定量解析の方法

必要なデータ

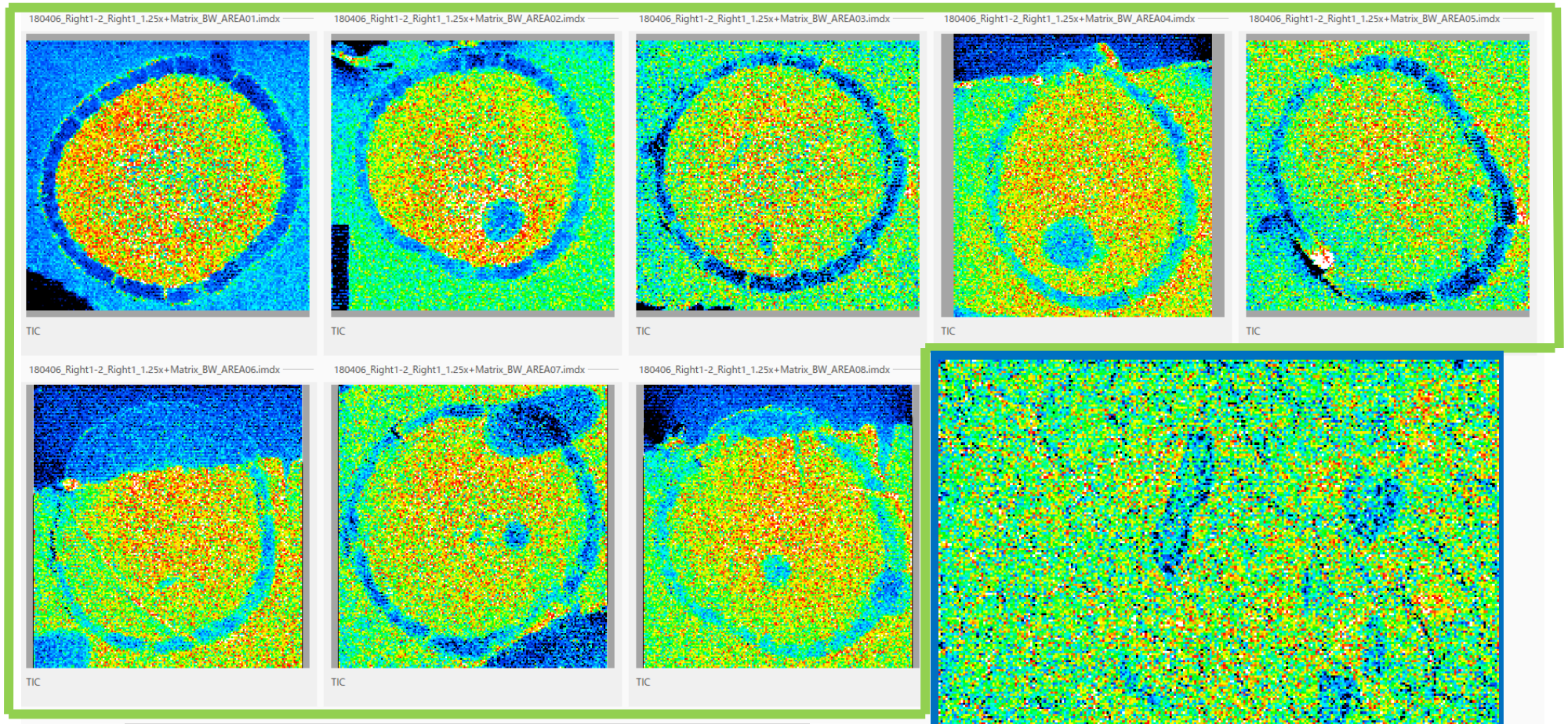
- 検量線作成データとその情報

- 定量したいデータ

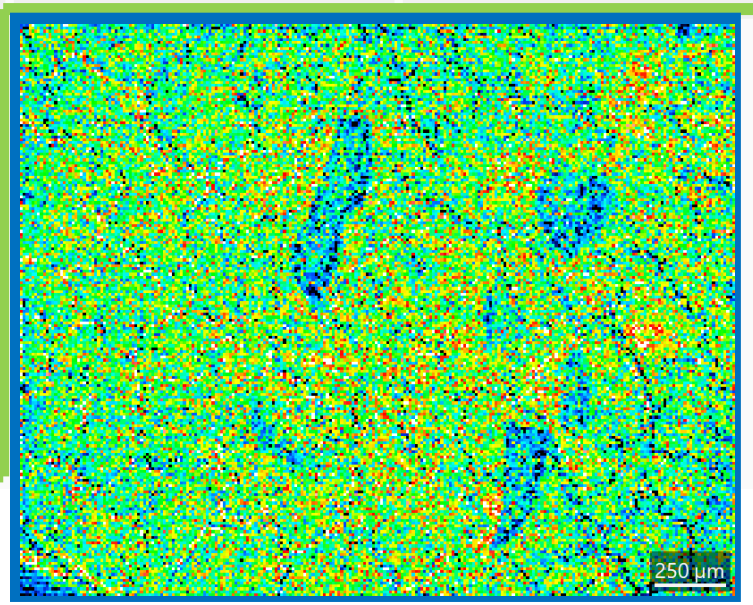
※データファイルは一つでも複数に分かれていてもかまいません。

※※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：

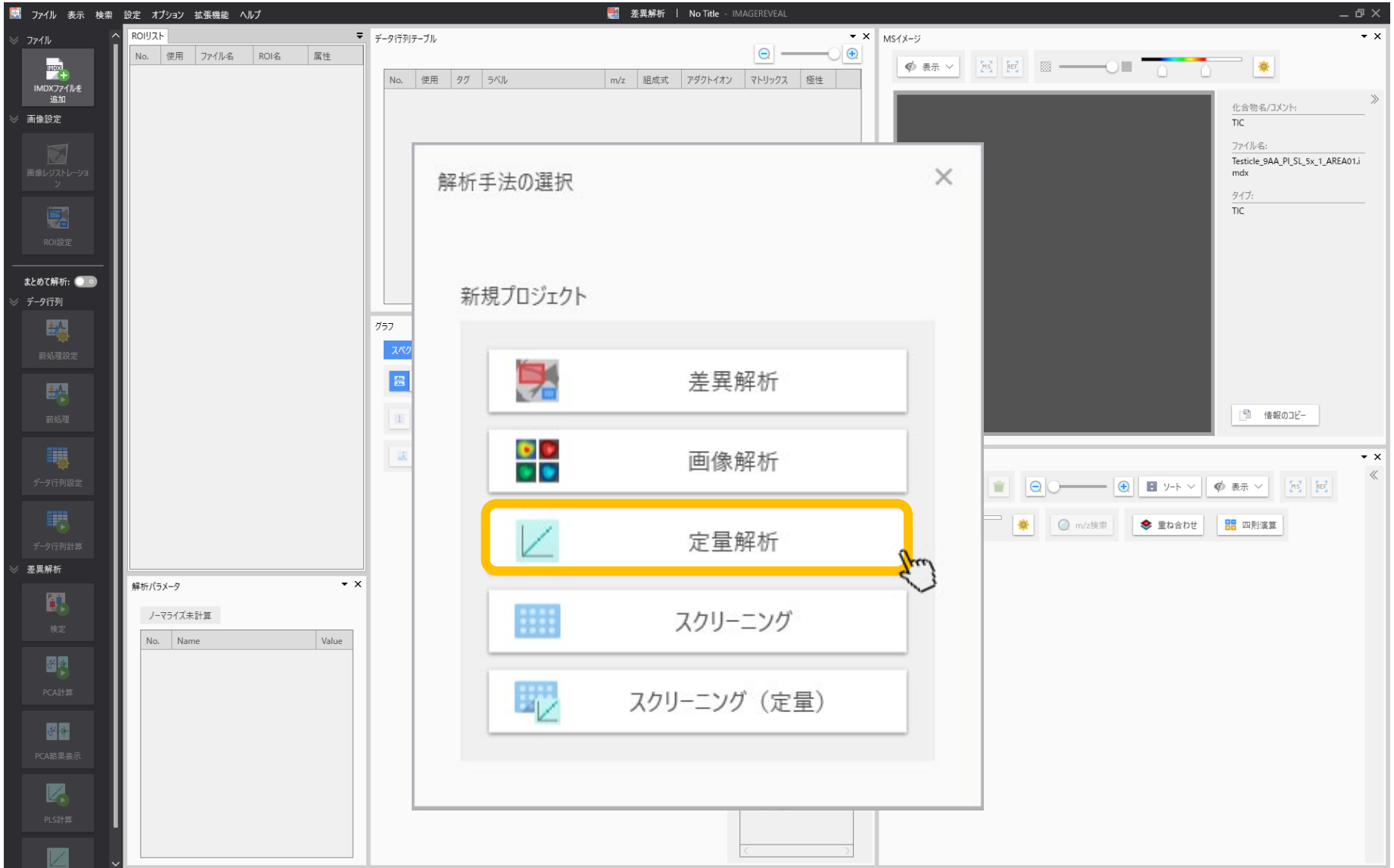


検量線作成用の既知濃度データ 8個

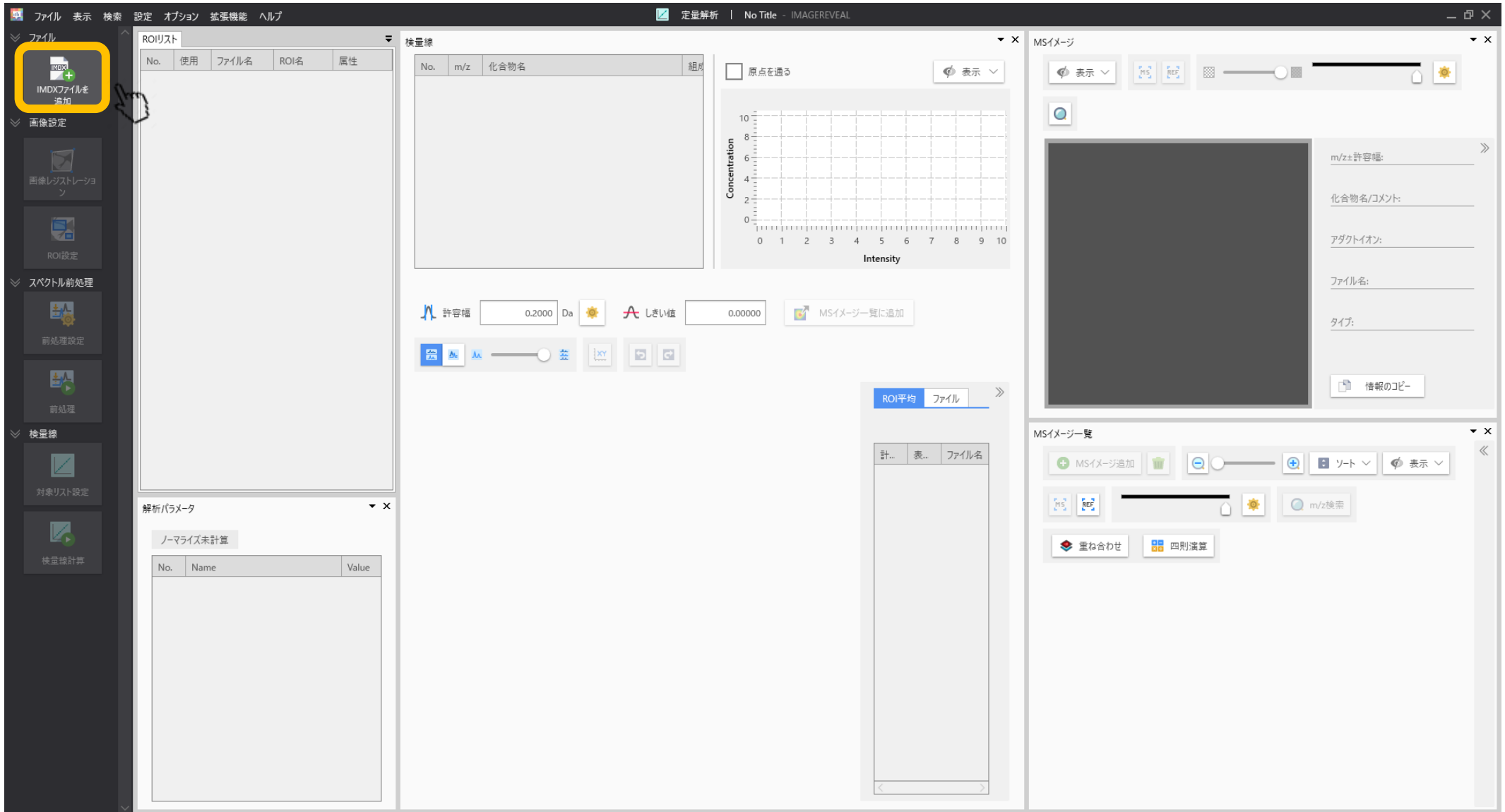


定量したいデータ 1個

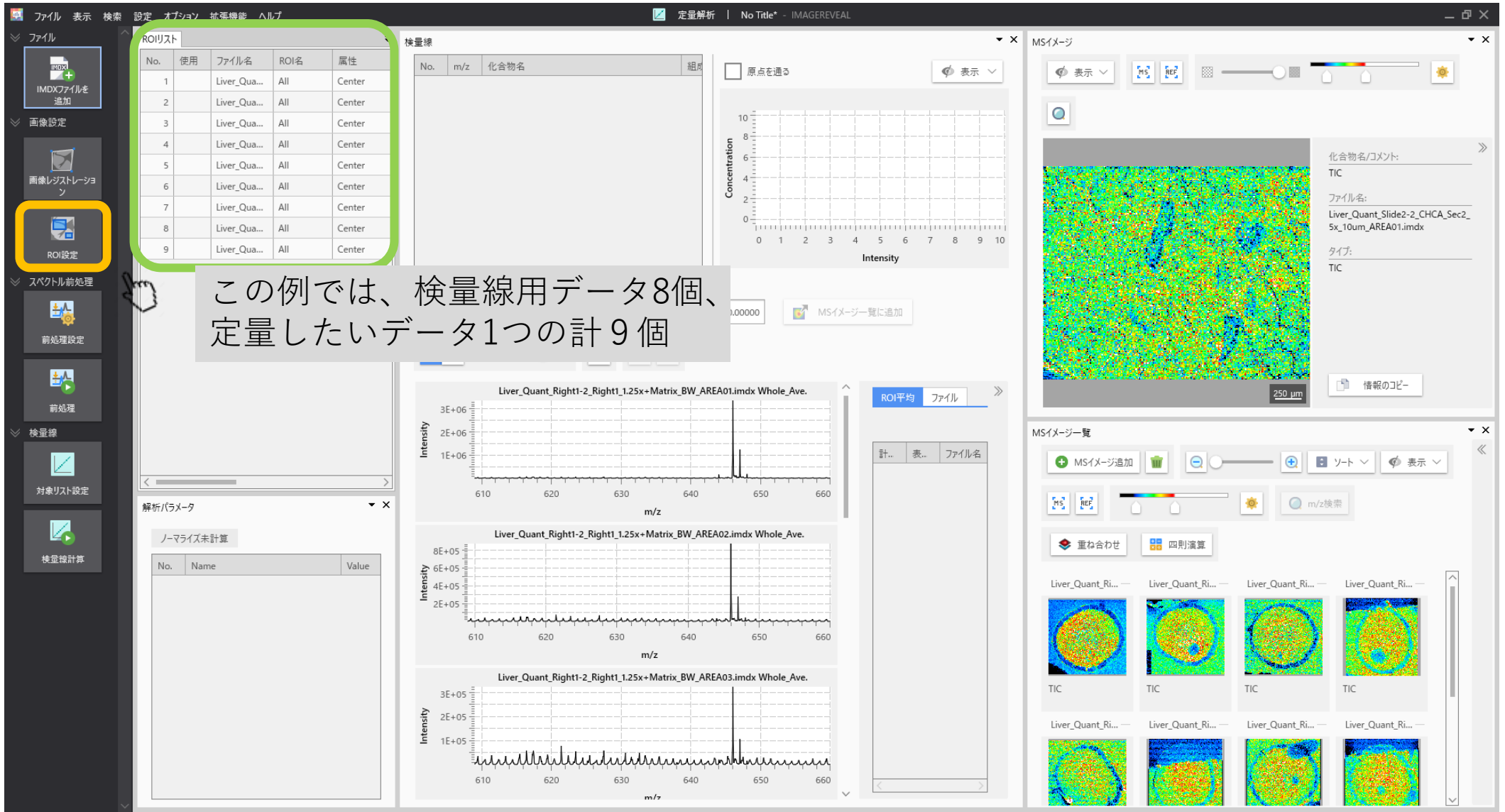
[定量解析]を選択



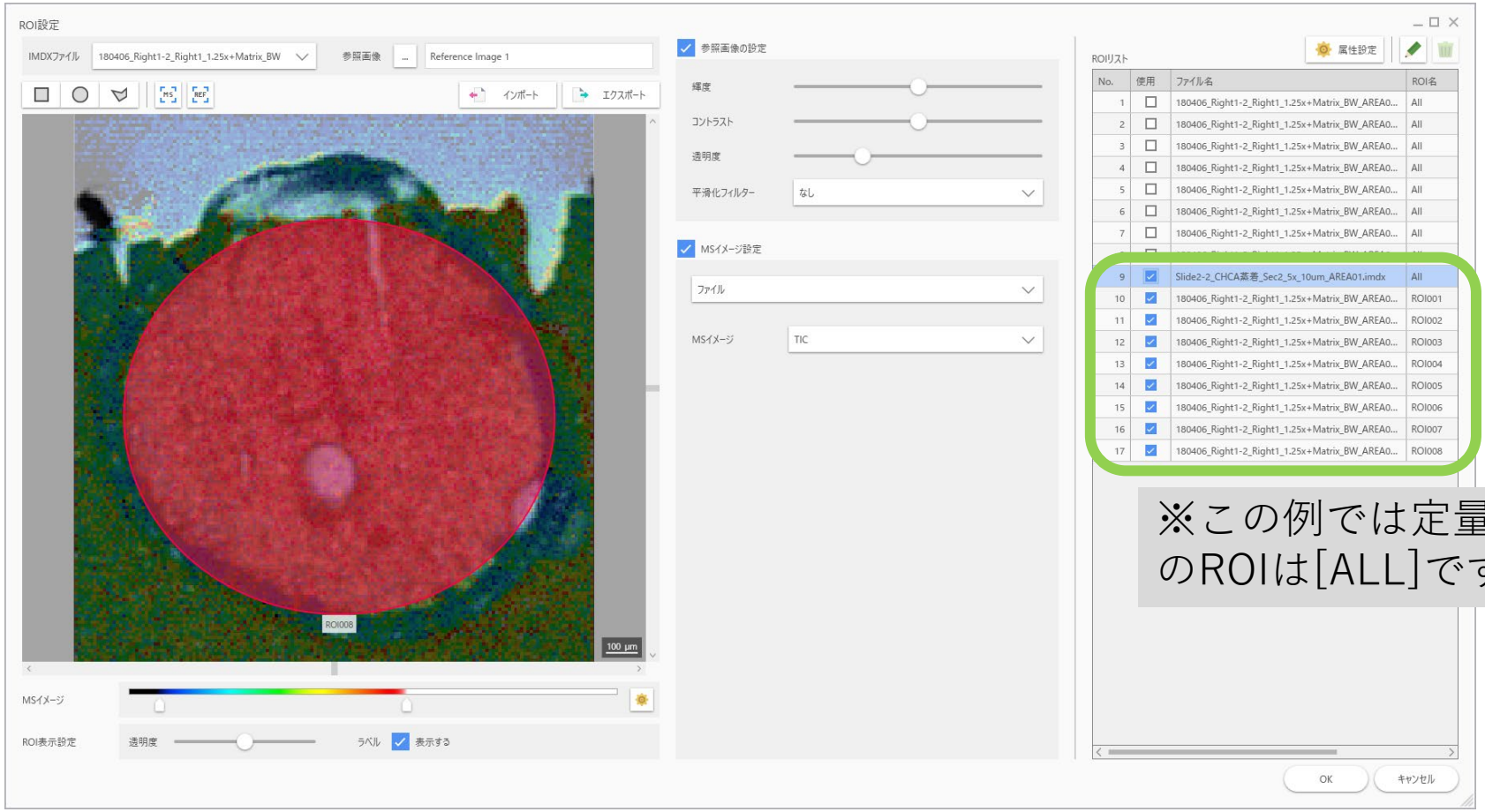
定量用画面：IMDXファイルを追加する



データが読み込まれた

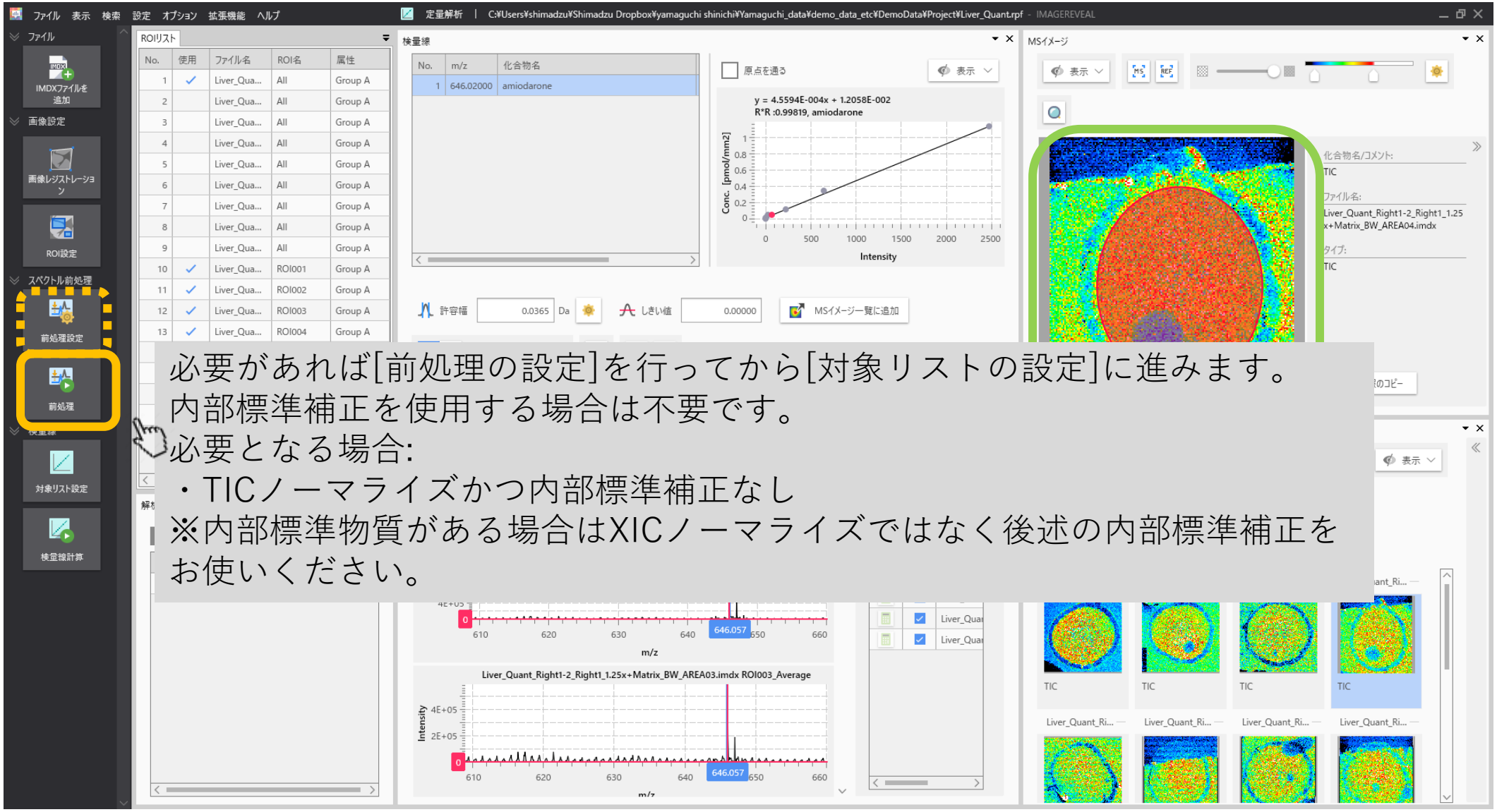

ファイル 表示 検索 設定 オプション 拡張機能 ヘルプ
定量解析 | No Title* - IMAGEREVEAL
ファイル
IMDXファイルを追加
画像設定
画像レジストレーション
ROI設定
スペクトル前処理
前処理設定
前処理
検量線
対象リスト設定
検量線計算
ROIリスト
No. 使用 ファイル名 ROI名 属性
1 Liver_Qua... All Center
2 Liver_Qua... All Center
3 Liver_Qua... All Center
4 Liver_Qua... All Center
5 Liver_Qua... All Center
6 Liver_Qua... All Center
7 Liver_Qua... All Center
8 Liver_Qua... All Center
9 Liver_Qua... All Center
検量線
No. m/z 化合物名
原点を通る
表示
Concentration
Intensity
MSイメージ一覧に追加
この例では、検量線用データ8個、
定量したいデータ1つの計９個
MSイメージ
表示
化合物名/コメント:
TIC
ファイル名:
Liver_Quant_Slide2-2_CHCA_Sec2_5x_10um_AREA01.imdx
タイプ:
TIC
250 µm
情報のコピー
Liver_Quant_Right1-2_Right1_1.25x+Matrix_BW_AREA01.imdx Whole_Ave.
Liver_Quant_Right1-2_Right1_1.25x+Matrix_BW_AREA02.imdx Whole_Ave.
Liver_Quant_Right1-2_Right1_1.25x+Matrix_BW_AREA03.imdx Whole_Ave.
Intensity
m/z
解析パラメータ
ノーマライズ未計算
No. Name Value
ROI平均 ファイル
計.. 表.. ファイル名
MSイメージ一覧
MSイメージ追加
ソート
表示
m/z検索
重ね合わせ
四則演算
TIC

各検量線用試料のROIを設定する

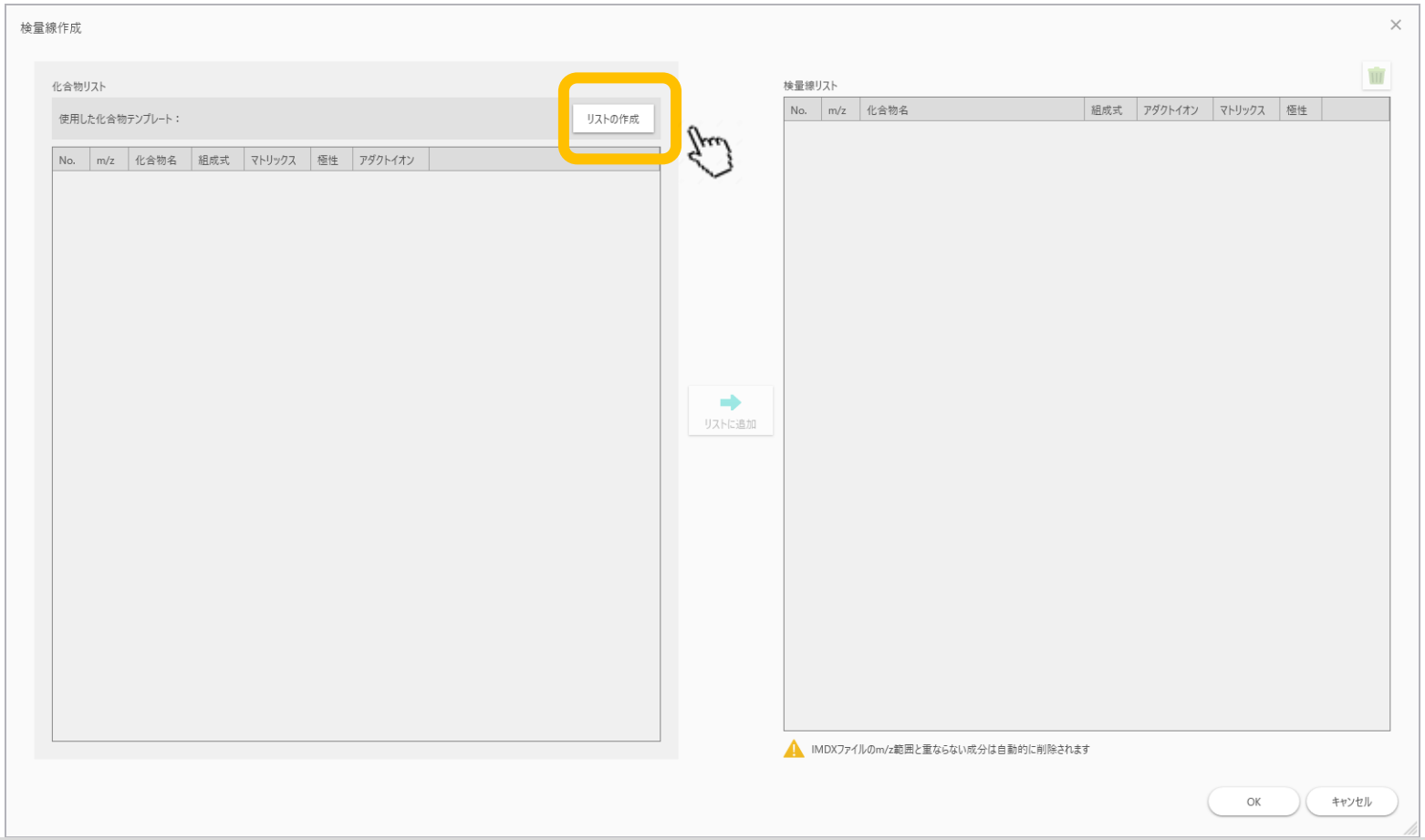


※この例では定量したいデータのROIは[ALL]です

ROIが設定された状態



対象化合物の設定1

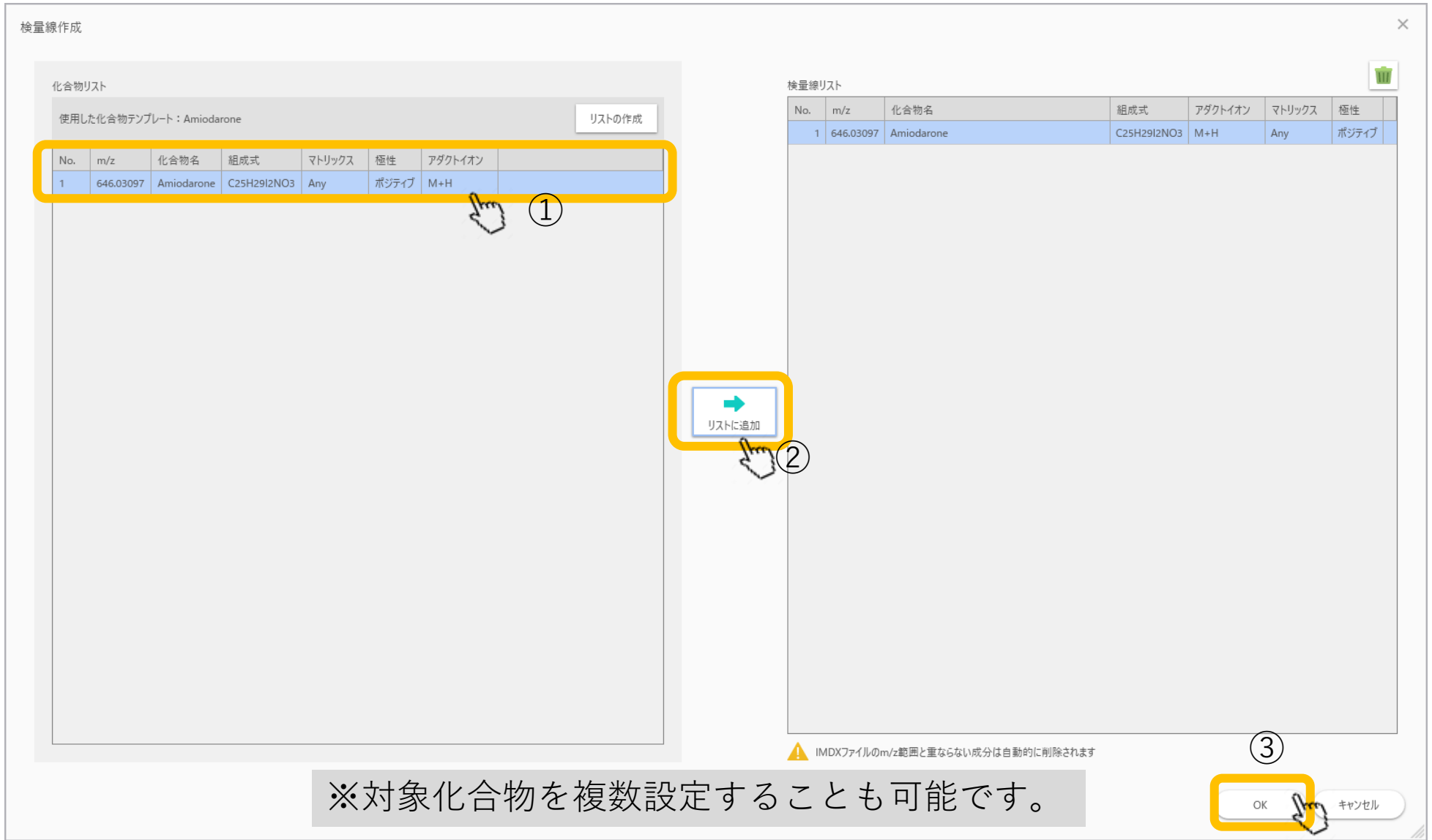


事前に対象化合物を化合物テンプレートに登録してください。
（“化合物テンプレート編集法”参照）

対象化合物の設定2

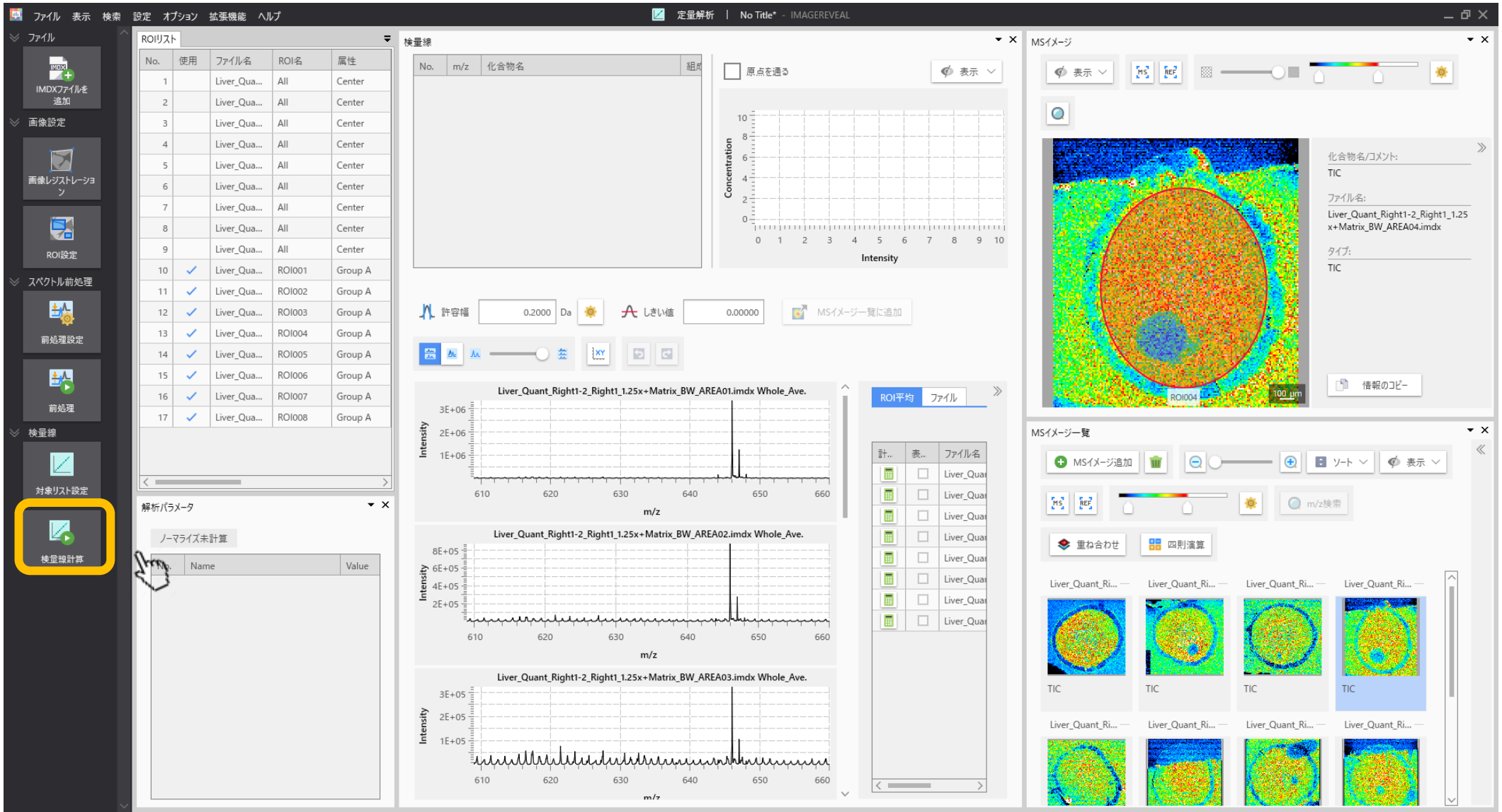
事前に作成した化合物テンプレートを選択

対象化合物の設定3



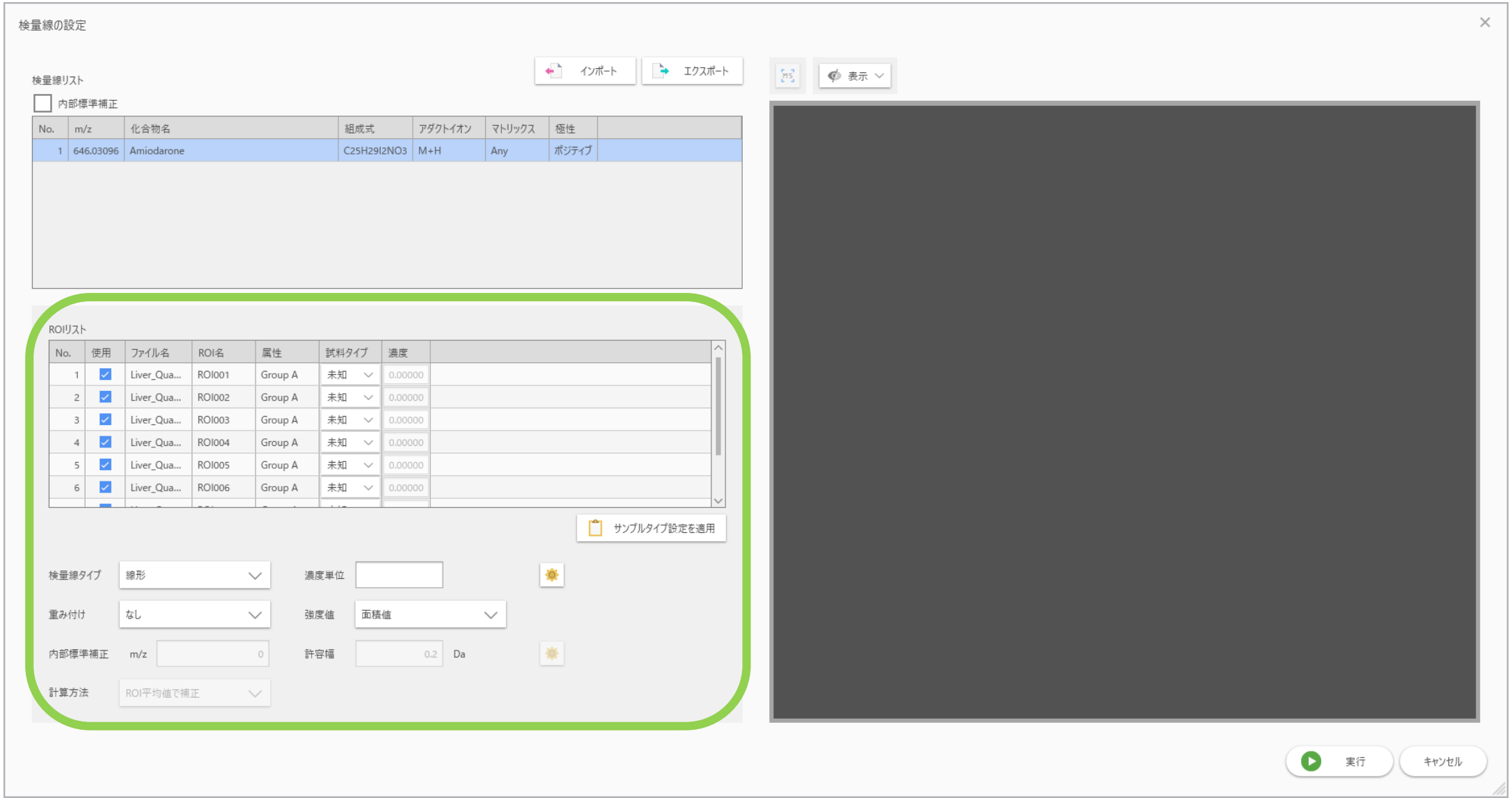
※対象化合物を複数設定することも可能です。

検量線の設定1

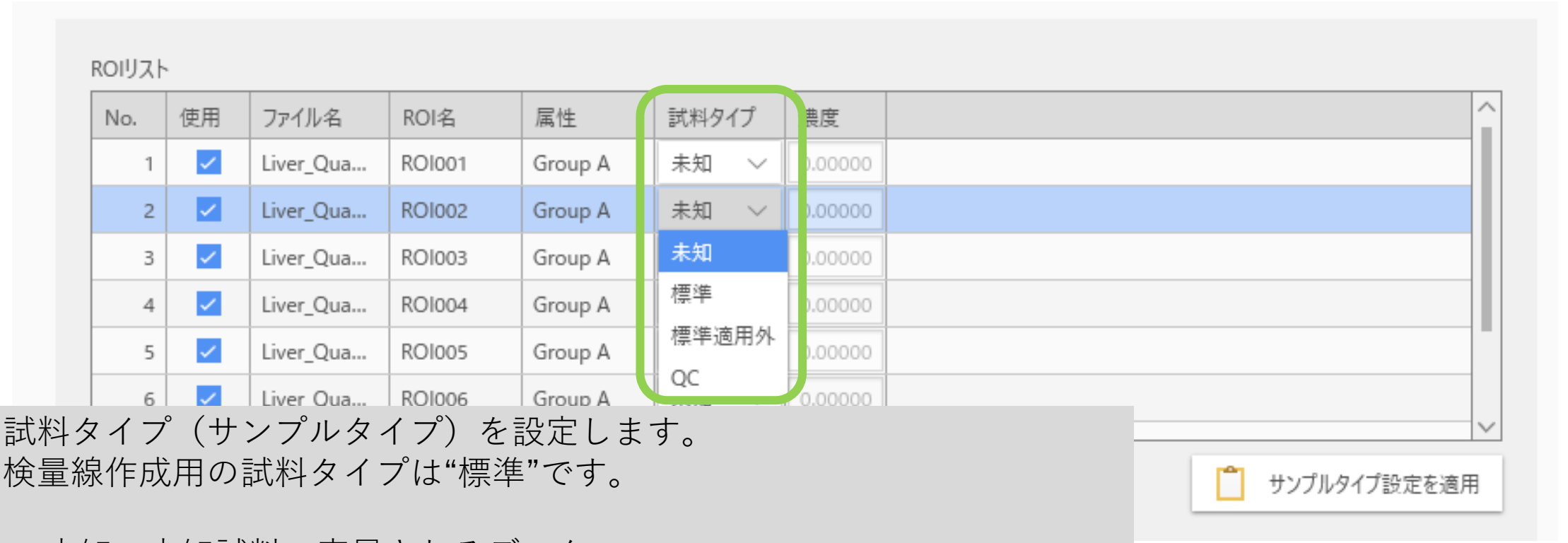

ファイル 表示 検索 設定 オプション 拡張機能 ヘルプ
定量解析 | No Title* - IMAGEREVEAL
ファイル
IMDXファイルを追加
画像設定
画像レジストレーション
ROI設定
スペクトル前処理
前処理設定
前処理
検量線
対象リスト設定
検量線計算
ROIリスト
No. 使用 ファイル名 ROI名 属性
検量線
No. m/z 化合物名
原点を通る
表示
Concentration
Intensity
許容幅 0.2000 Da
しきい値 0.00000
MSイメージ一覧に追加
Liver_Quant_Right1-2_Right1_1.25x+Matrix_BW_AREA01.imdx Whole_Ave.
Liver_Quant_Right1-2_Right1_1.25x+Matrix_BW_AREA02.imdx Whole_Ave.
Liver_Quant_Right1-2_Right1_1.25x+Matrix_BW_AREA03.imdx Whole_Ave.
Intensity
m/z
ROI平均 ファイル
解析パラメータ
ノーマライズ未計算
No. Name Value
MSイメージ
表示
化合物名/コメント:
TIC
ファイル名:
Liver_Quant_Right1-2_Right1_1.25x+Matrix_BW_AREA04.imdx
タイプ:
TIC
ROI004
100 μm
情報のコピー
MSイメージ一覧
MSイメージ追加
ソート
表示
m/z検索
重ね合わせ
四則演算

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3



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。

- 未知：未知試料。定量されるデータ。
- 標準：検量線作成用の既知濃度の標準試料
- 標準適用外：標準試料のうち検量線作成に使用しないもの
- QC（Quality Control）：検量線精度確認用の既知濃度の試料

複数行選択して一括で設定できます。

検量線の設定4

検量線用の試料の濃度値を入力します。

検量線の設定5　その他の設定

検量線タイプ：線形、両対数が選択可能です。

濃度単位：濃度として表示される文字列です。任意の文字列が入力可能です。

重み付け：検量線計算の重み付けの設定です。信号強度に依存した重みの設定が可能です。

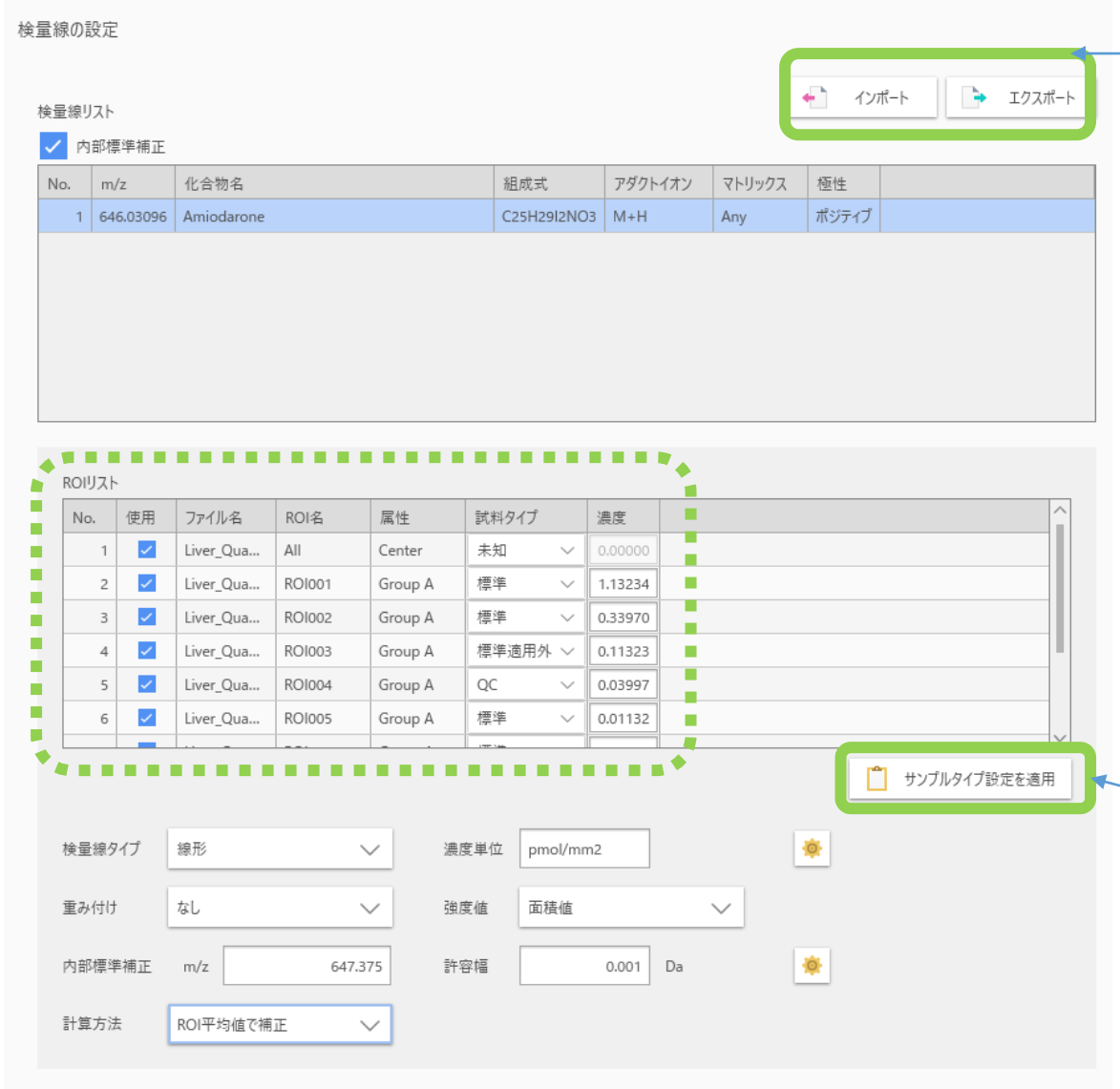
強度値：信号強度の計算方法の設定です。通常面積値をお使いください。

内部標準補正：上部の“内部標準補正”をチェックすると入力可能になります。内部標準物質のm/zと許容幅を設定します。

計算方法：内部標準補正は以下の方法が選択可能です。

- ROIの平均スペクトルを基に計算
- 一点（画素単位)ごとに計算

検量線の設定5　入力補助機能

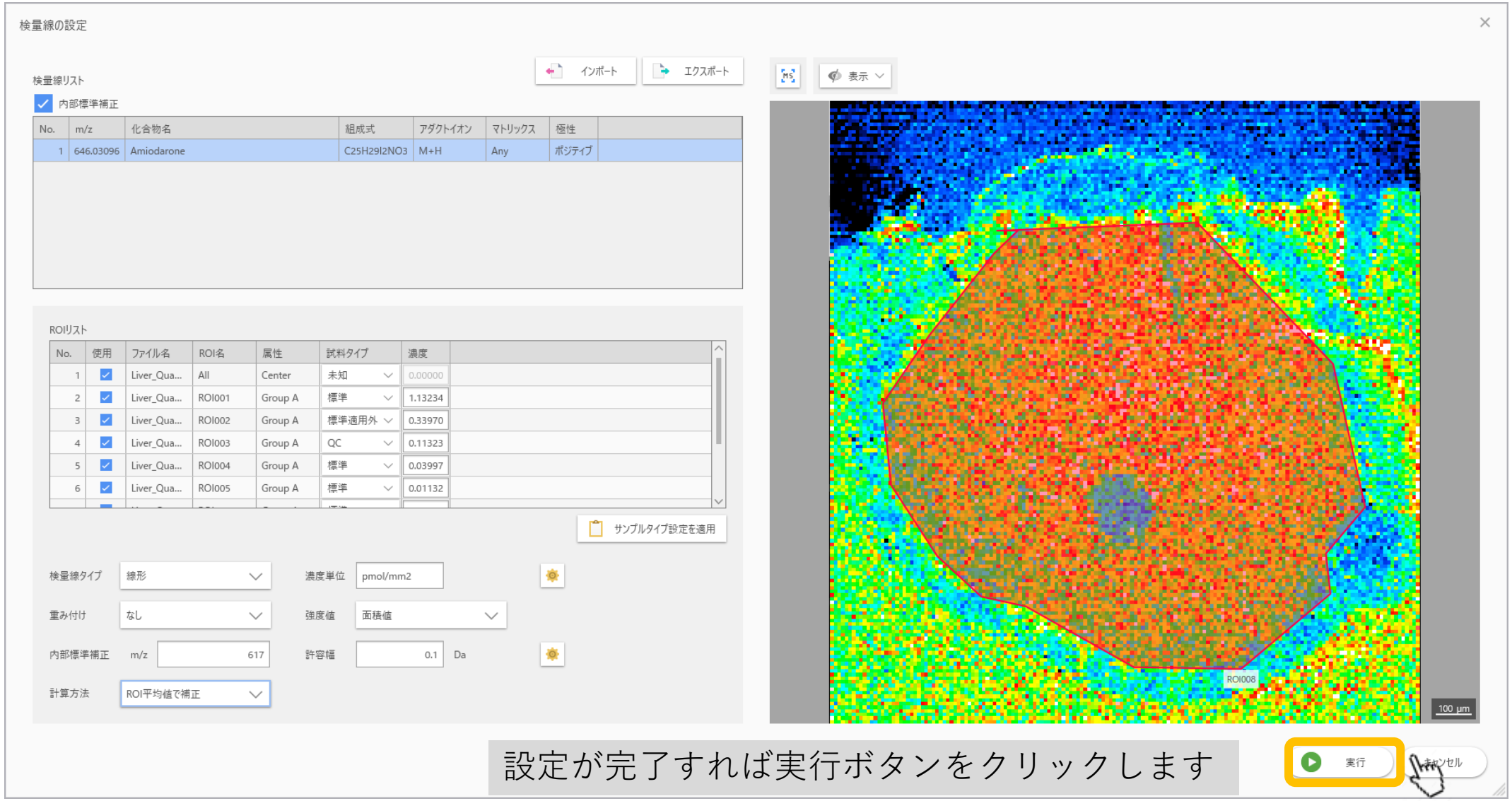


検量線の設定はインポート、エクスポートが可能です(csvファイル)。エクセルなどで編集する方が楽かもしれません。

	A	B	C	D	E	F
1	646.031	Amiodarone				
2		Slide2-2_(	All	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_(	All	Group A	Unknown	0
13		180406_Ri	ROI001	Group A	Standard	0.5

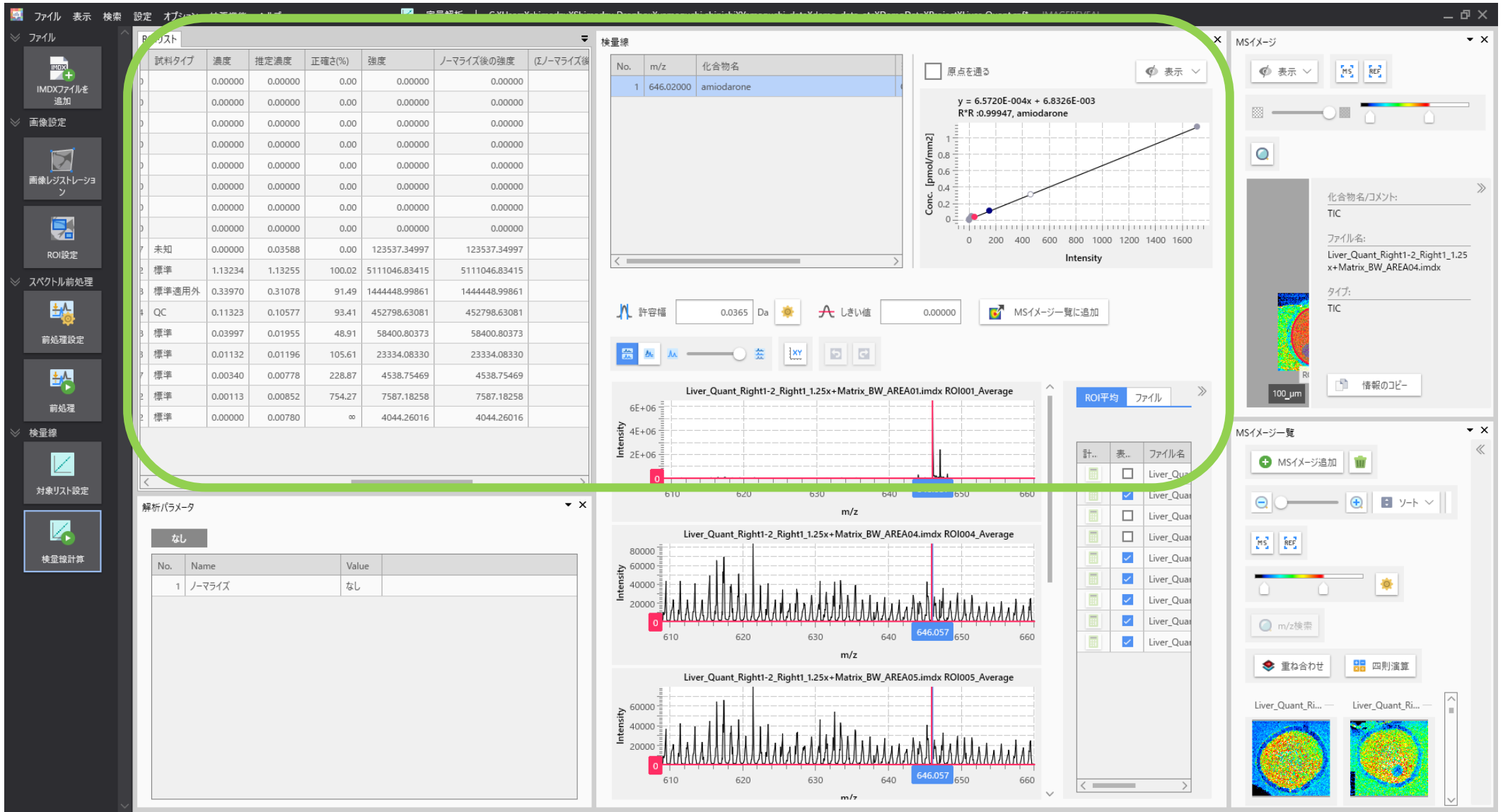
対象化合物が複数ある場合は試料タイプを一括して適用できます。

検量線の設定6

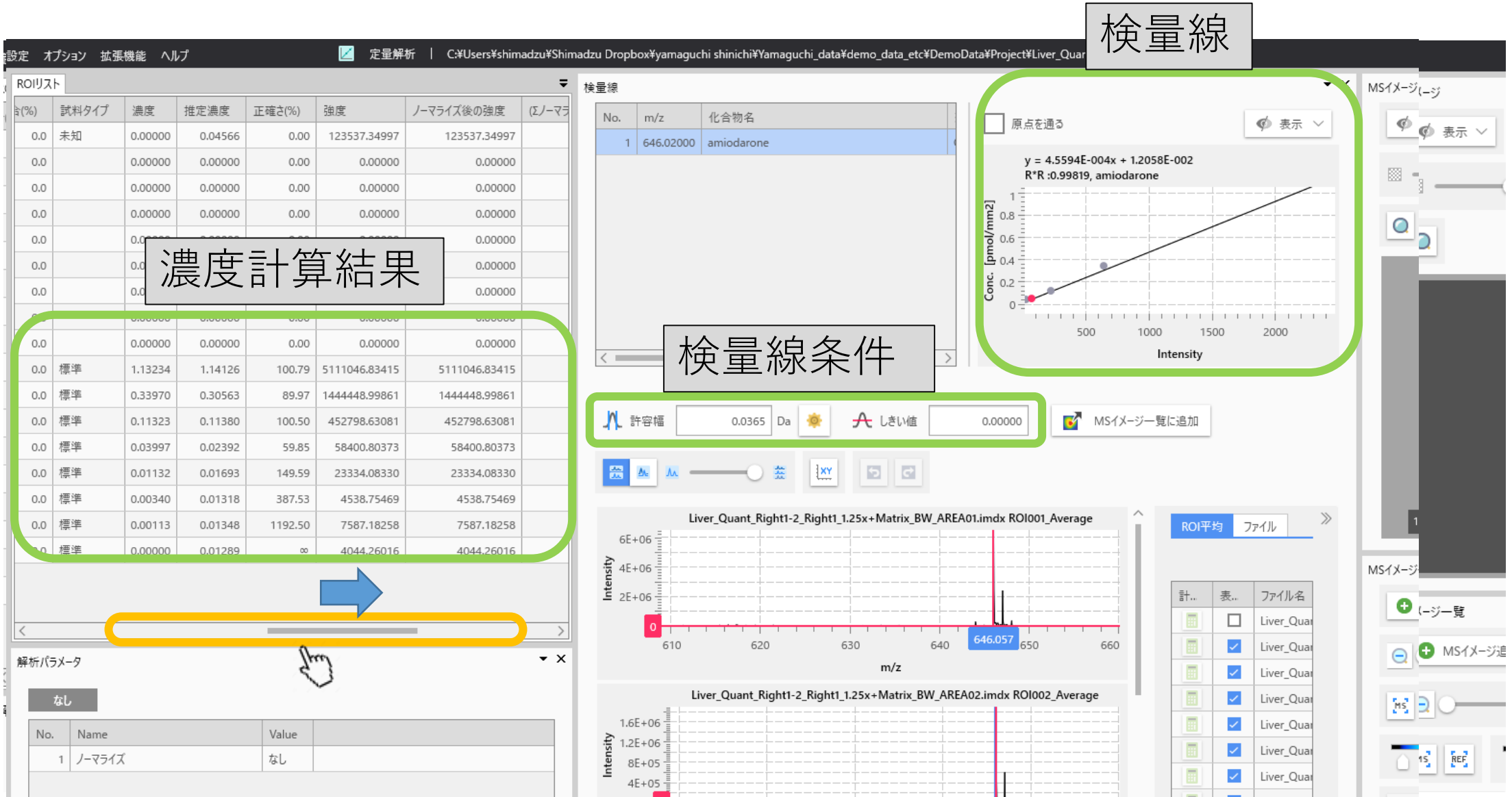


設定が完了すれば実行ボタンをクリックします

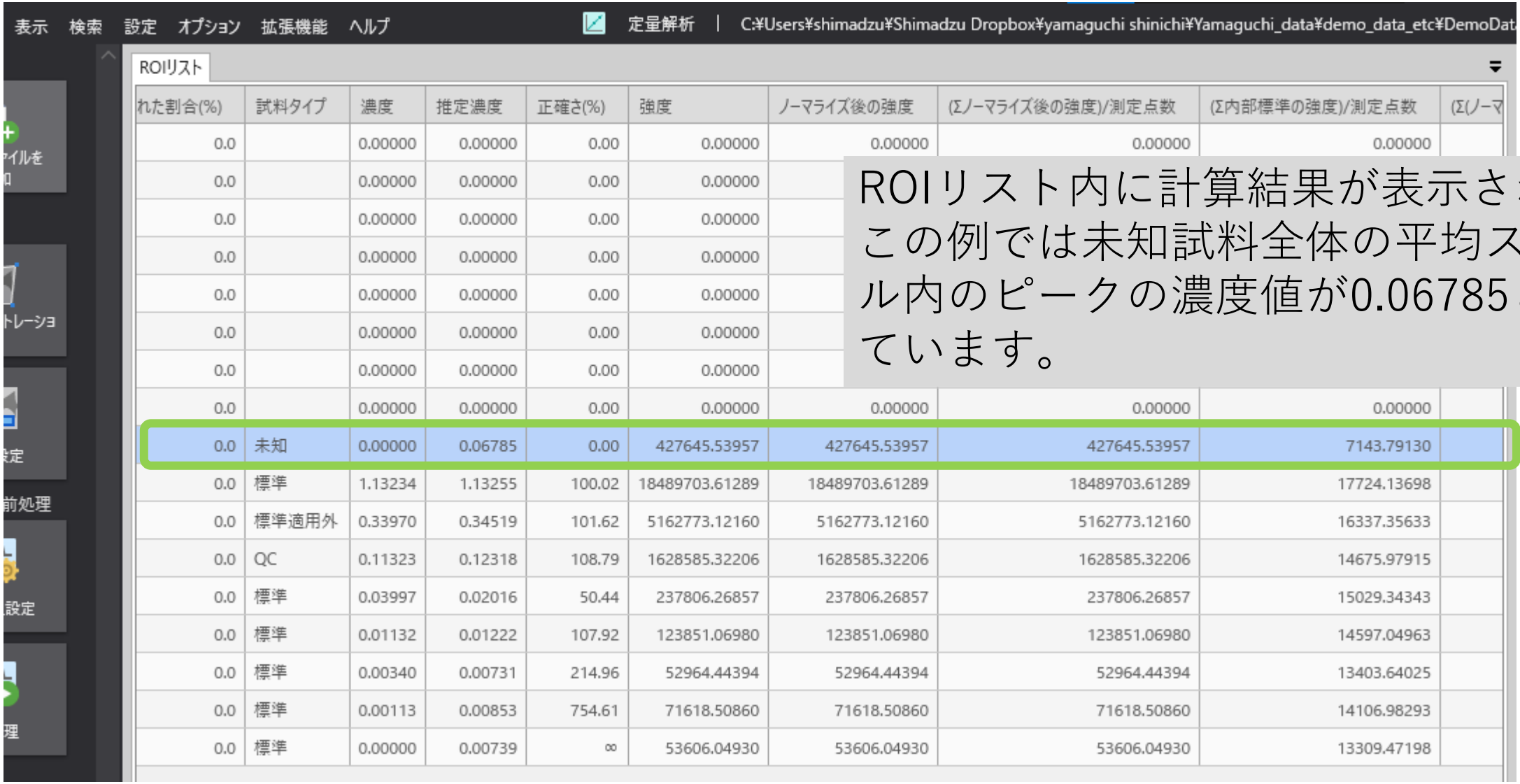
定量結果1


ファイル
表示
検索
設定
IMDXファイルを追加
画像設定
画像レジストレーション
ROI設定
スペクトル前処理
前処理設定
前処理
検量線
対象リスト設定
検量線計算
ROIリスト
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
未知
標準
標準適用外
QC
検量線
No.
m/z
化合物名
1
646.02000
amiodarone
原点を通る
表示
y = 6.5720E-004x + 6.8326E-003
R*R :0.99947, amiodarone
Conc. [pmol/mm2]
Intensity
許容幅
0.0365
Da
しきい値
0.00000
MSイメージ一覧に追加
Liver_Quant_Right1-2_Right1_1.25x+Matrix_BW_AREA01.imdx ROI001_Average
Liver_Quant_Right1-2_Right1_1.25x+Matrix_BW_AREA04.imdx ROI004_Average
Liver_Quant_Right1-2_Right1_1.25x+Matrix_BW_AREA05.imdx ROI005_Average
Intensity
m/z
646.057
ROI平均
ファイル
ファイル名
MSイメージ
化合物名/コメント:
TIC
ファイル名:
Liver_Quant_Right1-2_Right1_1.25x+Matrix_BW_AREA04.imdx
タイプ:
TIC
100_µm
情報のコピー
MSイメージ一覧
MSイメージ追加
ソート
m/z検索
重ね合わせ
四則演算
解析パラメータ
なし
No.
Name
Value
ノーマライズ
なし

定量結果2


検量線
濃度計算結果
検量線条件
定量解析
ROIリスト
検量線
解析パラメータ
y = 4.5594E-004x + 1.2058E-002
R*R :0.99819, amiodarone
Conc. [pmol/mm2]
Intensity
許容幅
0.0365
Da
しきい値
0.00000
MSイメージ一覧に追加
Liver_Quant_Right1-2_Right1_1.25x+Matrix_BW_AREA01.imdx ROI001_Average
Liver_Quant_Right1-2_Right1_1.25x+Matrix_BW_AREA02.imdx ROI002_Average
646.057
m/z
ROI平均
ファイル

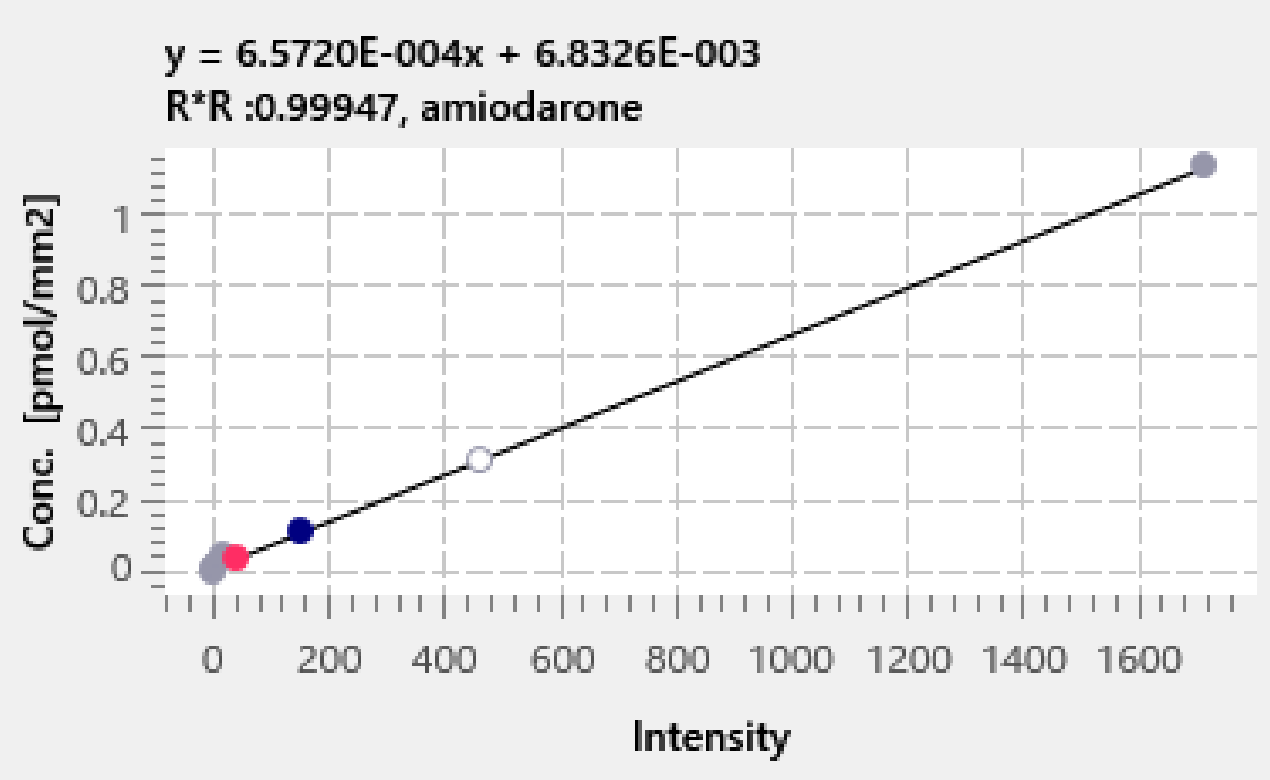
定量結果2.1　濃度計算結果



れた割合(%)	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	(Σノーマライズ後の強度)/測定点数	(Σ内部標準の強度)/測定点数	(Σ(ノーマ
0.0		0.00000	0.00000	0.00	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	
0.0		0.00000	0.00000	0.00	0.00000				
0.0		0.00000	0.00000	0.00	0.00000				
0.0		0.00000	0.00000	0.00	0.00000				
0.0		0.00000	0.00000	0.00	0.00000				
0.0		0.00000	0.00000	0.00	0.00000				
0.0		0.00000	0.00000	0.00	0.00000				
0.0		0.00000	0.00000	0.00	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	
0.0	未知	0.00000	0.06785	0.00	427645.53957	427645.53957	427645.53957	7143.79130	
0.0	標準	1.13234	1.13255	100.02	18489703.61289	18489703.61289	18489703.61289	17724.13698	
0.0	標準適用外	0.33970	0.34519	101.62	5162773.12160	5162773.12160	5162773.12160	16337.35633	
0.0	QC	0.11323	0.12318	108.79	1628585.32206	1628585.32206	1628585.32206	14675.97915	
0.0	標準	0.03997	0.02016	50.44	237806.26857	237806.26857	237806.26857	15029.34343	
0.0	標準	0.01132	0.01222	107.92	123851.06980	123851.06980	123851.06980	14597.04963	
0.0	標準	0.00340	0.00731	214.96	52964.44394	52964.44394	52964.44394	13403.64025	
0.0	標準	0.00113	0.00853	754.61	71618.50860	71618.50860	71618.50860	14106.98293	
0.0	標準	0.00000	0.00739	∞	53606.04930	53606.04930	53606.04930	13309.47198	

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0.06785となっています。

定量結果3　検量線



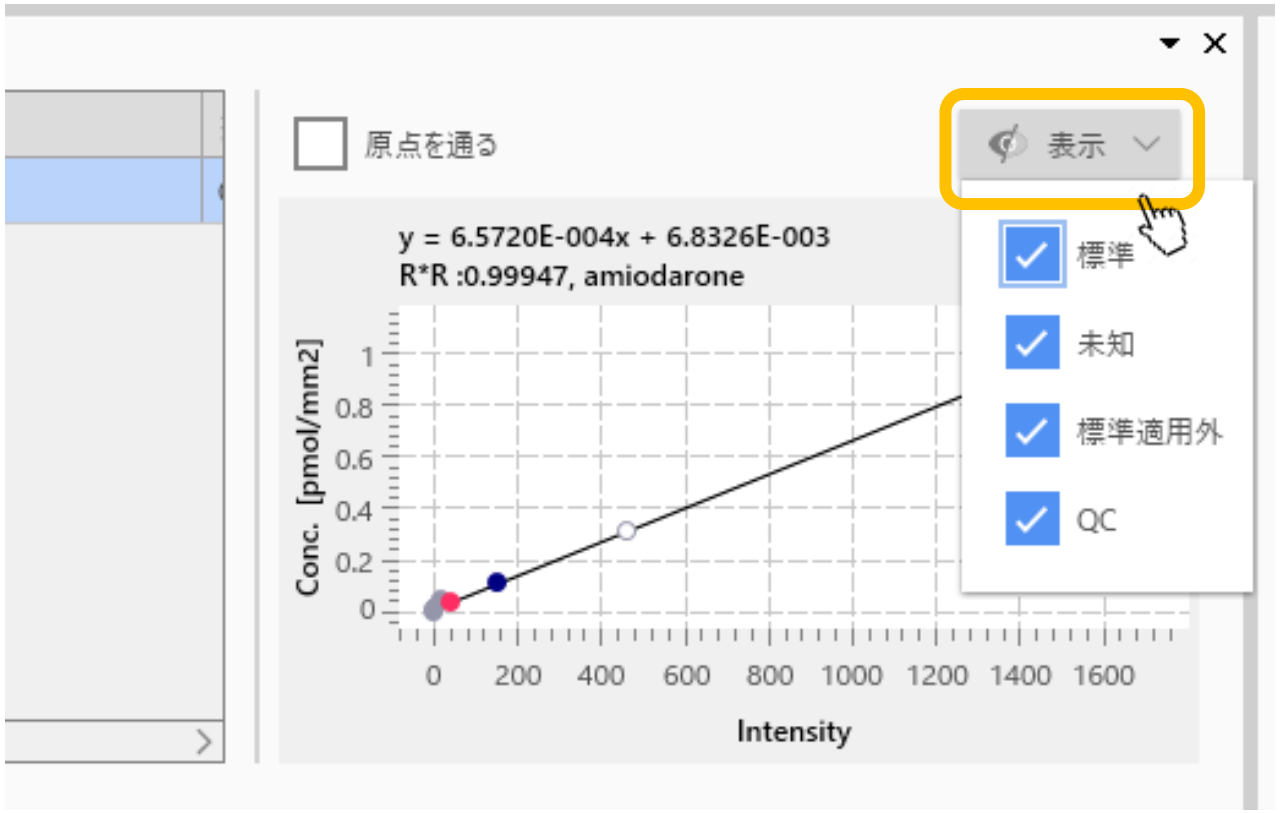
検量線と式が表示されます。

データ点
灰●：検量線用の標品
赤●：未知試料
白●：検量適用外
黒●：QC
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。

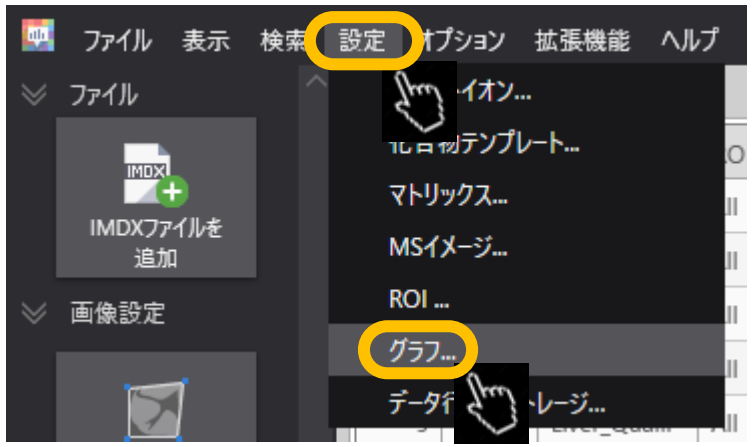
定量結果3 .1　検量線のオプション

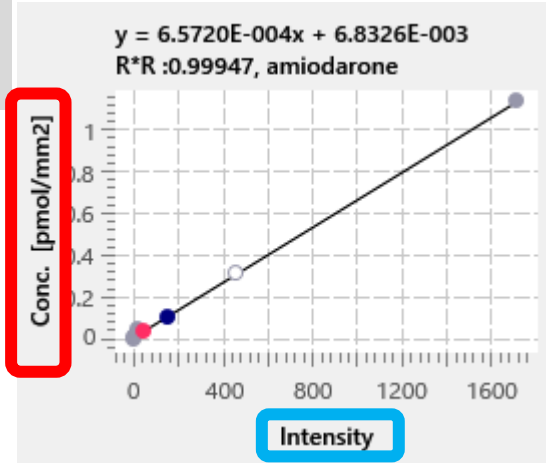
グラフに表示する点の種類を選択できます。

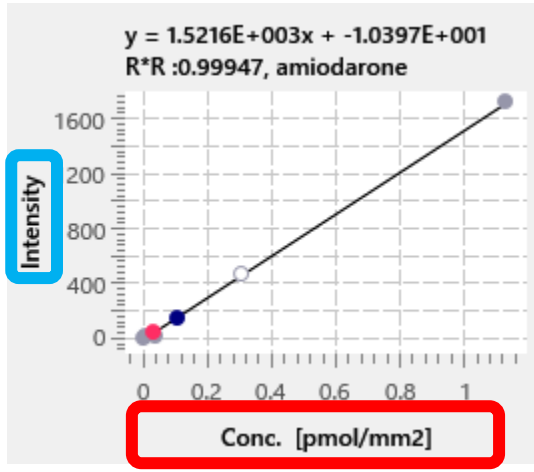


定量結果3.2　検量線のオプション

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随して変更されます。

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。