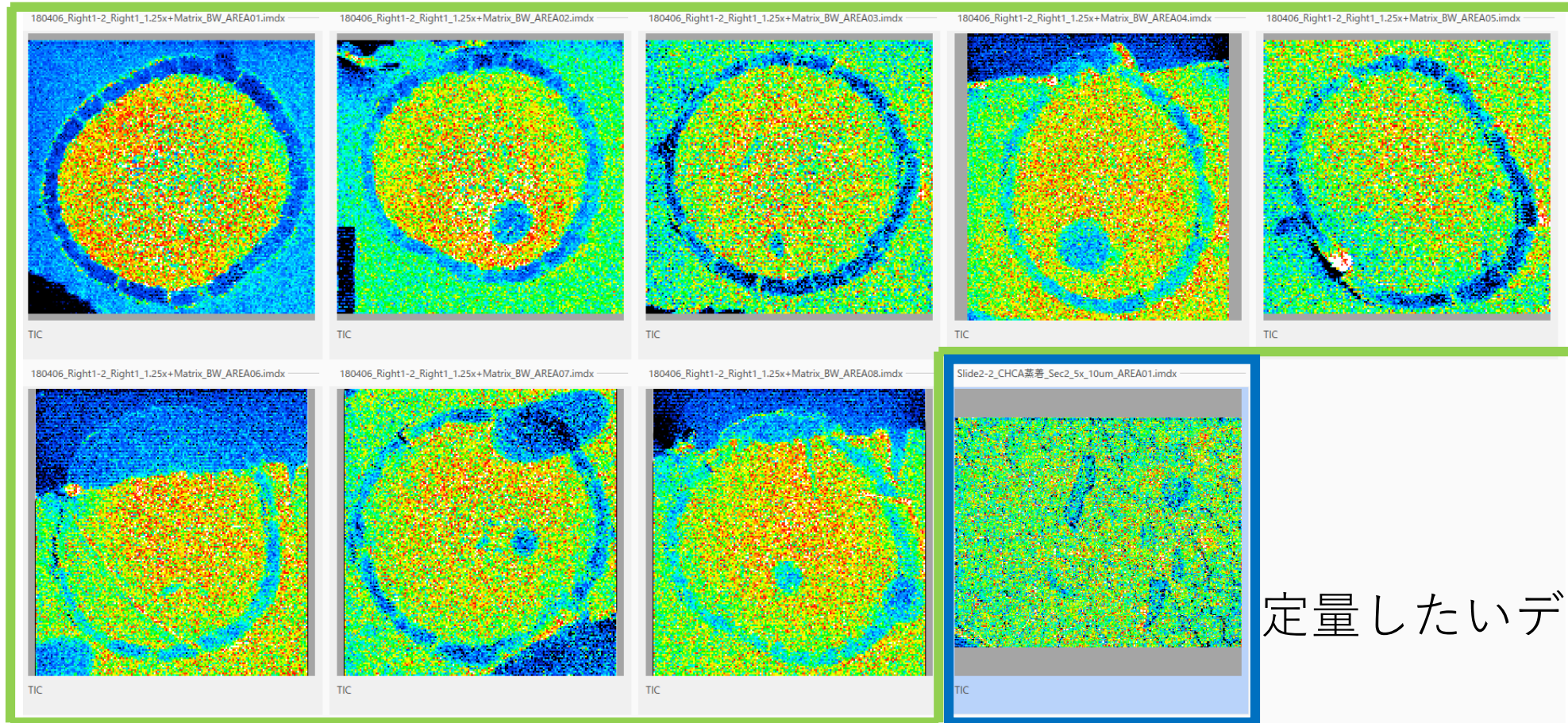
# 必要なデータ

- 検量線作成データとその情報
- 定量したいデータ

※データファイルは一つでも複数に分かれていてもかまいません。

※※事前に対象化合物を化合物テンプレートに登録してください。  
（“化合物テンプレート編集法”参照）

# 今回のデータ：複数に分かれている



定量したいデータ 1個

検量線作成用データ 8個

# [定量解析]を選択

The screenshot displays the IMAGEREVEAL software interface. A central dialog box titled '解析手法の選択' (Analysis Method Selection) is open, showing a list of analysis methods under the heading '新規プロジェクト' (New Project). The methods listed are:

- 差異解析 (Differential Analysis)
- 画像解析 (Image Analysis)
- 定量解析 (Quantitative Analysis) - This option is highlighted with a yellow border and a mouse cursor is pointing at it.
- スクリーニング (Screening)
- スクリーニング (定量) (Screening (Quantitative))

The background interface includes a sidebar with various analysis tools, a main workspace with data tables and graphs, and a right-hand panel with sample information. The top menu bar shows 'ファイル', '表示', '検索', '設定', 'オプション', '拡張機能', and 'ヘルプ'. The title bar indicates '差異解析 | No Title - IMAGEREVEAL'.

# 定量用画面：IMDXファイルを追加する

The screenshot displays the '定量解析' (Quantitative Analysis) window in the IMAGEREVEAL software. The interface is divided into several panels:

- Left Panel (Navigation):** A vertical sidebar with icons for various functions. The 'IMDXファイルを追加' (Add IMDX File) icon is highlighted with a yellow box and a mouse cursor.
- ROIリスト (ROI List):** A table with columns: No., 使用 (Use), ファイル名 (File Name), ROI名 (ROI Name), and 属性 (Attribute).
- 検量線 (Calibration Curve):** A graph showing Concentration on the y-axis (0 to 10) and Intensity on the x-axis (0 to 10). A checkbox '原点を通る' (Pass through origin) is present.
- Parameters:** Input fields for '許容幅' (Tolerance) set to 0.2000 Da and 'しきい値' (Threshold) set to 0.00000. A button 'MSイメージ一覧に追加' (Add to MS Image List) is also visible.
- MSイメージ (MS Image):** A large dark area for the MS image, with a '情報のコピー' (Copy Information) button.
- MSイメージ一覧 (MS Image List):** A panel at the bottom right with controls for adding, deleting, and sorting MS images, and buttons for '重ね合わせ' (Overlay) and '四則演算' (Arithmetic).
- ROI平均 (ROI Average):** A small table with columns '計..' (Calculation), '表..' (Table), and 'ファイル名' (File Name).
- 解析パラメータ (Analysis Parameters):** A section for 'ノーマライズ未計算' (Normalization not calculated) with a table for No., Name, and Value.

# データが読み込まれた

The screenshot displays the IMAGEREVEAL software interface with the following components:

- Left Panel:** A vertical menu with options like 'ファイル', '画像設定', 'ROI設定' (highlighted with a yellow box), '前処理設定', '前処理', '検査線', '対象リスト設定', and '検査線計算'.
- ROI List Table:** A table with columns 'No.', '使用', 'ファイル名', 'ROI名', and '属性'. It lists 9 items, all with 'Group A' as the attribute. The table is highlighted with a green border.
- Measurement Line Table:** A table with columns 'No.', 'm/z', and '化合物名', currently empty.
- Concentration vs Intensity Plot:** A graph with 'Concentration' on the y-axis (0-10) and 'Intensity' on the x-axis (0-10).
- MS Image:** A large heatmap image with a color scale and a '250 μm' scale bar. Metadata on the right includes '化合物名/コメント: TIC', 'ファイル名: Slide2-2\_CHCA蒸着\_Sec2\_5x\_10um\_AREA01.imdx', and 'タイプ: TIC'.
- MS Image List:** A grid of smaller MS images, each labeled 'TIC'.
- Mass Spectrometry Plots:** Four stacked plots showing 'Intensity' vs 'm/z' for different ROI areas (AREA01 to AREA04). The x-axis for all plots ranges from 610 to 660 m/z.
- ROI Average Table:** A table with columns '計..', '表..', and 'ファイル名'.
- Analysis Parameters:** A section titled '解析パラメータ' with a 'ノーマライズ未計算' button and an empty table with columns 'No.', 'Name', and 'Value'.

# 各検量線用試料のROIを設定する

ROI設定

IMDXファイル 180406\_Right1-2\_Right1\_1.25x+Matrix\_BW 参照画像 Reference Image 1

インポート エクスポート

参照画像の設定

輝度  
コントラスト  
透明度  
平滑化フィルター なし

MSイメージ設定

ファイル  
MSイメージ TIC

MSイメージ  
ROI表示設定 透明度 ラベル 表示する

ROIリスト

No.	使用	ファイル名	ROI名
1	<input type="checkbox"/>	180406_Right1-2_Right1_1.25x+Matrix_BW_AREAO...	All
2	<input type="checkbox"/>	180406_Right1-2_Right1_1.25x+Matrix_BW_AREAO...	All
3	<input type="checkbox"/>	180406_Right1-2_Right1_1.25x+Matrix_BW_AREAO...	All
4	<input type="checkbox"/>	180406_Right1-2_Right1_1.25x+Matrix_BW_AREAO...	All
5	<input type="checkbox"/>	180406_Right1-2_Right1_1.25x+Matrix_BW_AREAO...	All
6	<input type="checkbox"/>	180406_Right1-2_Right1_1.25x+Matrix_BW_AREAO...	All
7	<input type="checkbox"/>	180406_Right1-2_Right1_1.25x+Matrix_BW_AREAO...	All
8	<input type="checkbox"/>	180406_Right1-2_Right1_1.25x+Matrix_BW_AREAO...	All
9	<input checked="" type="checkbox"/>	Slide2-2_CHCA蒸着_Sec2_5x_10um_AREAO1.imdx	All
10	<input checked="" type="checkbox"/>	180406_Right1-2_Right1_1.25x+Matrix_BW_AREAO...	ROI001
11	<input checked="" type="checkbox"/>	180406_Right1-2_Right1_1.25x+Matrix_BW_AREAO...	ROI002
12	<input checked="" type="checkbox"/>	180406_Right1-2_Right1_1.25x+Matrix_BW_AREAO...	ROI003
13	<input checked="" type="checkbox"/>	180406_Right1-2_Right1_1.25x+Matrix_BW_AREAO...	ROI004
14	<input checked="" type="checkbox"/>	180406_Right1-2_Right1_1.25x+Matrix_BW_AREAO...	ROI005
15	<input checked="" type="checkbox"/>	180406_Right1-2_Right1_1.25x+Matrix_BW_AREAO...	ROI006
16	<input checked="" type="checkbox"/>	180406_Right1-2_Right1_1.25x+Matrix_BW_AREAO...	ROI007
17	<input checked="" type="checkbox"/>	180406_Right1-2_Right1_1.25x+Matrix_BW_AREAO...	ROI008

OK キャンセル

※この例では定量したいデータのROIは[ALL]です

# ROIが設定された状態

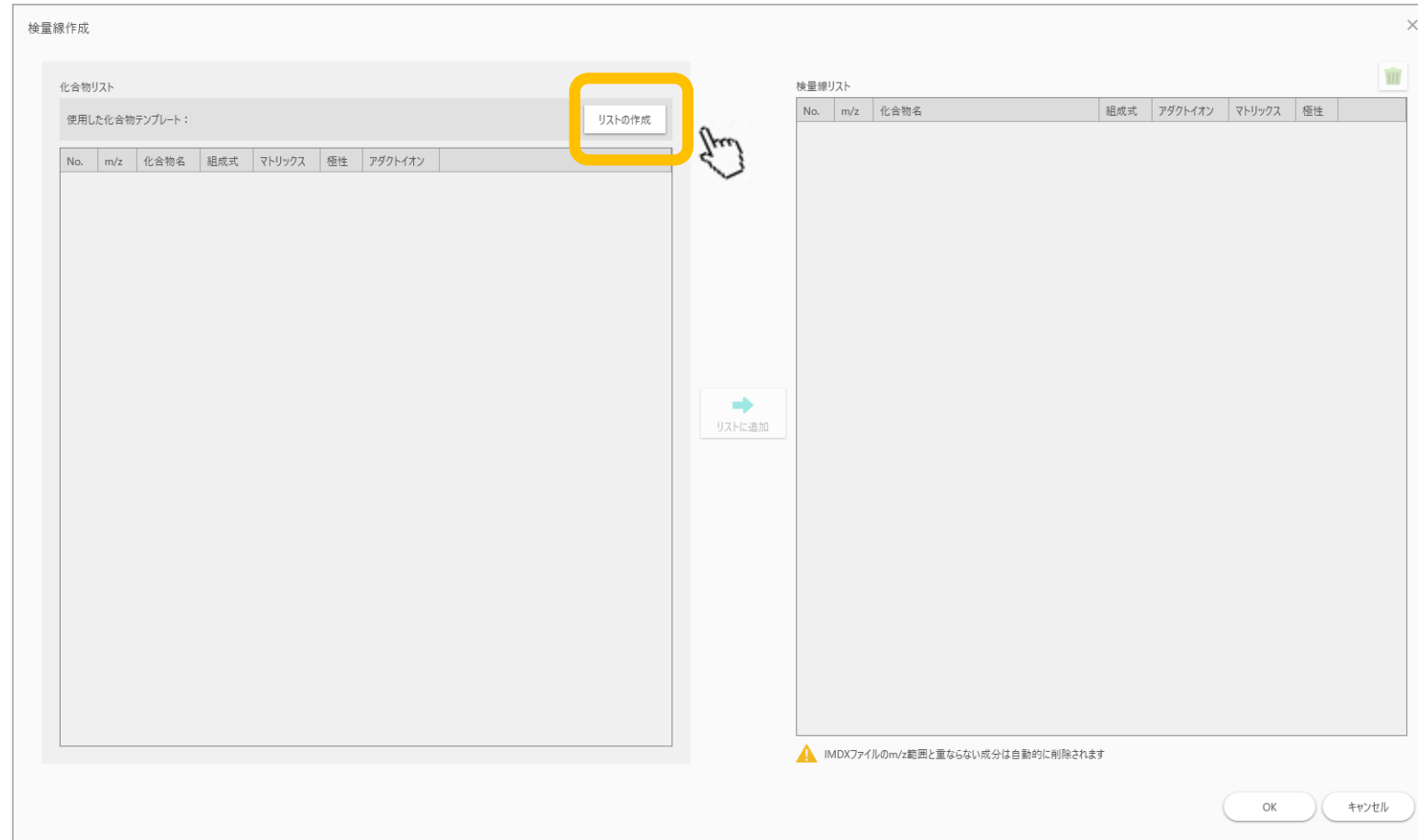
※必要があれば[前処理の設定]を行ってから[対象リストの設定]に進みます。

The screenshot displays a software interface for quantitative imaging analysis. The main window is titled "定量解析" (Quantitative Analysis) and shows the following components:

- ROIリスト (ROI List):** A table listing 17 ROIs. The "使用" (Use) column has checkmarks for ROIs 9 through 17. The "ROI名" (ROI Name) column shows "All" for ROIs 1-8 and "ROI001" through "ROI008" for ROIs 9-17. The "属性" (Property) column is "Group A" for all.
- 検量線 (Calibration Curve):** A graph showing Concentration vs. Intensity. The y-axis ranges from 0 to 10, and the x-axis ranges from 0 to 10. A checkbox "原点を通る" (Pass through origin) is present.
- MSイメージ (MS Image):** A large heatmap showing the intensity distribution of the sample. A green circle highlights a specific region labeled "ROI004".
- MSイメージ一覧 (MS Image List):** A grid of smaller heatmaps showing the intensity distribution for different ROIs. The first row shows four heatmaps labeled "180406\_Right1-2\_Right1\_1.25x+Matrix\_BW\_AREA01.imdx Whole\_Ave.", "180406\_Right1-2\_Right1\_1.25x+Matrix\_BW\_AREA02.imdx Whole\_Ave.", "180406\_Right1-2\_Right1\_1.25x+Matrix\_BW\_AREA03.imdx Whole\_Ave.", and "180406\_Right1-2\_Right1\_1.25x+Matrix\_BW\_AREA04.imdx Whole\_Ave.". The second row shows four heatmaps labeled "180406\_Right1-2\_Right1\_1.25x+Matrix\_BW\_AREA05.imdx Whole\_Ave.", "180406\_Right1-2\_Right1\_1.25x+Matrix\_BW\_AREA06.imdx Whole\_Ave.", "180406\_Right1-2\_Right1\_1.25x+Matrix\_BW\_AREA07.imdx Whole\_Ave.", and "180406\_Right1-2\_Right1\_1.25x+Matrix\_BW\_AREA08.imdx Whole\_Ave.". Each heatmap is labeled "TIC" (Total Ion Chromatogram).
- 対象リスト設定 (Target List Setting):** A sidebar menu on the left with a yellow box around the "対象リスト設定" (Target List Setting) option.
- 解析パラメータ (Analysis Parameters):** A section at the bottom left with a "ノーマライズ未計算" (Normalization not calculated) button and a table with columns "No.", "Name", and "Value".



# 対象化合物の設定1



事前に対象化合物を化合物テンプレートに登録してください。  
（“化合物テンプレート編集法”参照）

# 対象化合物の設定2

リストの作成

化合物テンプレート ?

Matrix Clusters  
Lipids  
Lipid Mediators  
Amiodarone

使用するアダクトイオン ?

+H  
-H

マトリックス CHCA

極性 ポジティブ

選択された化合物テンプレートと使用するアダクトイオンに表示されているアダクトイオンを組み合わせることで化合物リストを作成します。  
化合物テンプレートに含まれる化合物のうち、アダクトイオンを計算するにチェックされているものだけアダクトイオンとの組み合わせが化合物リストに追加されます。

作成 キャンセル

事前に作成した化合物テンプレートを選択

# 対象化合物の設定3

検量線作成

化合物リスト

使用した化合物テンプレート: Amiodarone

リストの作成

No.	m/z	化合物名	組成式	アダクトイオン	マトリックス	極性
1	646.03097	Amiodarone	C <sub>25</sub> H <sub>29</sub> I <sub>2</sub> NO <sub>3</sub>	M+H	Any	ポジティブ

①

リストに追加

②

③

IMDXファイルのm/z範囲と重ならない成分は自動的に削除されます

OK キャンセル

※対象化合物を複数設定することも可能です。

# 検量線の設定1

The screenshot displays the IMAGEREVEAL software interface for setting calibration curves. The main window is divided into several panels:

- ROIリスト (ROI List):** A table listing 17 ROIs with their respective file names, ROI names, and attributes (Group A).
- 検量線 (Calibration Curve):** A graph showing Concentration (Y-axis, 0 to 10) versus Intensity (X-axis, 0 to 10). Below the graph are controls for tolerance (許容幅: 0.2000 Da) and threshold (しきい値: 0.00000).
- MSイメージ (MS Image):** A heatmap showing the distribution of ions across the sample area. A red circle highlights the ROI (ROI004). The image includes a 100 μm scale bar and a color scale legend.
- MSイメージ一覧 (MS Image List):** A grid of smaller MS images for different ROIs, each labeled with 'TIC' (Total Ion Chromatogram).

The left sidebar contains various tool icons, with the '検量線計算' (Calibration Curve Calculation) icon highlighted in a yellow box. The bottom panel shows the '解析パラメータ' (Analysis Parameters) section, including a table for 'ノーマライズ未計算' (Not Normalized) parameters.

# 検量線の設定2

※検量線の設定画面で設定を行います。

検量線の設定

検量線リスト

No.	m/z	化合物名	組成式	アダクトイオン	マトリックス	極性
1	646.03097	Amiodarone	C <sub>25</sub> H <sub>29</sub> I <sub>2</sub> NO <sub>3</sub>	M+H	Any	ポジティブ

ROIリスト

No.	使用	ファイル名	ROI名	属性	試料タイプ	濃度
1	<input checked="" type="checkbox"/>	Slide2-2_C...	All	Group A	未知	0.00000
2	<input checked="" type="checkbox"/>	180406_Ri...	ROI001	Group A	未知	0.00000
3	<input checked="" type="checkbox"/>	180406_Ri...	ROI002	Group A	未知	0.00000
4	<input checked="" type="checkbox"/>	180406_Ri...	ROI003	Group A	未知	0.00000
5	<input checked="" type="checkbox"/>	180406_Ri...	ROI004	Group A	未知	0.00000
6	<input checked="" type="checkbox"/>	180406_Ri...	ROI005	Group A	未知	0.00000
7	<input checked="" type="checkbox"/>	180406_Ri...	ROI006	Group A	未知	0.00000
8	<input checked="" type="checkbox"/>	180406_Ri...	ROI007	Group A	未知	0.00000
9	<input checked="" type="checkbox"/>	180406_Ri...	ROI008	Group A	未知	0.00000

検量線タイプ  濃度単位

実行 キャンセル

# 検量線の設定3

ROIリスト

No.	使用	ファイル名	ROI名	属性	試料タイプ	濃度	
1	<input checked="" type="checkbox"/>	Slide2-2_C...	All	Group A	未知	0.00000	
2	<input checked="" type="checkbox"/>	180406_Ri...	ROI001	Group A	標準	0.00000	
3	<input checked="" type="checkbox"/>	180406_Ri...	ROI002	Group A	未知	0.00000	
4	<input checked="" type="checkbox"/>	180406_Ri...	ROI003	Group A	標準	0.00000	
5	<input checked="" type="checkbox"/>	180406_Ri...	ROI004	Group A	標準	0.00000	
6	<input checked="" type="checkbox"/>	180406_Ri...	ROI005	Group A	標準	0.00000	
7	<input checked="" type="checkbox"/>	180406_Ri...	ROI006	Group A	標準	0.00000	
8	<input checked="" type="checkbox"/>	180406_Ri...	ROI007	Group A	標準	0.00000	
9	<input checked="" type="checkbox"/>	180406_Ri...	ROI008	Group A	標準	0.00000	

検量線タイプ

 サンプルタイプ設定を適用

試料タイプ（サンプルタイプ）を設定します。  
検量線作成用の試料タイプは“標準”です。  
複数行選択して一括で設定できます。

# 検量線の設定4

インポート      エクスポート

ROIリスト

No.	使用	ファイル名	ROI名	属性	試料タイプ	濃度	
1	<input checked="" type="checkbox"/>	Slide2-2_C...	All	Group A	未知 ▾	0.00000	
2	<input checked="" type="checkbox"/>	180406_Ri...	ROI001	Group A	標準 ▾	1.13234	
3	<input checked="" type="checkbox"/>	180406_Ri...	ROI002	Group A	標準 ▾	0.33970	
4	<input checked="" type="checkbox"/>	180406_Ri...	ROI003	Group A	標準 ▾	0.11323	
5	<input checked="" type="checkbox"/>	180406_Ri...	ROI004	Group A	標準 ▾	0.03397	
6	<input checked="" type="checkbox"/>	180406_Ri...	ROI005	Group A	標準 ▾	0.01132	
7	<input checked="" type="checkbox"/>	180406_Ri...	ROI006	Group A	標準 ▾	0.00340	
8	<input checked="" type="checkbox"/>	180406_Ri...	ROI007	Group A	標準 ▾	0.00113	
9	<input checked="" type="checkbox"/>	180406_Ri...	ROI008	Group A	標準 ▾	0.00000	

検量線タイプ       濃度単位

サンプルタイプ設定を適用

検量線用の試料の濃度値を入力します。

# 検量線の設定5 入力補助機能

検量線の設定

検量線リスト

No.	m/z	化合物名	組成式	アダクトイオン	マトリックス	極性
1	646.03097	Amiodarone	C25H29I2NO3	M+H	Any	ポジティブ
2	611.00728	610		M+H	Any	ポジティブ
3	631.00728	630		M+H	Any	ポジティブ
4	621.00728	620		M+H	Any	ポジティブ

ROIリスト

No.	使用	ファイル名	ROI名	属性	試料タイプ	濃度
1	<input checked="" type="checkbox"/>	Slide2-2_C...	All	Group A	未知	0.00000
2	<input checked="" type="checkbox"/>	180406_Ri...	ROI001	Group A	標準	1.13234
3	<input checked="" type="checkbox"/>	180406_Ri...	ROI002	Group A	標準	0.33970
4	<input checked="" type="checkbox"/>	180406_Ri...	ROI003	Group A	標準	0.11323
5	<input checked="" type="checkbox"/>	180406_Ri...	ROI004	Group A	標準	0.03397
6	<input checked="" type="checkbox"/>	180406_Ri...	ROI005	Group A	標準	0.01132
7	<input checked="" type="checkbox"/>	180406_Ri...	ROI006	Group A	標準	0.00340
8	<input checked="" type="checkbox"/>	180406_Ri...	ROI007	Group A	標準	0.00113
9	<input checked="" type="checkbox"/>	180406_Ri...	ROI008	Group A	標準	0.00000

検量線タイプ  濃度単位

インポート    エクスポート

サンプルタイプ設定を適用

CSVファイルをインポートして検量線用の試料の濃度値を入力することができます

	A	B	C	D	E	F	G
1	646.031	Amiodarone					
2		Slide2-2_CAll		Group A	Unknown	0	
3		180406_Ri ROI001		Group A	Standard	1.13234	
4		180406_Ri ROI002		Group A	Standard	0.3397	
5		180406_Ri ROI003		Group A	Standard	0.11323	
6		180406_Ri ROI004		Group A	Standard	0.03397	
7		180406_Ri ROI005		Group A	Standard	0.01132	
8		180406_Ri ROI006		Group A	Standard	0.0034	
9		180406_Ri ROI007		Group A	Standard	0.00113	
10		180406_Ri ROI008		Group A	Standard	0	
11	611.0073	610					
12		Slide2-2_CAll		Group A	Unknown	0	
13		180406_Ri ROI001		Group A	Standard	0.5	

対象化合物が複数ある場合は試料タイプを一括して適用できます。



# 検量線の設定6

検量線の設定

検量線リスト

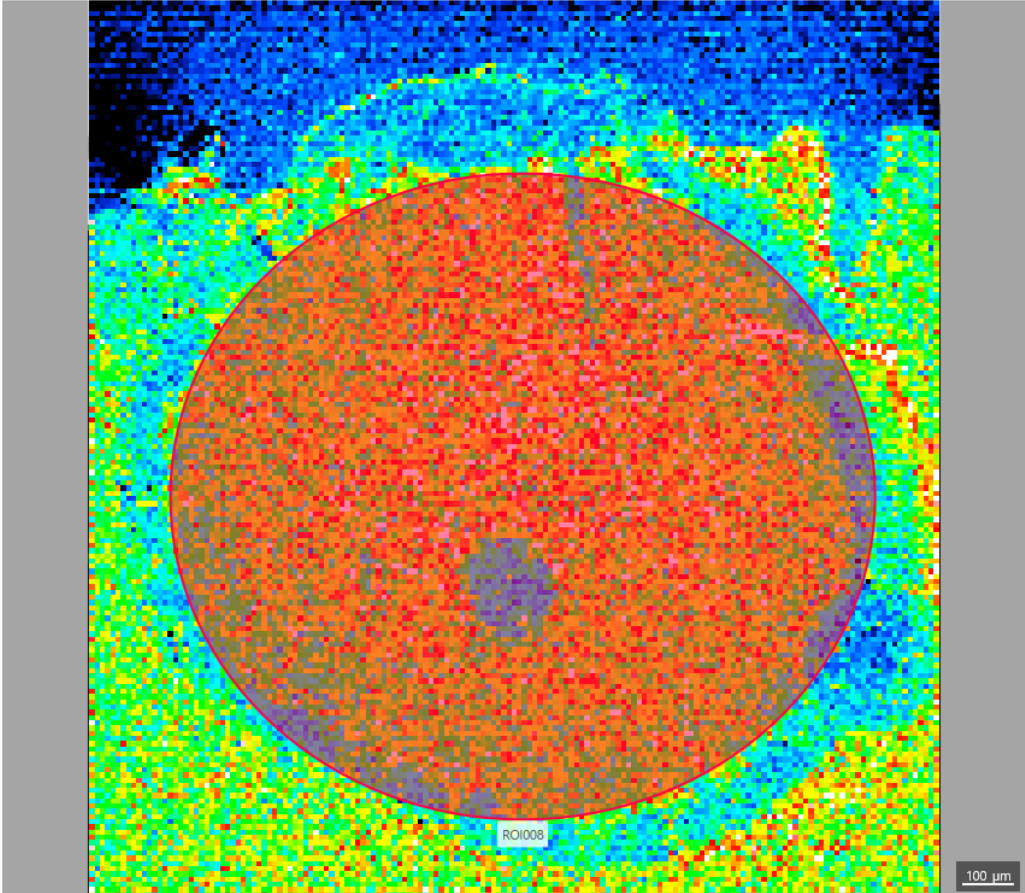
No.	m/z	化合物名	組成式	アダクトイオン	マトリックス	極性
1	646.03097	Amiodarone	C25H29I2NO3	M+H	Any	ポジティブ

ROIリスト

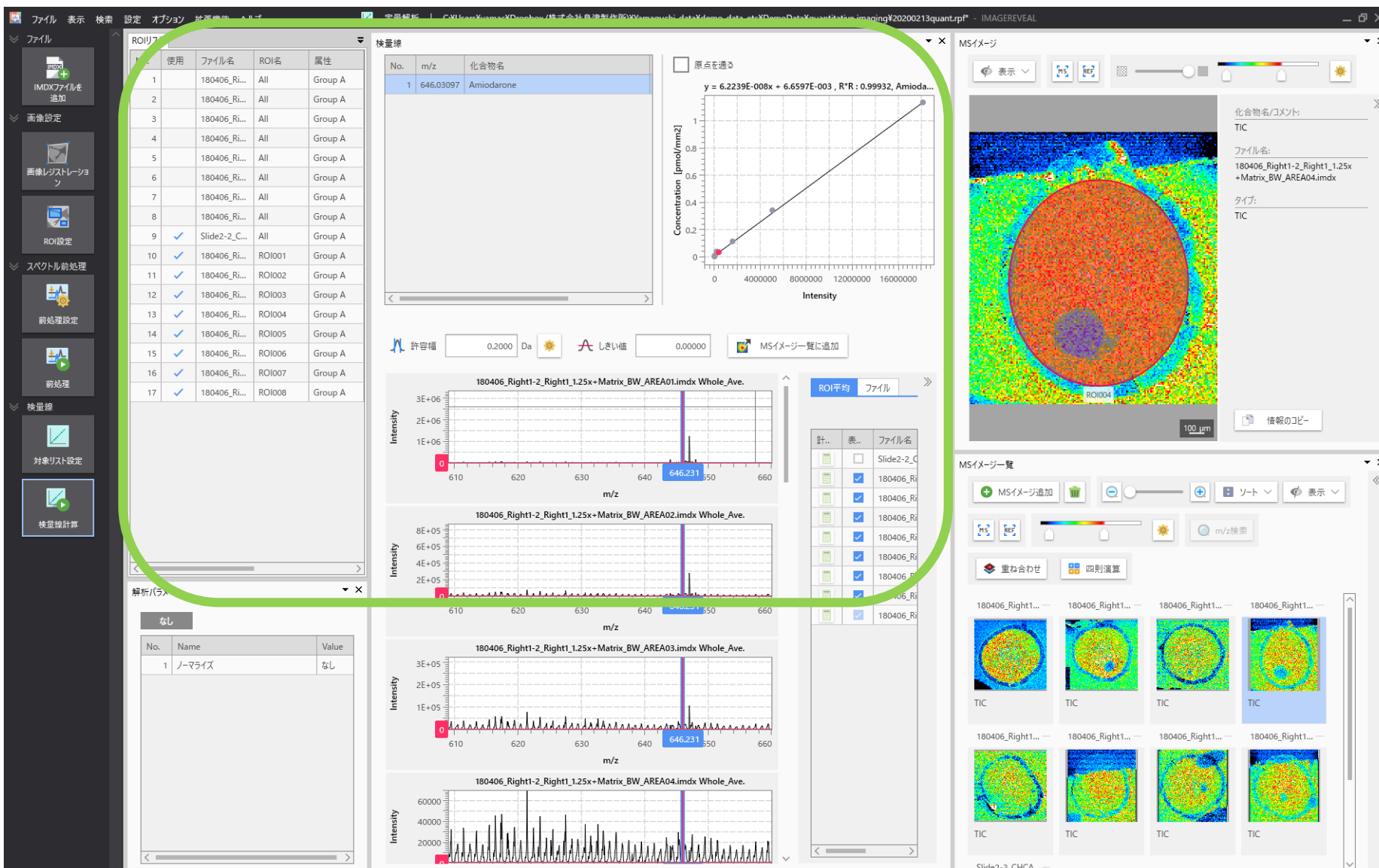
No.	使用	ファイル名	ROI名	属性	試料タイプ	濃度
1	<input checked="" type="checkbox"/>	Slide2-2_C...	All	Group A	未知	0.00000
2	<input checked="" type="checkbox"/>	180406_Ri...	ROI001	Group A	標準	1.13234
3	<input checked="" type="checkbox"/>	180406_Ri...	ROI002	Group A	標準	0.33970
4	<input checked="" type="checkbox"/>	180406_Ri...	ROI003	Group A	標準	0.11323
5	<input checked="" type="checkbox"/>	180406_Ri...	ROI004	Group A	標準	0.03397
6	<input checked="" type="checkbox"/>	180406_Ri...	ROI005	Group A	標準	0.01132
7	<input checked="" type="checkbox"/>	180406_Ri...	ROI006	Group A	標準	0.00340
8	<input checked="" type="checkbox"/>	180406_Ri...	ROI007	Group A	標準	0.00113
9	<input checked="" type="checkbox"/>	180406_Ri...	ROI008	Group A	標準	0.00000

検量線タイプ: 線形 | 濃度単位: pmol/mm2

実行ボタンをクリックします



# 検量線結果1



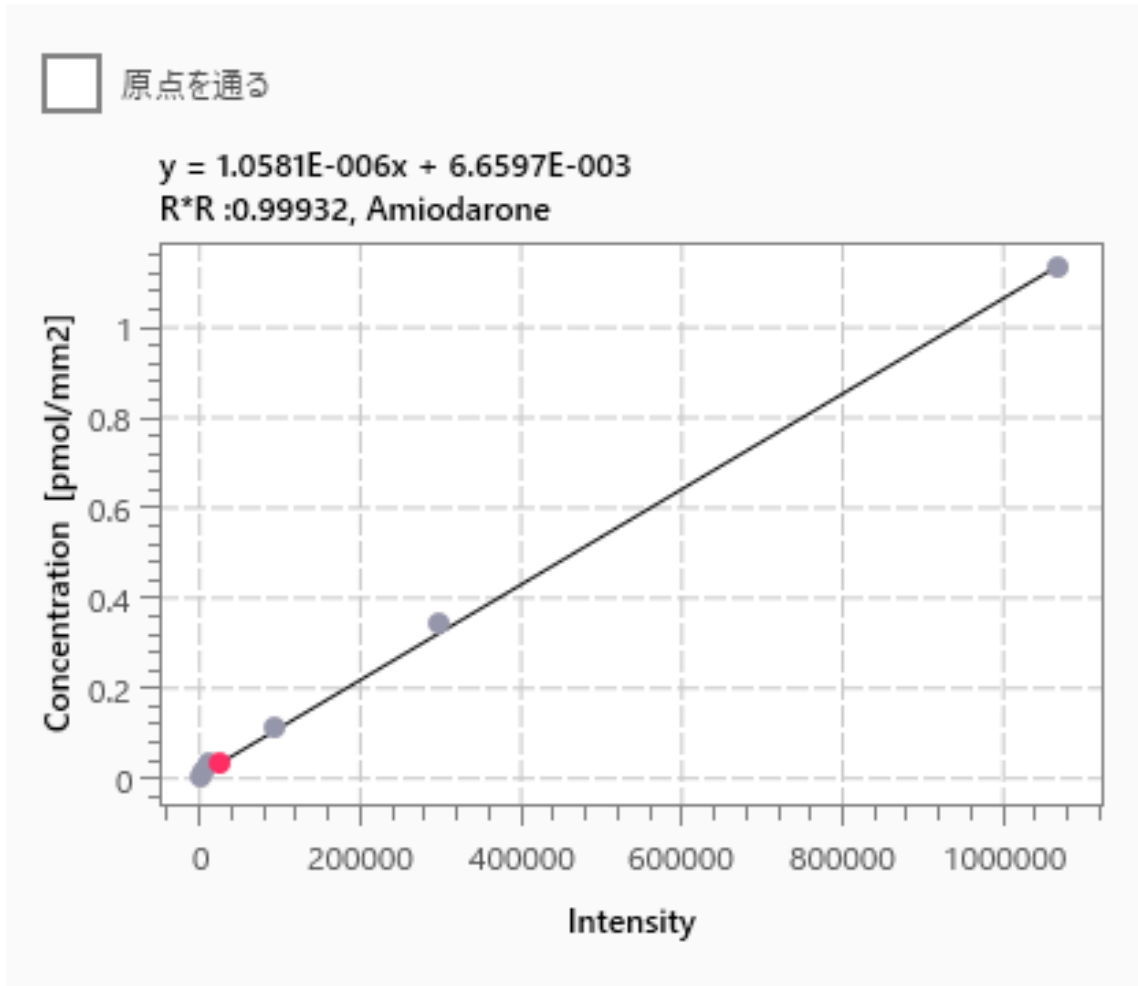


# 定量結果2 濃度計算結果

No.	使用	ファイル名	ROI名	属性	データ点数	試料タイプ	濃度	推定濃度	正確さ(%)	強度	ノーマライズ後の強度	(BPC/X
1		Liver_Qua...	All	Group A	25265		0.00000	0.00000				
2		Liver_Qua...	All	Group A	25265		0.00000	0.00000				
3		Liver_Qua...	All	Group A	25265		0.00000	0.00000				
4		Liver_Qua...	All	Group A	29177		0.00000	0.00000				
5		Liver_Qua...	All	Group A	25265		0.00000	0.00000				
6		Liver_Qua...	All	Group A	28036		0.00000	0.00000				
7		Liver_Qua...	All	Group A	28036		0.00000	0.00000				
8		Liver_Qua...	All	Group A	28036		0.00000	0.00000	0.00	0.00000	0.00000	
9	✓	Liver_Qua...	All	Group A	50000	未知	0.00000	0.03333	0.00	25208.86136	25208.86136	
10	✓	Liver_Qua...	ROI001	Group A	12101	標準	1.13234	1.13737	100.44	1068664.62739	1068664.62739	
11	✓	Liver_Qua...	ROI002	Group A	10845	標準	0.33970	0.32397	95.37	299902.19697	299902.19697	
12	✓	Liver_Qua...	ROI003	Group A	11976	標準	0.11323	0.10689	94.40	94731.26520	94731.26520	
13	✓	Liver_Qua...	ROI004	Group A	12762	標準	0.03397	0.02117	62.33	13717.38407	13717.38407	
14	✓	Liver_Qua...	ROI005	Group A	11993	標準	0.01132	0.01441	127.28	7323.76270	7323.76270	
15	✓	Liver_Qua...	ROI006	Group A	10722	標準	0.00340	0.00998	293.52	3137.72400	3137.72400	
16	✓	Liver_Qua...	ROI007	Group A	14618	標準	0.00113	0.01120	991.37	4293.56336	4293.56336	
17	✓	Liver_Qua...	ROI008	Group A	13420	標準	0.00000	0.01009	∞	3245.65786	3245.65786	

ROIリスト内に計算結果が表示されます。  
この例では未知試料全体の平均スペクトル内のピークの濃度値が0.03333となっています。

# 定量結果3 検量線

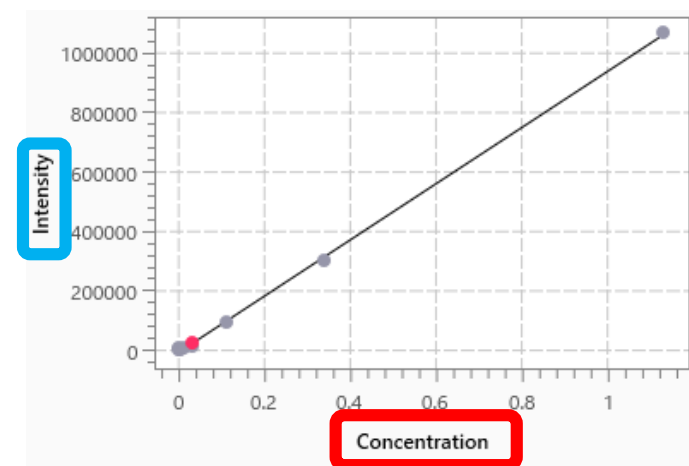
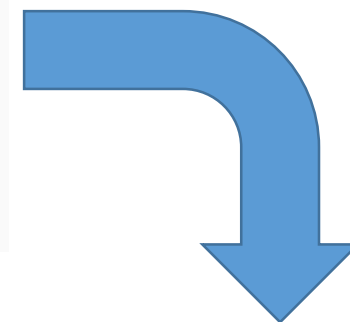
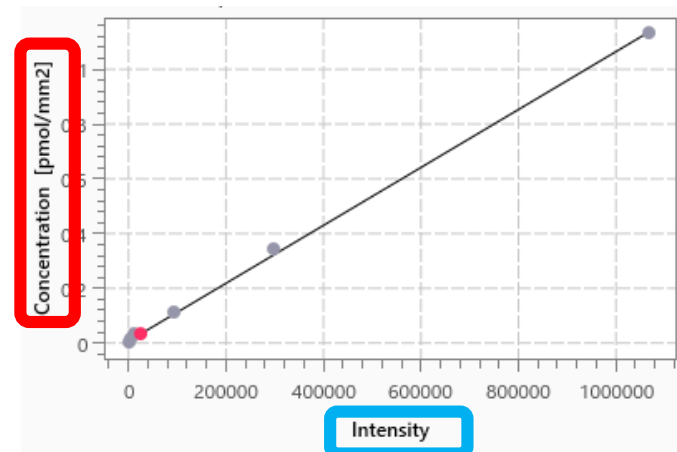
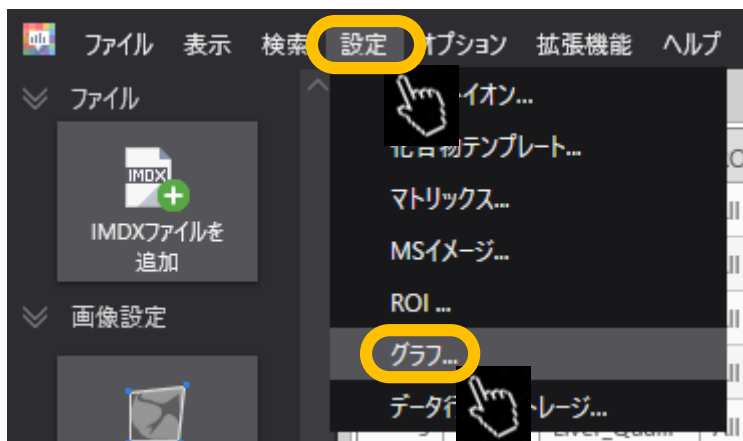


検量線が表示されます。  
灰色の点が検量線用の標品、  
赤色が未知試料  
です。  
この結果は検量線の条件を変更すること  
で変わります。

# 定量結果3.1 検量線のオプション

検量線のグラフの軸を入れ替えることができます。

[設定]→[グラフ]



# 定量結果4 検量線条件



ピーク面積を計算する際の[許容幅]と[しきい値]をスペクトル上で変更できます。変更すると計算結果も追隨して変更されます。

# 注意点

- 動作が重い時はスペクトルの表示を減らすか消してください。
- 定量解析モードでは、複数のデータを扱う際にその[サンプリング間隔]が同じであることを前提にしています。
  - [サンプリング間隔]は[ROIリスト]上で右クリック、[ファイルパラメータ表示]を選択していただくと[変換パラメータ]内で確認できます。