

Volcano plot

まとめ、または図の補足説明

→ P.34

英語マニュアルの該当ページ
×対応するスライド番号

←スライド番号

Scaffold Elements トレーニング資料

- Scaffold Elements でできる事 ... 2
- 対応フォーマット、データ変換 ... 3
- データ取り込み操作 ... 4
- Samples画面 ... 10
- Score、定量 ... 13
- Samples以外の画面 ... 16
- 検定 ... 30
- Flux Analysis ... 32
- その他 ... 35

オリジナルのマニュアル(英語)

https://cdn.proteomesoftware.net/user_guides/scaffold_elements_user_guide.pdf

Scaffold Elementsでできる事

- Scaffold Elementsでできること
- 対応フォーマット・データ変換
- データ取り込み操作
- Samples画面
- Score、定量
- Samples以外の画面
- 検定
- Flux Analysis
- その他

- MS,MS/MSデータをもとに低分子の同定・定量解析 (+ Waters MS^E)
- 各社rawデータの読み込みに対応 [msconvert.exe]
- データの階層構造化・属性付与
- 定量値に基づく統計解析
- 代謝フラックス解析 対応
- Viewerによる結果ファイルのシェア

- Scaffold Elementsでできること
- 対応フォーマット・データ変換
- データ取り込み操作
- Samples画面
- Score、定量
- Samples以外の画面
- 検定
- Flux Analysis
- その他

Vendor's File Formats			
Vendor	Software Application	MS Instrument	File Format
SCIEX	Data Explorer (4.2 and higher)	4X00 and higher TOF series	*t2d
	Data Explorer (prior to 4.2)	AB SCIEX Voyager (MALDI-TOF)	*.dat
	Analyst	Qstar, Qtrap	*.wiff
Agilent	Mass Hunter	Q-TOF	*.d directory
Bruker	XMASS/XTOF	Flex Series	*.d directory
	flexAnalysis	APEX, microQTOF, microQTOF-Q	
	flexAnalysis	Esquire Series	
		FTICR	
Thermo	XCalibur	LCQ, LTQ, Orbitrap	*.raw
Waters	MassLynx	All Waters Mass Spectrometers DDA, MSE supported HDMSE summed over drift times	*.raw directory
Open Formats			
HUPO Proteomics Standards Initiative mzML			*.mzML

* ProteoWizard - msconvert.exe を使用

* mzMLはほぼすべてのメーカーで変換可能なフォーマット

データ取り込み操作:開始方法

■ Scaffold Elementsで
できること

■ 対応フォーマット・
データ変換

■ データ取り込み操作

- 取り込み操作の開始
- Search タブ
- Feature Finding, Adduct タブ
- Library タブと Library Manager
- Advanced タブ

■ Samples画面

■ Score、定量

■ Samples以外の画面

■ 検定

■ Flux Analysis

■ その他

・以下のいずれかの操作を実施

- メニューのFile -> New

- Ctrl + N

- メニューバー下にある

アイコン  をクリック

・newでなくReanalyzeもある

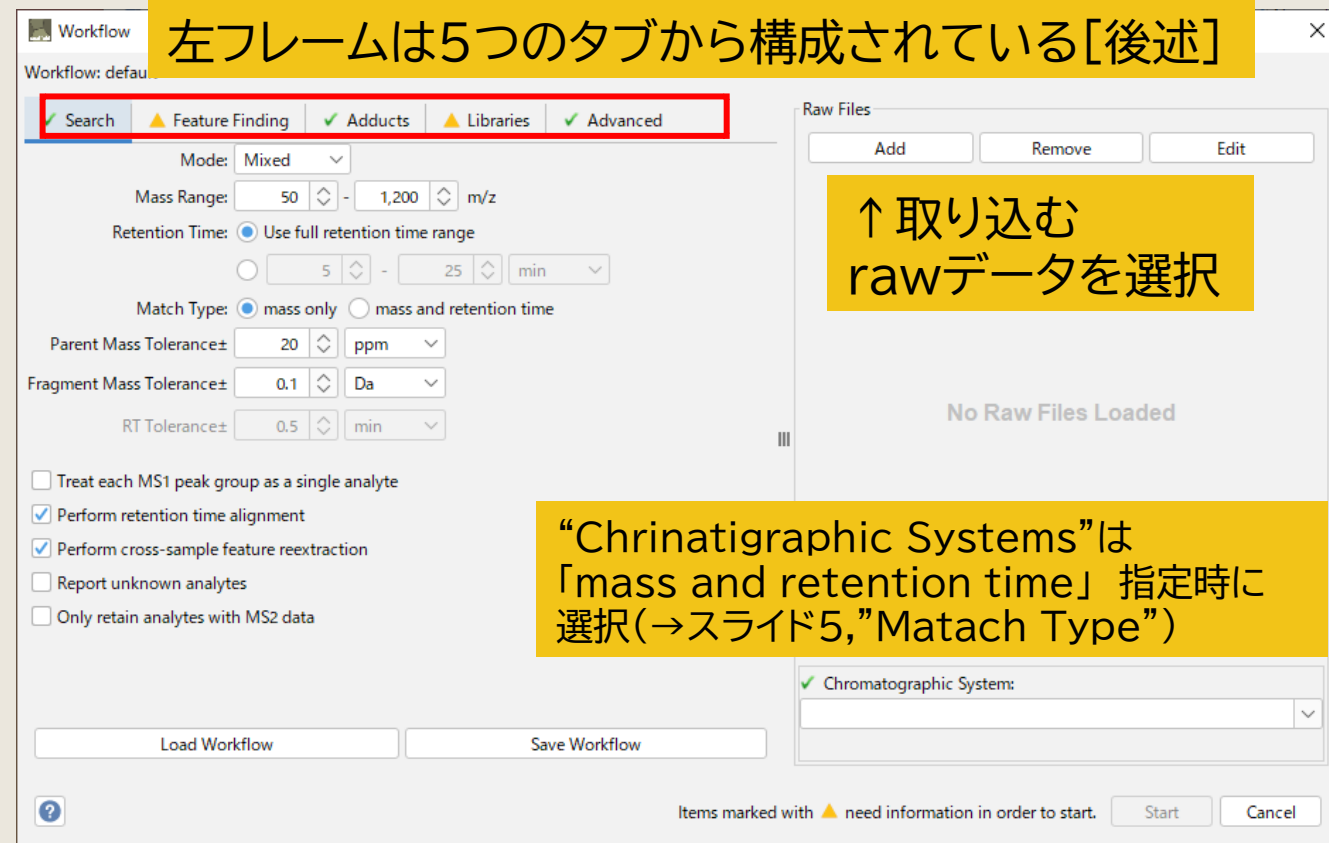
- メニューのFile -> Reanalyze

- 開いている解析結果と同じ

パラメータで開く

- データを加えたい時、検索条件を

変えて再検索したい時に使用



左フレームは5つのタブから構成されている[後述]

↑ 取り込む rawデータを選択

“Chromatographic Systems”は「mass and retention time」指定時に選択(→スライド5, “Match Type”)

■ Scaffold Elementsで
できること

■ 対応フォーマット・
データ変換

■ データ取り込み操作

- 取り込み操作の開始
- Search タブ
- Feature Finding, Adduct タブ
- Library タブと Library Manager
- Advanced タブ

■ Samples画面

■ Score、定量

■ Samples以外の画面

■ 検定

■ Flux Analysis

■ その他

Workflow: default

Search
 Feature Finding
 Adducts
 Libraries
 Advanced

Mode: Mixed

Mass Range: 50 - 1,200 m/z

Retention Time: Use full retention time range
 5 - 25 min

Match Type: mass only mass and retention time

Parent Mass Tolerance±: 20 ppm

Fragment Mass Tolerance±: 0.1 Da

RT Tolerance±: 0.5 min

Treat each MS1 peak group as a single analyte
 Perform retention time alignment
 Perform cross-sample feature reextraction
 Report unknown analytes
 Only retain analytes with MS2 data

Search タブ

項目	選択肢と意味
Mode	Positive/Negative/Mixed イオン化モード(Mixed : 中身を適切に解釈可)
Mass Range	解析対象とする m/zの範囲
Retention Time	解析対象とする 保持時間の範囲
Match Type	Mass only / mass and retention time 同定時、質量のみか保持時間も組み合わせるか。「mass and retention time」 選択時、Chromatographic System の選択が必須となる
Tolerance	MS1,MS2の誤差 (あるいは保持時間の誤差)
Treat each MS1 peak group as a single analyte	コンセンサスを持つ化合物をグループ化して表示
Perform retention time alignment	保持時間のアライメント実施
Perform cross-sample feature reextraction	見つかったfeatureが別のサンプルで見つからない場合、基準を緩めてもう一度探索する
Report unknown analytes	ライブラリとマッチしなかったものの特徴的なポイントをunknownとしてレポート
Only retain analytes with MS2 data	MS2データの存在をリストアップの必須条件とする

Featureタブ、Adductsタブ

Feature Finding タブ

Search
 Feature Finding
 Adducts
 Libraries
 Advanced

Noise Threshold: % of max signal %
 Specific value

Minimum time between scans: seconds

Storing Indexed Feature Files
 Indexed Feature Files are created during feature finding. They are large, so they must be created in a location with sufficient free space.

Location of Indexed Feature Files:
 Browse...

Saving Indexed Feature Files ▲
 Saving Indexed Feature Files allows you to bypass peak picking when loading the same files into a new experiment.

Save Indexed Feature Files
 Don't Save Indexed Feature Files

項目	選択肢と意味
Noise Threshold	% of max signal / Specific value ノイズとみなすピークの強度（同位体ピーク使用時には適用されない）。 Edit -> Preferences -> Proteowizard タブで“Create filtered mz5 files”にチェックを入れると、rawデータ変換時にフィルターリングをかける事も可能。データサイズが小さくなるが、後でソフトウェア上で調整できなくなったり、同位体ピークの探索に影響を及ぼす。
Minimum time between scans :	Scan時間によるデータの間引き
Storing Indexed feature Files	解析時にindexファイル(mz5ファイルとfeatureの情報が紐づけられたファイル)の名称とパス
Saving Indexed feature Files	解析後もindexファイルを残すかどうか。基本的には“Save”をお勧め。残しておくとも後ほど再解析時に処理が早くなる。

Adducts タブ

filter

Match to in-source fragments

	Ion	Mass Shift	Charge
<input checked="" type="checkbox"/>	[M+H] ⁺	1.007	1
<input checked="" type="checkbox"/>	[M-H] ⁻	-1.007	-1
<input type="checkbox"/>	[M+H-H ₂ O] ⁺	-17.003	1
<input type="checkbox"/>	[M+H-NH ₃] ⁺	-16.019	1
<input type="checkbox"/>	[M-H-H ₂ O] ⁻	-19.018	-1
<input type="checkbox"/>	[M-H-NH ₃] ⁻	-18.034	-1
<input type="checkbox"/>	[M+Na] ⁺	22.989	1
<input type="checkbox"/>	[M+NH ₄] ⁺	18.034	1
<input type="checkbox"/>	[M+2H] ²⁺	2.015	2
<input type="checkbox"/>	[M-2H] ²⁻	-2.015	-2
<input type="checkbox"/>	[2M+H] ⁺	1.007	1
<input type="checkbox"/>	[2M-H] ⁻	-1.007	-1

- 検索対象とするAdductsに関する設定
- SearchタブMode選択項目に連動してリストが変動
- チェックが入ったAdductsを検索
- 右クリック→ “Show unknown adducts” 選択により、より多種のAdductsをリストに表示
- 表の上に検索フィルター
- In-source fragment にチェックを入れると、MS2のピーク（Precursorピークの可能性があるもの）とのマッチングも行う

Libraries タブとLibrary Manager

■ Scaffold Elementsで
できること

■ 対応フォーマット・
データ変換

- データ取り込み操作
 - 取り込み操作の開始
 - Search タブ
 - Feature Finding, Adduct タブ
 - Library タブと Library Manager
 - Advanced タブ

■ Samples画面

■ Score、定量

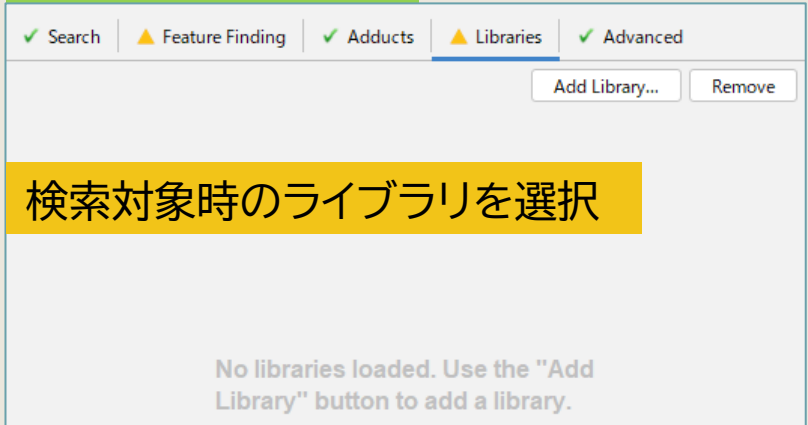
■ Samples以外の画面

■ 検定

■ Flux Analysis

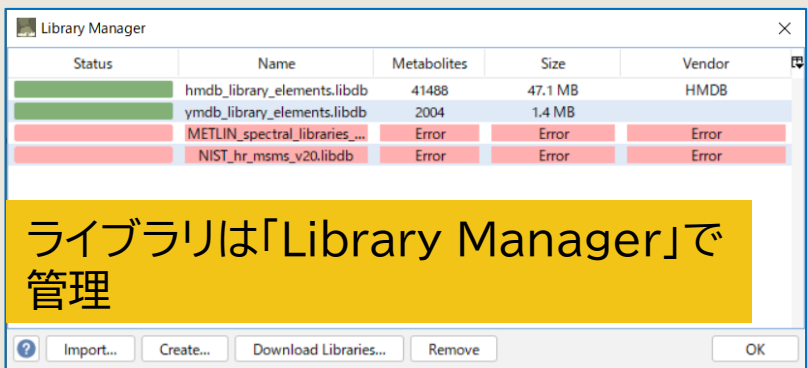
■ その他

Libraries タブ



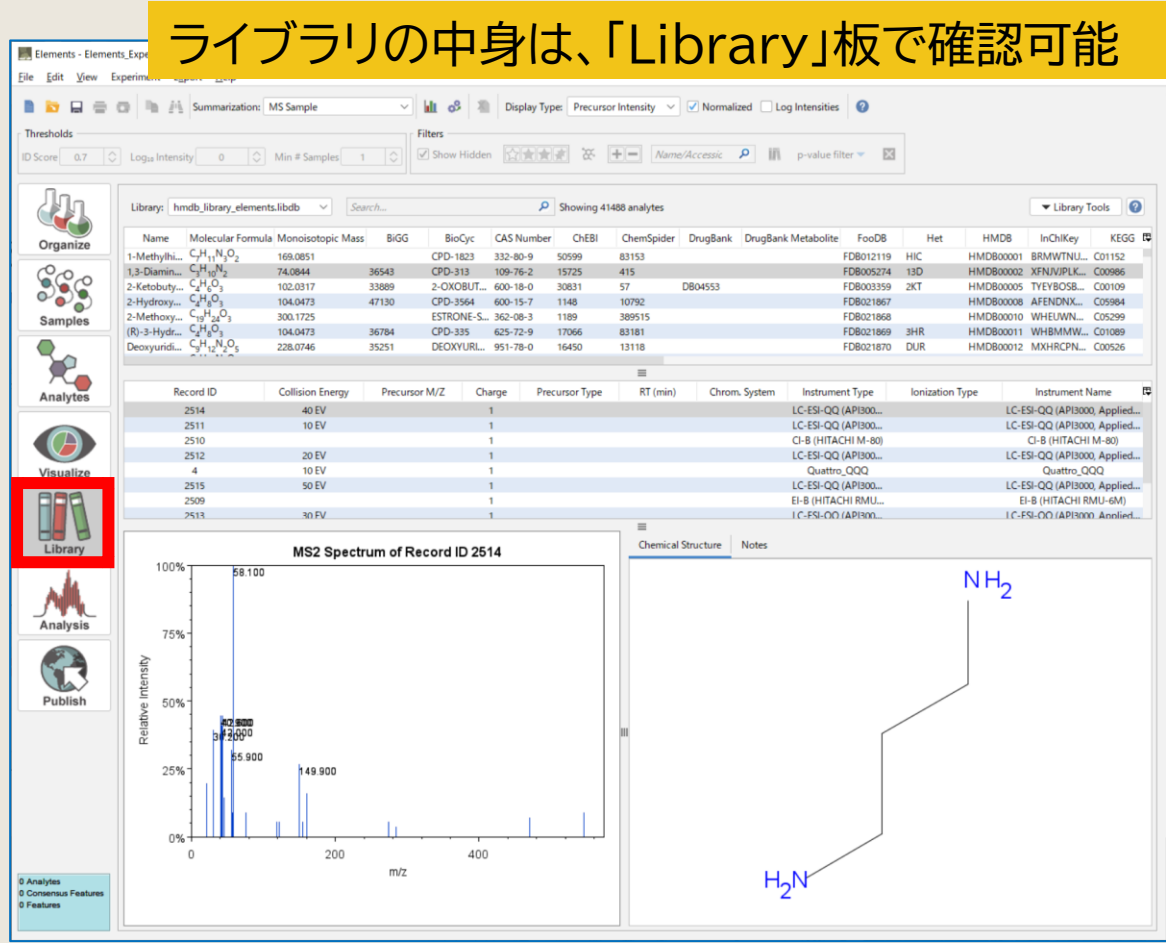
検索対象時のライブラリを選択

No libraries loaded. Use the "Add Library" button to add a library.



ライブラリは「Library Manager」で管理

Status	Name	Metabolites	Size	Vendor
Success	hmdb_library_elements.libdb	41488	47.1 MB	HMDB
Success	ymdb_library_elements.libdb	2004	1.4 MB	
Error	METLIN_spectral_libraries_...	Error	Error	Error
Error	NIST_hr_msms_v20.libdb	Error	Error	Error



ライブラリの中身は、「Library」板で確認可能

Name	Molecular Formula	Monoisotopic Mass	BiGG	BioCyc	CAS Number	ChEBI	ChemSpider	DrugBank	DrugBank Metabolite	FoodB	Het	HMDB	InChIKey	KEGG
1-Methylhi...	C ₄ H ₁₁ N ₂ O ₂	169.0851		CPD-1823	332-80-9	50599	83153			FD8012119	HIC	HMDB00001	BRMWTNLU...	CD1152
1,3-Diamin...	C ₂ H ₆ N ₂	74.0844	36543	CPD-313	109-76-2	15725	415			FD8005274	13D	HMDB00002	XFNV/PLK...	CD0986
2-Ketobuty...	C ₄ H ₈ O ₃	102.0317	33889	2-OXOBUT...	600-16-0	30831	57	DB04553		FD8003359	2KT	HMDB00005	TYEYBOSL...	CD0109
2-Hydroxy...	C ₂ H ₄ O ₃	104.0473	47130	CPD-3564	600-15-7	1148	10792			FD8021867		HMDB00008	AFENDNX...	CD5984
2-Methoxy...	C ₂ H ₄ O ₃	300.1725		ESTRONE-S...	362-08-3	1189	389515			FD8021868		HMDB00010	WHEUWN...	CD5299
(R)-3-Hydr...	C ₂ H ₄ O ₃	104.0473	36784	CPD-335	625-72-9	17066	83181			FD8021869	3HR	HMDB00011	WHBMMW...	CD1089
Deoxyurid...	C ₉ H ₁₂ N ₂ O ₅	228.0746	35251	DEOXYURL...	951-78-0	16450	13118			FD8021870	DUR	HMDB00012	MXHRCPN...	CD0526

MS2 Spectrum of Record ID 2514

Chemical Structure: NCCN

補足 : Proteome Software社で公開しているライブラリー

<https://www.proteomesoftware.com/spectrum-libraries>

MS/MS Spectrum Libraries

The following libraries are available for free

MoNA Spectrum Libraries

Version: Various

Yeast Metabolome Database (YMDB)

Version: Various

Toxin and Toxin Target Database (T3DB)

Version: Various

LIPID Metabolites and Pathways Analysis Database (LIPID MAPS)

Version: Various

DrugBank Database

Version: 4.0

Human Metabolome Database

Version: 3.6

■ Scaffold Elementsで
できること

■ 対応フォーマット・
データ変換

■ データ取り込み操作

- 取り込み操作の開始
- Search タブ
- Feature Finding,
Adduct タブ
- Library タブと
Library Manager
- Advanced タブ

■ Samples画面

■ Score、定量

■ Samples以外の画面

■ 検定

■ Flux Analysis

■ その他

Search |
 Feature Finding |
 Adducts |
 Libraries |
 Advanced

ID score retention threshold:

In-source fragment intensity threshold:

RT alignment spectrum min reproducibility:

RT MS1 peak group inclusion threshold (sec):

RT MS1 peak group cross-charge threshold (sec):

Max aligned RT diff (sec):

Max unaligned RT diff (sec):

Ignore Experimental MS2 Spectra

Advanced タブ

項目	選択肢と意味
ID Score retention threshold	さまざまなスコアから算出した、化合物同定に関するスコアの最低値。スコア: →P.213以降を参照の事
In-source fragment intensity threshold	MS2ピークにおいてピークかノイズかを判定する基準値。Maxピークに対する比率
RT alignment spectrum min reproducibility	アライメントにおいてアンカーポイントとして採用するかどうかの判定に考慮する(最小)サンプルの割合
RT MS1 peak group inclusion threshold (sec)	同一MS1グループに含まれるフューチャーの保持時間の許容誤差
RT MS1 cross-charge threshold (sec)	極性の異なるサンプルをアライメントする際に許容される保持時間の許容誤差
Max aligned RT diff (sec)	アライメント実施時に許容する保持時間の誤差。アライメント実施後
Max unaligned RT diff (sec)	アライメント実施時に許容する保持時間の誤差。アライメント実施前で、"Max aligned RT diff"以上の値である必要がある
Ignore Experimental MS2 Spectra	MS2スペクトルを無視しMS1のみを利用した解析を行う

Samples 画面

→ P.91

Scaffold Elements

■ Scaffold Elementsで
できること

■ 対応フォーマット・
データ変換

■ データ取り込み操作

■ Samples 画面

■ Score、定量

■ Samples以外の画面

■ 検定

■ Flux Analysis

■ その他

→スライド11

→スライド12

低分子

CAS No, 分子式等

定量値

同定された化合物の一覧並びに定量値をはじめとする関連情報

解析結果の概要を確認する上で主体となる画面

#	Visible	Star	ID Score	Mass Accuracy	Isotopic Distrib	MS2 Score	XIC Score	Analyte Name	Accession Number	Molecular Formula	Molecular Weight	Retention Time (min)	Control	High
1	✓	☆	0.899	0.99	1.00	1.00	0.92	Taurine	CASNO:107-35-7	C ₂ H ₇ NO ₃ S	125.0	4.41	1.19E6	7.79E5
2	✓	☆	0.898	1.00	1.00	1.00	0.98	Dodecylbenzenesulfonic acid	CASNO:121-65-3	C ₁₈ H ₃₀ O ₃ S	326.2	24.94	1.93E6	2.05E6
3	✓	☆	0.897	0.99	1.00	1.00	0.82	Cluster of Ala-Gly	CASNO:687-69-4					
3.1	✓	☆	0.897	0.99	1.00	1.00	0.82	Ala-Gly (+6)	CASNO:687-69-4	C ₅ H ₁₀ N ₂ O ₃	146.1	4.46	8.84E5	9.71E5
3.2	✓	☆	0.893	0.98	0.99	1.00	0.61	5-Methyl-5,6-Dihydrouracil (+3)	CASNO:696-04-8	C ₅ H ₈ N ₂ O ₂	128.1	4.46	1.42E5	1.37E5
4	✓	☆	0.897	0.99	1.00	0.99	0.92	3-Amino-3-(4-hydroxyphenyl)propanoate (+2)	HMDB:HMDB03831	C ₉ H ₉ NO ₃	181.1	6.12	4.46E5	5.25E5
5	✓	☆	0.895	0.99	0.99	1.00	0.52	3,8,9-Trihydroxy-10-propyl-3,4,5,8,9,10-hexahydro-2...	CASNO:1214866-56-4	C ₁₂ H ₂₀ O ₅	244.1	22.27	7.14E4	(3.79E4)
6	✓	☆	0.895	0.97	1.00	1.00	0.92	2-Mercaptobenzothiazole	CASNO:149-30-4	C ₇ H ₇ NS ₂	167.0	22.60	2.83E5	2.30E5
7	✓	☆	0.894	0.96	1.00	1.00	0.95	Uric acid_RT1	CASNO:69-93-2	C ₅ H ₄ N ₂ O ₃	166.0	5.65	6.00E6	3.46E6
8	✓	☆	0.894	0.98	0.98	1.00	0.98	Laurylsulfuric acid	CASNO:151-41-7			23.76	4.45E5	3.69E5
9	✓	☆	0.891	0.96	0.99	0.99	0.96	Xant...	CASNO:146-80-5			7.91		
10	✓	☆	0.889	0.98	0.98	0.99	0.98	1,11-...	CASNO:505-52-2			23.55		
11	✓	☆	0.888	0.99	0.99	0.98	0.86	p-To...	CASNO:91978-69-7			15.29		
12	✓	☆	0.887	0.97	0.99	0.98	0.96	D-Tryptophan (+2)	CASNO:153-94-6			12.00	1.95E6	2.21E6
13	✓	☆	0.885	0.99	1.00	0.96	0.99	cholesterol sulfate_RT1	HMDB:HMDB00653		466.3	29.74	4.81E6	1.03E7
14	✓	☆	0.885	0.91	0.99	0.99	0.62	DL-Phenylalanine (+1)	CASNO:150-30-1	C ₉ H ₁₁ NO ₂	165.1	9.59	6.11E5	7.24E5
					0.96	0.98	0.98	Gluconic acid (+1)	CASNO:526-95-4	C ₆ H ₁₂ O ₇	196.1	4.55	3.22E5	1.56E5
			0.95	0.94	0.94	0.94	0.94	3,7,12-Trihydroxycholan-24-oic acid (stereoisomer u...	INCHIKEY:BHQCCFFYR...	C ₂₇ H ₄₆ O ₅	408.3	24.80	1.23E6	1.60E6
			0.95	0.95	0.95	0.95	0.95	1-Stearoyl-2-hydroxy-sn-glycero-3-phosphoethanol...	CASNO:69747-55-3	C ₂₃ H ₄₈ NO ₇ P	481.3	25.30	2.34E6	2.90E6
			0.95	0.89	0.89	0.89	0.89	PE(18:1(9Z)/0:0)	CASNO:89576-29-4	C ₂₃ H ₄₆ NO ₇ P	479.3	25.11	7.62E5	7.59E5
92	1.00	0.91	1.00	0.91	1.00	0.91	0.91	Hypoxanthine (+1)	CASNO:68-94-0	C ₅ H ₄ N ₄ O	136.0	8.36	Missing Val...	Missing Val...
			0.95	0.99	0.99	0.99	0.99	cholesterol sulfate_RT2	HMDB:HMDB00653	C ₂₇ H ₄₆ O ₅ S	466.3	34.30	Missing Val...	(1.30E3)
99	0.95	0.74	0.95	0.74	0.95	0.74	0.74	16-Hydroxyhexadecanoic acid	CASNO:506-13-8	C ₁₆ H ₃₂ O ₃	272.2	24.63	2.10E5	2.02E5
91	1.00	0.93	1.00	0.93	1.00	0.93	0.93	PE(16:0/0:0)	INCHIKEY:VYVMBNSKX...	C ₂₁ H ₄₄ NO ₇ P	453.3	24.83	2.00E6	2.54E6
			0.94	0.87	0.87	0.87	0.87	L-Glutamate	CASNO:56-86-0	C ₅ H ₉ NO ₄	147.1	4.48	6.17E5	5.31E5
99	0.95	0.16	0.95	0.16	0.95	0.16	0.16	Mildronate	CASNO:76144-81-5	C ₆ H ₁₄ N ₂ O ₂	146.1	3.94	5.91E4	4.11E4
			0.95	0.84	0.84	0.84	0.84	2,2'-Methylene-bis(6-tert-butyl-4-methylphenol)	CASNO:119-47-1	C ₂₃ H ₃₂ O ₂	340.2	26.69	1.10E5	1.35E5
93	0.99	0.93	0.99	0.93	0.99	0.93	0.93	Deoxyinosine	CASNO:890-38-0	C ₁₀ H ₁₂ N ₄ O ₄	252.1	10.10	Missing Val...	Missing Val...

Samples画面:画面上部の選択項目

- Scaffold Elementsでできること
- 対応フォーマット・データ変換
- データ取り込み操作
- Samples 画面
 - 画面上部の選択項目
 - 画面内の表示項目
- Score、定量
- Samples以外の画面
- 検定
- Flux Analysis
- その他

Summarization :
階層構造化されたデータの分類に基づいて結果表示を切り替える

Display Type :

サンプル各列に表示する内容を指定

- **Precursor Intensity** : ピーク強度を基にした定量値
- **Log2 Fold Change** : 定量値の比、2を底にしたLog変換
- **Max Score** : featureで比較した際の最大 ID Score

Normalized : Normalized 実施

Log Intensities : Log変換実施

The screenshot shows a software interface with a green border. At the top, there are icons for file operations and a 'Summarization:' dropdown menu set to 'Treatment'. To the right, there are icons for visualization and a 'Display Type:' dropdown menu set to 'Precursor Intensity'. Below these are checkboxes for 'Normalized' (checked) and 'Log Intensities' (unchecked). The interface is divided into two main sections: 'Thresholds' and 'Filters'. The 'Thresholds' section has three input fields: 'ID Score' (0.8), 'Log₁₀ Intensity' (0), and 'Min # Samples' (1). The 'Filters' section has a 'Show Hidden' checkbox (checked), a star rating filter (4 stars), a search icon, a 'Name/Accession' search box, and a 'p-value filter' dropdown menu.

Thresholds:

表示化合物の数値による足切り。
同定スコア最低値、定量値の最低値、化合物が同定されているサンプル数の最低値

Filters

表示化合物のフィルターリング

- Hidden check
- 2種類の色がついた星印
- 構造
- Name

Samples 画面の表示項目

■ Scaffold Elementsで
できること

■ 対応フォーマット・
データ変換

■ データ取り込み操作

■ Samples 画面

- 画面上部の選択項目
- 画面内の表示項目

■ Score、定量

■ Samples以外の画面

■ 検定

■ Flux Analysis

■ その他

#	Visible	Star	ID Score	Mass Accuracy Score	Isotopic Distribution Score	MS2 Score	XIC Score	Analyte Name	Accession Number	Molecular Formula	Molecular Weight	Retention Time (min)	Color Legend (Displayed Value)	
													Control	High
1	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	0.899	0.99	1.00	1.00	0.92	Taurine	CASNO:107-35-7	C ₂ H ₇ NO ₃ S	125.0	4.41	1.19E6	7.79E5
2	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	0.898	1.00	1.00	1.00	0.98	Dodecylbenzenesulfonic acid	CASNO:121-65-3	C ₁₈ H ₃₀ O ₃ S	326.2	24.94	1.93E6	2.05E6
3	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	0.897	0.99	1.00	1.00	0.82	Cluster of Ala-Gly	CASNO:687-69-4					
3.1	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	0.897	0.99	1.00	1.00	0.82	Ala-Gly (+6)	CASNO:687-69-4	C ₅ H ₁₀ N ₂ O ₃	146.1	4.46	8.84E5	9.71E5

項目	説明
#	上からつけた通し番号
Visible	Hidden/Not Hidden(=Visible)の切り替え
Star	リスト内の化合物に付ける事ができるマーク。 黄色/青,あるいはその両方、を指定する事ができる
XXX Score	Scaffold Elementsで計算された各種スコア。 詳細はスライド13
RT Match	(状況に応じて表示)保持時間の誤差
Analyte Name	化合物名

項目	説明
Accession Number	ID(使用したライブラリにより異なる)
Molecular Formula	分子式
Molecular Weight	分子量
Retention Time	保持時間
サンプルの列	Display Type(スライド11)で指定した数字

Score

■ Scaffold Elementsで
できること

■ 対応フォーマット・
データ変換

■ データ取り込み操作

■ Samples画面

■ Score、定量
- Score
- 定量値
- Normalization

■ Samples以外の画面

■ 検定

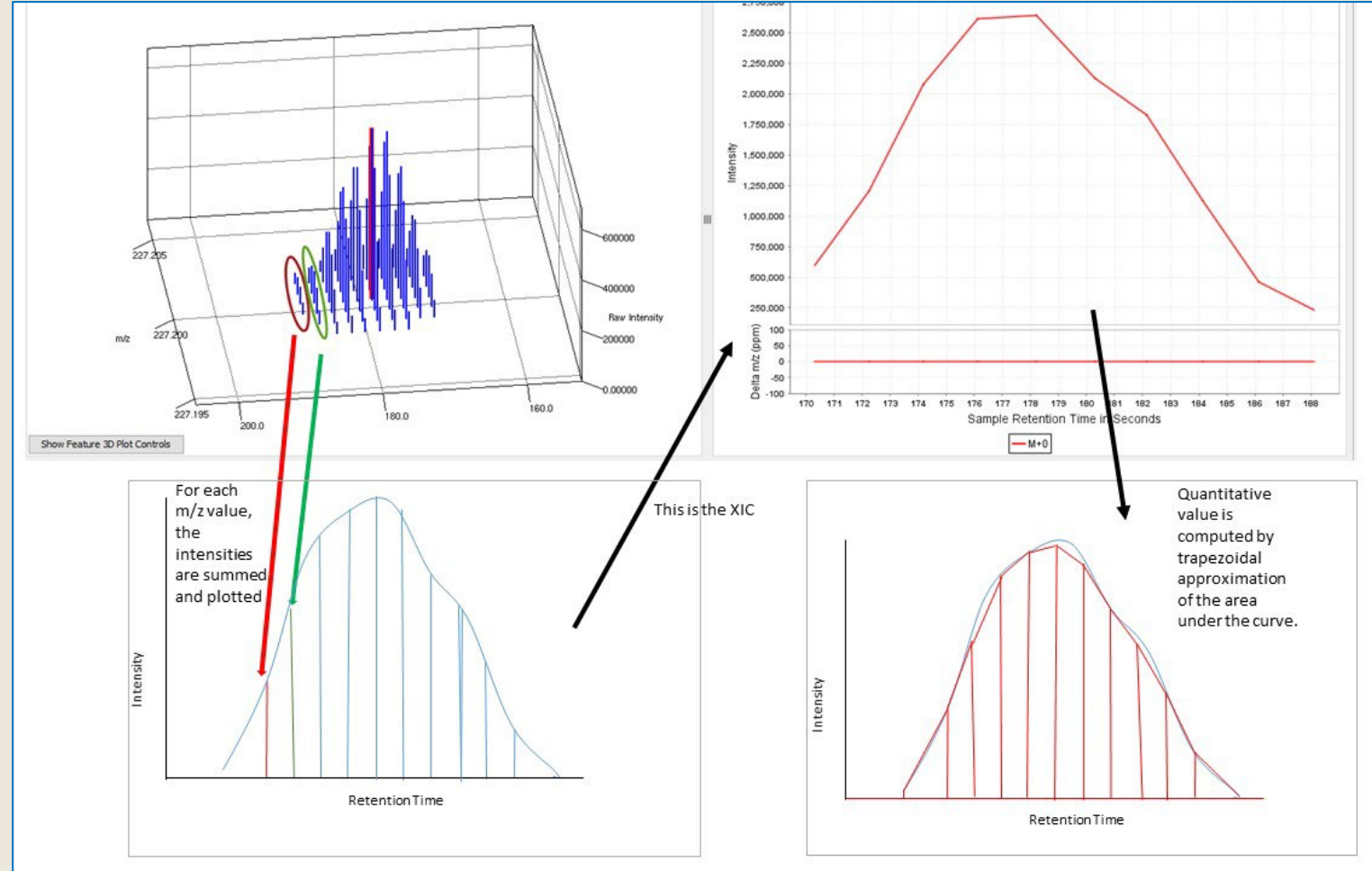
■ Flux Analysis

■ その他

#	Visible	Star	ID Score	Mass Accuracy Score	Isotopic Distribution Score	MS2 Score	XIC Score	Analyte Name
1	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	0.899	0.99	1.00	1.00	0.92	Taurine
2	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	0.898	1.00	1.00	1.00	0.98	Dodecylbenzenesulf
3	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>						Cluster of Ala-Gly
3.1	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	0.897	0.99	1.00		0.82	Ala-Gly (+6)

項目	説明
ID Score	以下スコアから算出した、化合物同定に関するスコア。揃っているデータによって算出方法が異なる。 (具体的な式は→P.214以降を参照の事)
Mass Accuracy Score	Precursorスペクトルで理論値と実測スペクトルでどれくらい誤差が少ないか(以下の式)。差が全くない場合は1,誤差範囲いっぱいいっぱいの場合0.5となる $\text{Mass Accuracy Score} = \frac{-0.5 \cdot \text{Delta Mass (AMU)}}{\text{Precursor Mass Tolerance(AMU)}} + 1$
Isotopic Distribution Score	同位体比の強度が理論値とどれくらい一致しているか
MS2 Score	MS2の実測スペクトルがライブラリとどれくらい一致しているか。複数のエントリーがライブラリに存在している場合、最高スコアを採用。ピーク強度は実測値と理論値それぞれ標準化処理してからマッチング。実測ピークと理論ピークの関連付けはより誤差が小さい方を採用。各対応ピーク[標準化処理済み]のコサイン積の和。
XIC Score	XICカーブの滑らかさ。ID Score算出には利用されない。Zig Zag Indexを利用 $\text{XICScore} = e^{(20 \ln(0.4 \cdot \text{ZigZagIndex}))}$
MS1 Annotation Score	MS1ピークのマッチ数。付加体やIn-source フラグメントも対象。

- Scaffold Elementsでできること
- 対応フォーマット・データ変換
- データ取り込み操作
- Samples画面
- Score、定量
 - Score
 - 定量値
 - Normalization
- Samples以外の画面
- 検定
- Flux Analysis
- その他




定量値 … XIC、台形近似の面積。
Featureの各イオンすべてが対象

- Scaffold Elementsで
できること
- 対応フォーマット・
データ変換
- データ取り込み操作
- Samples画面
- Score、定量
 - Score
 - 定量値
 - Normalization
- Samples以外の画面
- 検定
- Flux Analysis
- その他

- Menu の experiment で2択を選ぶ
 - Normalized to internal Standard
 - Normalized to Sample Intensity Distributions

内部標準

- 指定した化合物(3つまで)の定量値が
technical replicates 内
全サンプルの平均値になる
- 他の化合物は、原点と標準物質の点を
結ぶ直線に従って変換される

 Configure Internal Standard Normalization

Enter at least 3 characters of an analyte name, accession, or chemical formula to use as an internal standard for normalization.

cyt

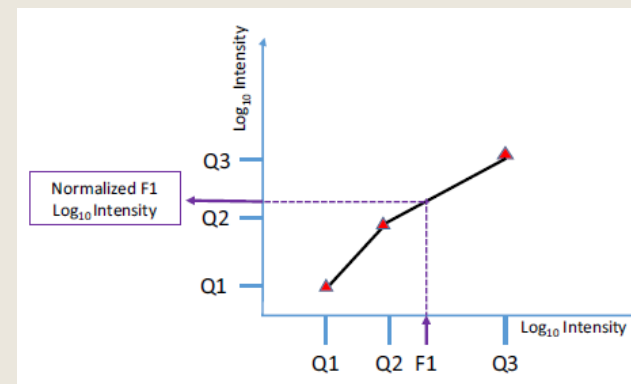
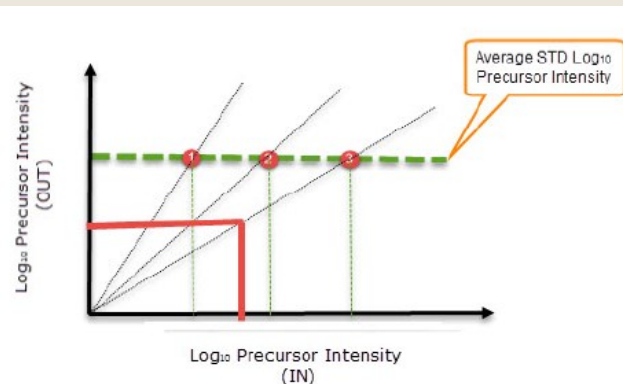
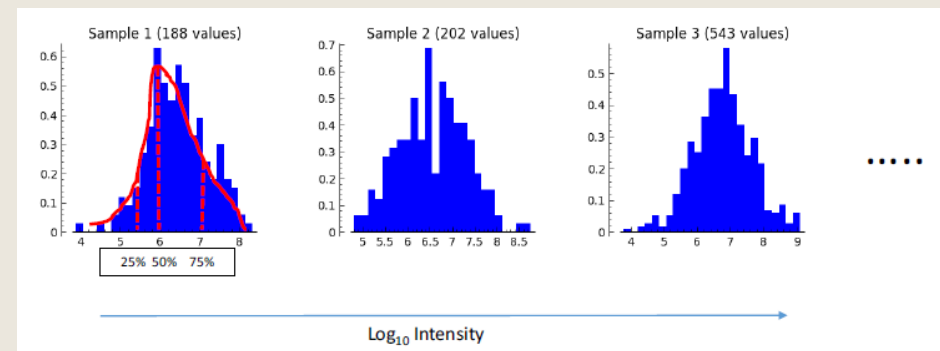
Cytidine 5'-diphosphocholine (CASNO:987-78-0; 488.1 Da)

Cytidine 5'-triphosphate (CASNO:65-47-4; 483.0 Da)

Cytidine 5'-diphosphate ethanolamine (CASNO:3036-18-8; 446.1 Da)

サンプル強度分布

- 全データ vs 各sample
- 25%,50%,75%にあたる定量値を、
全データ平均にそろえる
- 各四分位数の間は点間を結ぶ直線に従って
変換する



Organize

Scaffold Elements

■ Scaffold Elementsで
できること

■ 対応フォーマット・
データ変換

■ データ取り込み操作

■ Samples画面

■ Score、定量

■ Samples以外の画面

- Organize
- Analyte
- Visualize
- Analysis
- Publish

■ 検定

■ Flux Analysis

■ その他

Elements - Demo4-MSE-Xanthohumol-in-Zucker-rats.metdb

File Edit View Experiment Export Help

Summarization: Treatment Display Type: Max Score

Thresholds: ID Score: 0.8 Log₁₀ Intensity: 0 Min # Samples: 1

Filters: Show Hidden Name/Accession p-value filter

Organize

Define Categories

Import Attributes File... Export Attributes File...

+ Add Category Delete Gender

Gender: Male

Ionization Mode: Add Attribute

Treatment: Add Attribute

Group Samples By: Selected Category Bulk Edit Sample Names...

Sample Name	Treatment	Ionization Mode	Gender
012412_Neg_M01	Control	Negative	Male
012412_Neg_M02	Control	Negative	Male
012412_Neg_M03	Control	Negative	Male
012412_Neg_M04	Control	Negative	Male
012412_Neg_M05	Control	Negative	Male
012412_Neg_M06	Control	Negative	Male
012412_Neg_M19	High	Negative	Male
012412_Neg_M20	High	Negative	Male
012412_Neg_M21	High	Negative	Male
012412_Neg_M22	High	Negative	Male
012412_Neg_M23	High	Negative	Male
012412_Neg_M24	High	Negative	Male

Sample Information: No Sample Selected

Search Information: Search Date: 2021/02/04 Parent Mass Tol.: 20.0 ppm Fragment Mass Tol.: 0.1 Da Mass Range: [50.0 - 1200.0] Noise Threshold: 0.1% of max signal Mode: Negative Spectral Libraries: METLIN_spectral_libraries_v Elements Version: 3.0.0

Adduct Mass Charge

[M-H]-	-1.01	-1
[M-H-H ₂ O]-	-19.02	-1

60 Analytes in 59 clusters
67 Consensus Features
508 Features

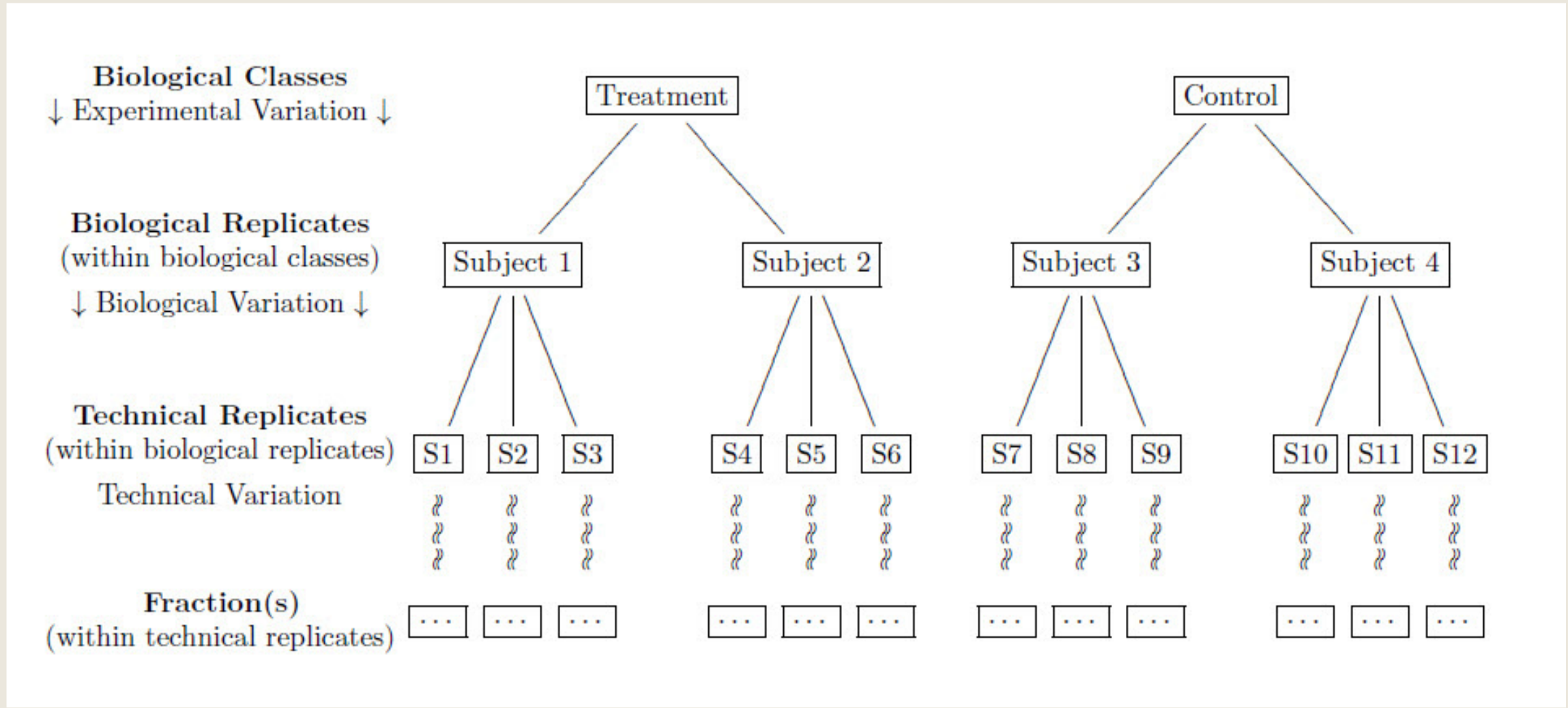
Configure Experimental Design and Statistical Analysis...

サンプルの階層構造・属性
付与を実施

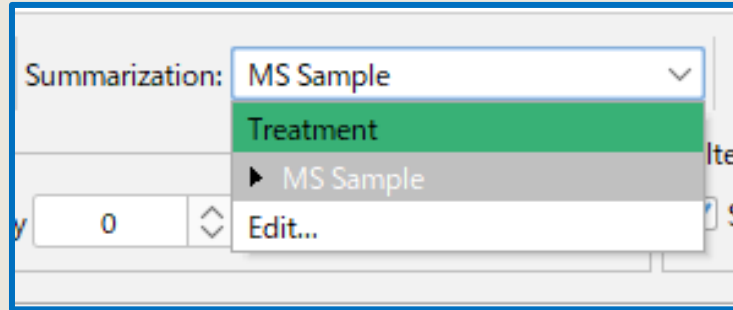
結果表示の際、データを取り
まとめる階層等を変更できる

Organize操作について、参考になる別資料(Scaffold DIA 日本語マニュアル)

<https://www.matrixscience.co.jp/supportpdf/scaffold/ScaffoldDIAManual.pdf#page=34>



補足：Organize実施と表示内容の切り替え



Control						High					
012412_Neg_M01	012412_Neg_M02	012412_Neg_M03	012412_Neg_M04	012412_Neg_M05	012412_Neg_M06	012412_Neg_M19	012412_Neg_M20	012412_Neg_M21	012412_Neg_M22	012412_Neg_M23	012412_Neg_M24
0.94	0.96	0.94	0.92	0.89	0.96	0.77	0.82	0.91	0.42	0.89	0.90
0.97	0.94	0.62	0.93	0.47	0.98	0.20	0.48	0.80	0.96	0.96	0.97
0.91	0.95	0.91	0.92		0.94	0.84	0.76	0.90	0.84	0.86	0.94
0.91	0.95	0.91	0.85		0.94	0.84	0.76	0.92	0.84	0.84	0.90
0.47	0.96	0.46	0.37		0.96	0.90	0.38	0.49	0.84	0.45	0.45
0.91	0.86	0.96	0.94	0.95	0.84	0.86	0.96			0.94	
0.94		0.94	0.98		0.96	0.45	0.92		0.92	0.94	0.92
0.92	0.95	0.95	0.94		0.97	0.42		0.86	0.78	0.82	0.68
0.91	0.93	0.93	0.90	0.98	0.94	0.88	0.43	0.95	0.98	0.89	0.95

Summarizationでの項目切り替えにより、表示項目を変更可能（対象間のmedian）



Control	High
0.96	0.91
0.98	0.97
0.95	0.94
0.95	0.92
0.96	0.90
0.96	0.96
0.98	0.94
0.97	0.86
0.98	0.98

Analyte : 画面切り替え

■ Scaffold Elementsで
できること

■ 対応フォーマット・
データ変換

■ データ取り込み操作

■ Samples画面

■ Score、定量

■ Samples以外の画面

- Organize
- Analyte
- Visualize
- Analysis
- Publish

■ 検定

■ Flux Analysis

■ その他

Elements - Demo4-MSE-Xanthohumol-in-Zucker-rats.metdb

File Edit View Experiment Export Help

Summarization: Treatment | Display Type: Precursor Intensity | Normalized | Log Intensities

Thresholds: ID Score 0.8 | Log₁₀ Intensity 0 | Min # Samples 1

Filters: Show Hidden | Name/Accession | p-value filter

#	Visible	Star	ID Score	Mass Accuracy Score	Isotopic Distribution Score	MS2 Score	XIC Score	Analyte Name	Accession Number	Molecular Formula	Molecular Weight	Retention Time (min)	Control	High
2	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	0.898	1.00	1.00	1.00	0.98	Dodecylbenzenesulfonic acid	CASNO:107-35-7	C ₁₈ H ₃₀ O ₃ S	326.2	24.94	1.19E6	7.79E5
3	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	0.897	0.99	1.00	0.99	0.82	Ala-Gly (+6)	CASNO:121-65-3	C ₅ H ₁₀ N ₂ O ₃	146.1	4.46	8.84E5	9.71E5
3.1	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	0.897	0.98	0.99	0.99	0.61	5-Methyl-5,6-Dihydrouracil (+3)	CASNO:687-69-4	C ₅ H ₈ N ₂ O ₂	128.1	4.46	1.42E5	1.37E5
3.2	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	0.897	0.99	1.00	0.99	0.92	3-Amino-3-(4-hydroxyphenyl)propanoate (+2)	CASNO:696-04-8	C ₉ H ₁₁ NO ₃	181.1	6.12	4.46E5	5.25E5
4	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	0.895	0.99	0.99	0.99	0.52	3,8,9-Trihydroxy-10-propyl-3,4,5,8,9,10-hexahydro...	HMDB:HMDB03831	C ₁₂ H ₂₀ O ₅	244.1	22.27	7.14E4	(3.79E4)
5	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	0.895	0.97	1.00	1.00	0.92	2-Mercaptobenzothiazole	CASNO:1214866-56-4	C ₆ H ₅ NS ₂	167.0	22.60	2.83E5	2.30E5
6	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	0.894	0.96	1.00	1.00	0.95	Uric acid_RT1	CASNO:149-30-4	C ₅ H ₄ N ₂ O ₃	168.0	5.65	6.00E6	3.46E6
7	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	0.894	0.98	0.98	1.00	0.98	Laurylsulfuric acid	CASNO:69-93-2	C ₁₂ H ₂₆ O ₄ S	266.2	23.76	4.45E5	3.69E5
8	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	0.891	0.96	0.99	0.99	0.96	Xanthosine	CASNO:151-41-7	C ₁₀ H ₁₂ N ₄ O ₆	284.1	7.91	5.16E4	Missing V...
9	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	0.889	0.98	0.98	0.99	0.98	1,11-Undecanedicarboxylic acid	CASNO:146-80-5	C ₁₃ H ₂₄ O ₄	244.2	23.55	3.62E5	3.02E5
10	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	0.888	0.99	0.99	0.98	0.86	p-Tolyl Sulfate	CASNO:505-52-2	C ₇ H ₈ O ₂ S	188.0	15.29	1.80E5	1.78E5
11	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	0.887	0.97	0.99	0.98	0.96	D-Tryptophan (+2)	CASNO:91978-69-7	C ₁₁ H ₁₂ N ₂ O ₂	216.2	10.10	Missing V...	Missing V...
12	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	0.885	0.99	1.00	0.96	0.99	cholesterol sulfate_RT1	CASNO:506-13-8	C ₁₆ H ₃₂ O ₃	272.2	24.63	2.10E5	2.02E5
13	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	0.885	0.91	0.99	0.99	0.62	DL-Phenylalanine (+1)	CASNO:506-13-8	C ₉ H ₉ NO ₂	173.1	10.10	Missing V...	Missing V...
14	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	0.884	0.99	1.00	0.96	0.98	Gluconic acid (+1)	INCHIKEY:VYVMBNSK...	C ₂₁ H ₄₄ NO ₇ P	453.3	24.83	2.00E6	2.54E6
15	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	0.884	0.99	1.00	0.96	0.98	Gluconic acid (+1)	CASNO:56-86-0	C ₉ H ₉ NO ₄	173.1	4.48	6.17E5	5.31E5
16	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	0.883	1.00	1.00	0.95	0.94	3,7,12-Trihydroxycholan-24-oi...	CASNO:76144-81-5	C ₂₇ H ₄₈ O ₆	440.7	26.69	1.10E5	1.35E5
17	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	0.882	1.00	1.00	0.95	0.95	1-Stearoyl-2-hydroxy-sn-glyce...	CASNO:119-47-1	C ₃₆ H ₇₄ O ₂	558.7	26.69	1.10E5	1.35E5
18	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	0.881	0.99	1.00	0.95	0.89	PE(18:1(9Z)/0:0)	CASNO:890-38-0	C ₁₀ H ₁₂ N ₄ O ₄	252.1	10.10	Missing V...	Missing V...
19	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	0.880	0.97	0.92	1.00	0.91	Hypoxanthine (+1)	CASNO:54-16-0	C ₁₀ H ₉ N ₃	191.1	20.57	Missing V...	Missing V...
20	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	0.880	0.98	1.00	0.95	0.99	cholesterol sulfate_RT2	CASNO:132014-80-3	C ₄₄ H ₇₈ NO ₁₀ P	811.5	27.76	3.72E4	(1.26E4)
21	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	0.880	0.99	0.99	0.95	0.74	16-Hydroxyhexadecanoic acid	CASNO:1086-80-2	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	282.4	22.26	Missing V...	Missing V...
22	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	0.880	0.99	0.91	1.00	0.93	PE(16:0/0:0)						
23	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	0.880	1.00	1.00	0.94	0.87	L-Glutamate						
24	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	0.880	0.99	0.99	0.95	0.16	Mildronate						
25	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	0.879	0.96	1.00	0.95	0.84	2,2'-Methylene-bis(6-tert-butyl-4 methylphenol)						
26	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	0.878	0.97	0.93	0.99	0.93	Deoxyinosine						
27	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	0.877	0.98	0.94	0.98	0.58	5-Hydroxyindoleacetic acid (+4)						
28	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	0.875	0.98	0.99	0.94	0.74	1-Stearoyl-2-arachidonoyl-sn-glycero-3-phosphos...						
29	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	0.875	0.95	0.99	0.95	0.94	Lumichrome						

化合物を選択した状態でダブルクリック、
または Analytes パネルをクリックすると...
→次スライド

■ Scaffold Elementsで
できること

■ 対応フォーマット・
データ変換

■ データ取り込み操作

■ Samples画面

■ Score、定量

■ Samples以外の画面

- Organize
- Analyte
- Visualize
- Analysis
- Publish

■ 検定

■ Flux Analysis

■ その他

化合物の 定性/定量
結果をより詳細に検証

Display Type: Precursor Intensity Normalized Log Intensities

Filters: Show Hidden Name/Accessic p-value filter

Theoretical m/z	Adducts	Charge	Average m/z	Δ Average m/z ...	Average RT	σ RT	Polarity
243.124	[M-H]-	-1	243.123	5.224	22.24	0.024	-
225.113	[M-H-H ₂ O]-	-1	225.112	4.006	22.31	0.18	-

Sample Name	Library	Record ID	ID Score	Raw Inten...	m/z	Aligned RT	Δ m/z AM...
012412_Neg_M02	NIST_hr_msms_...	ID:599378	0.863	2.31E4	243.122	22.21	0.001
012412_Neg_M03	NIST_hr_msms_...	ID:599378	0.855	3.72E4	243.123	22.25	0.001
012412_Neg_M04	NIST_hr_msms_...	ID:599378	0.945	3.03E4	243.122	22.21	0.001
012412_Neg_M05	NIST_hr_msms_...	ID:599378	0.737	6.49E4	243.124	22.26	0.000
012412_Neg_M19	NIST_hr_msms_...	ID:599378	0.677	3.31E4	243.121	22.27	0.003
012412_Neg_M20	NIST_hr_msms_...	ID:599378	0.649	2.59E4	243.123	22.22	0.001

現在選択中の化合物

サンプル別の解析結果

Mass: 244.131 Formula: C₁₂H₂₀O₅ CAS Number: 1214866-56-4

NAME: 3,8,9-Trihydroxy-10-propyl-3,4,5,8,9,10-hexahydro-2H-oxecin-2-one

SMILES: CCCC1OC(=O)C(O)CCC=CC(O)C1(O)

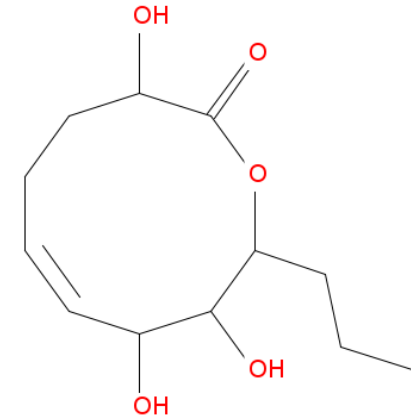
Visualization
→ スライド 22~24

References Analyte Level Charts Statistics Feature 3D Plot

Mass: 244.131 Formula: C₁₂H₂₀O₅ CAS Number 1214866-56-4

NAME: 3,8,9-Trihydroxy-10-propyl-3,4,5,8,9,10-hexahydro-2H-oxecin-2-one

SMILES: CCCC1OC(=O)C(O)CCC=CC(O)C1(O)



References
 マッチした化合物の
 リファレンス情報

Summarization: Person

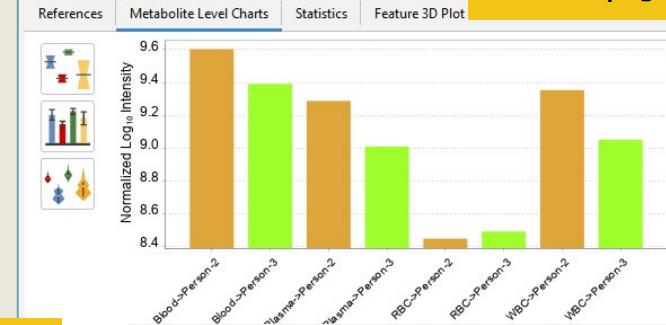
- Component
- Person
- Ionization Mode
- MS Sample
- Edit...

Log₁₀ Intensity 0

Theoretical m/z	Abundance	Charge	Average m/z	Δ Average m/z
244.099	244.100	1	244.099	0.100
262.094	244.100	-1	262.094	1.944
222.100	1	1	222.097	
272.099	1	1	272.095	
171.094	1	1	171.094	

Analyte Level Charts
 化合物定量値の比較。
 3種類のグラフ

- 箱ひげ図
- 棒グラフ
- バイオリンプロット

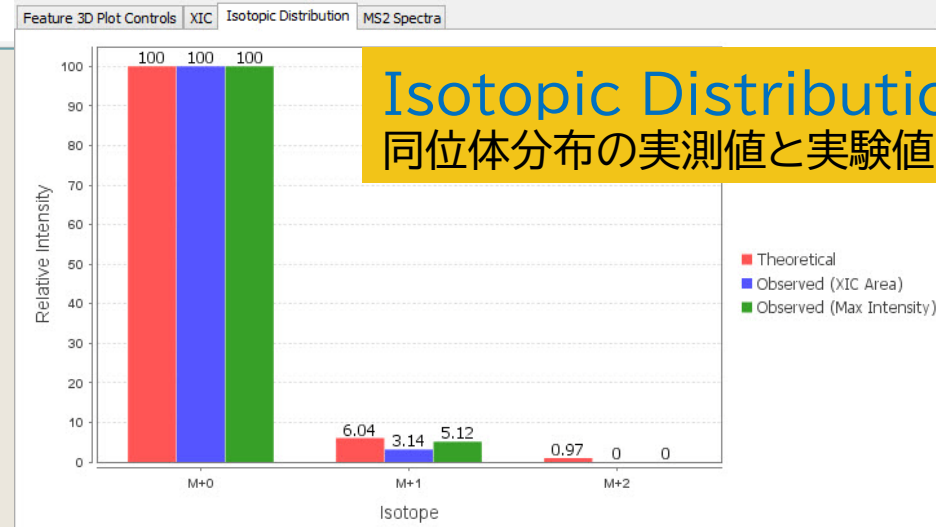
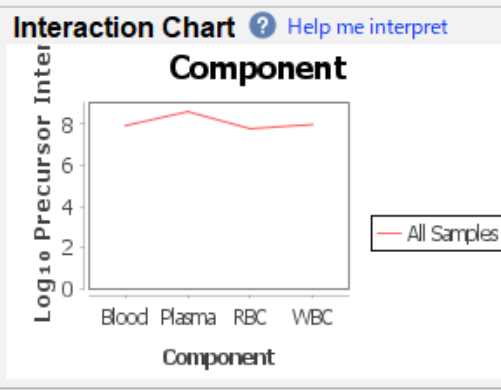


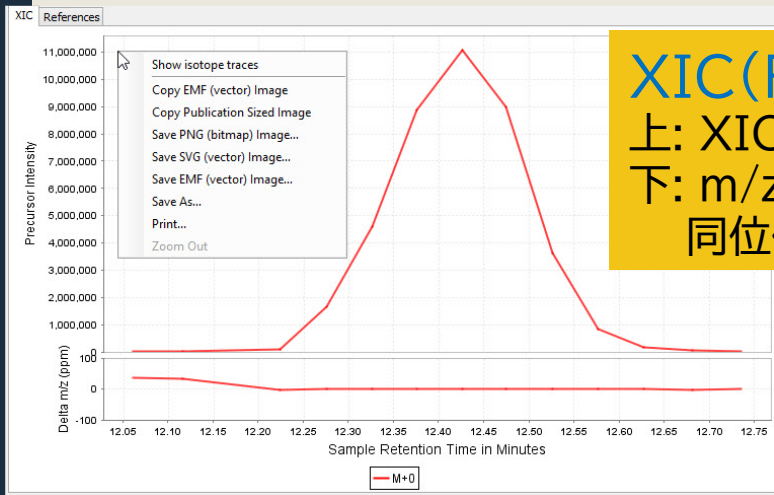
Statistics[検定実施時]
 検定数値

References Analyte Level Charts Statistics

ANOVA Results Table

Source	SS	df	MS	F	Sig. o...
Between Groups	0.809...	3.0	0.269...	29.560	0.003...
Within Groups	0.036...	4.0	0.009...		
Total	0.845...	7.0			

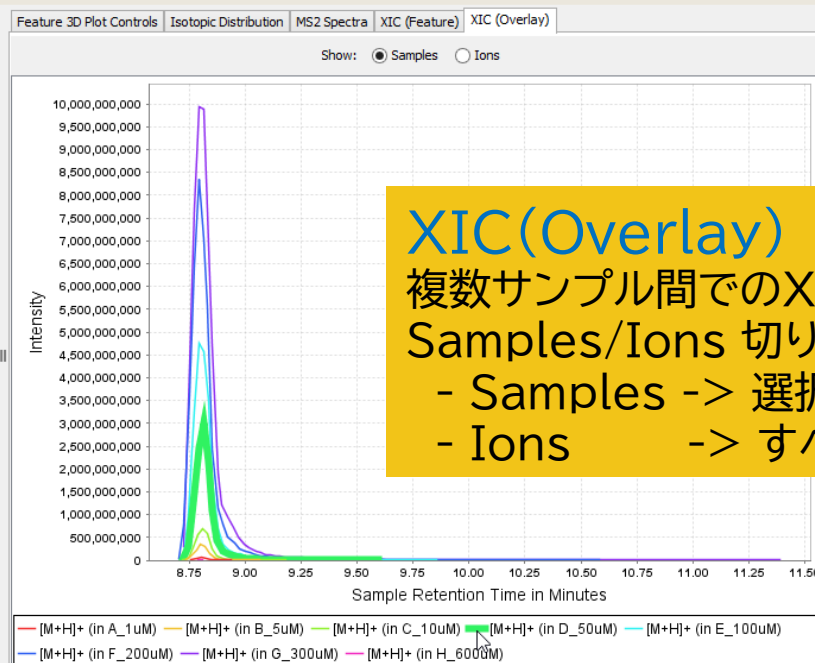




XIC(Feature)

上: XIC

下: m/z誤差 [monoisotopic vs 同位体クラスター加重平均]



XIC(Overlay)

複数サンプル間でのXIC比較。

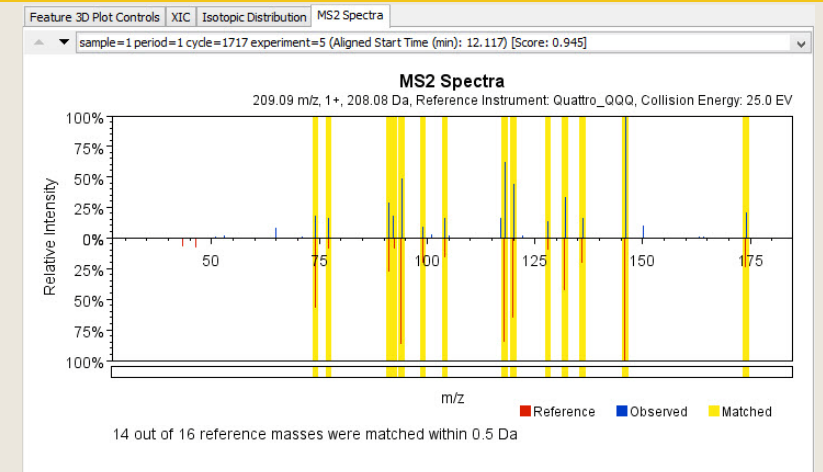
Samples/Ions 切り替え可能

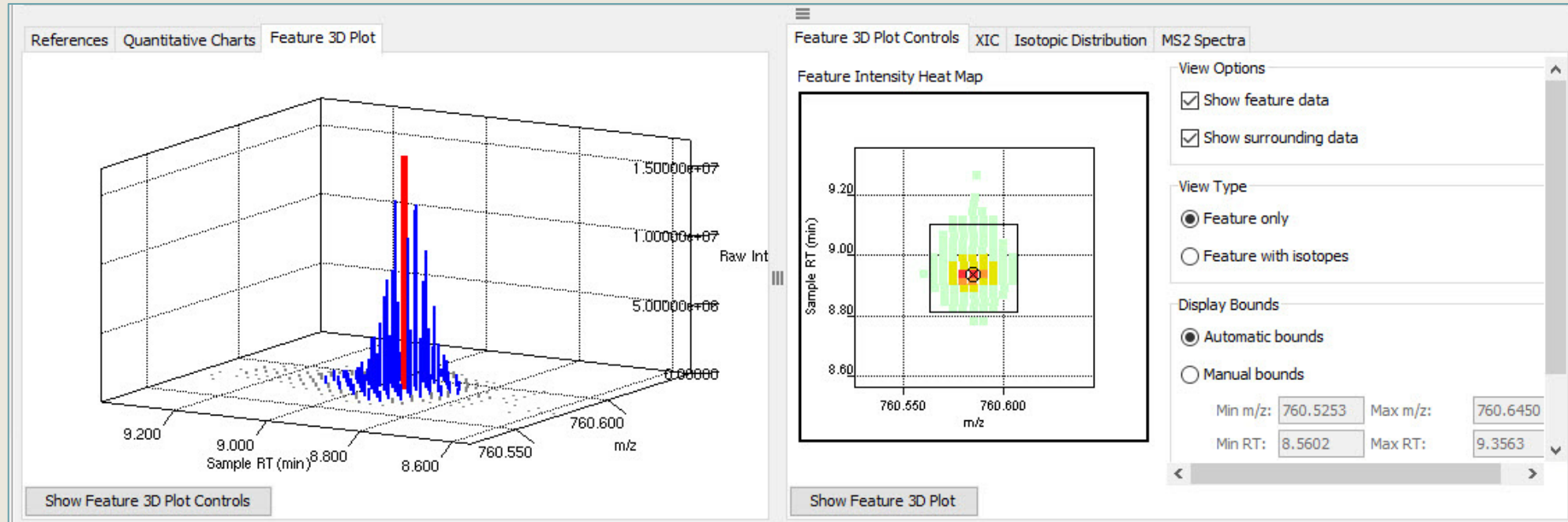
- Samples -> 選択中のIonのみ
- Ions -> すべてのイオン

MS2 Spectra

MS2スペクトルについて、実測値とライブラリのマッチング状況を確認可能。

- ・ 右クリックで表示方式切り替えなどが可能
- ・ 表示しているスペクトルを個人ライブラリに追加する事が可能





Feature 3D Plot & Feature 3D Plot Controls

Plot

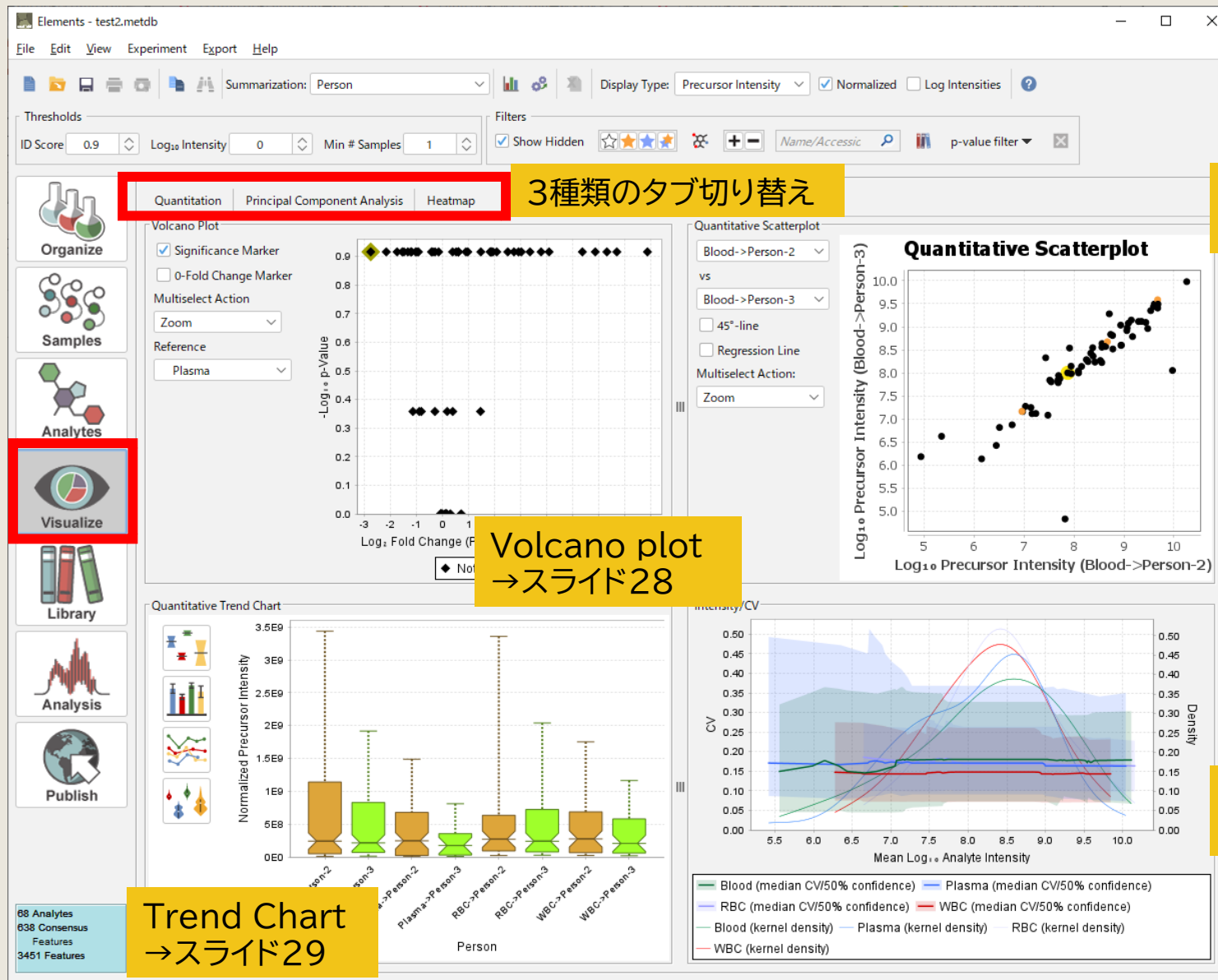
3D (RT, m/z, Intensity)グラフ。

Plot Controls

2Dヒートマップ表示で、さらに表示対象の調整も可能。Controlの選択内容によりPlot図も連動して変更

Visualize 画面

- Scaffold Elementsでできること
- 対応フォーマット・データ変換
- データ取り込み操作
- Samples画面
- Score、定量
- Samples以外の画面
 - Organize
 - Analyte
 - Visualize
 - Analysis
 - Publish
- 検定
- Flux Analysis
- その他



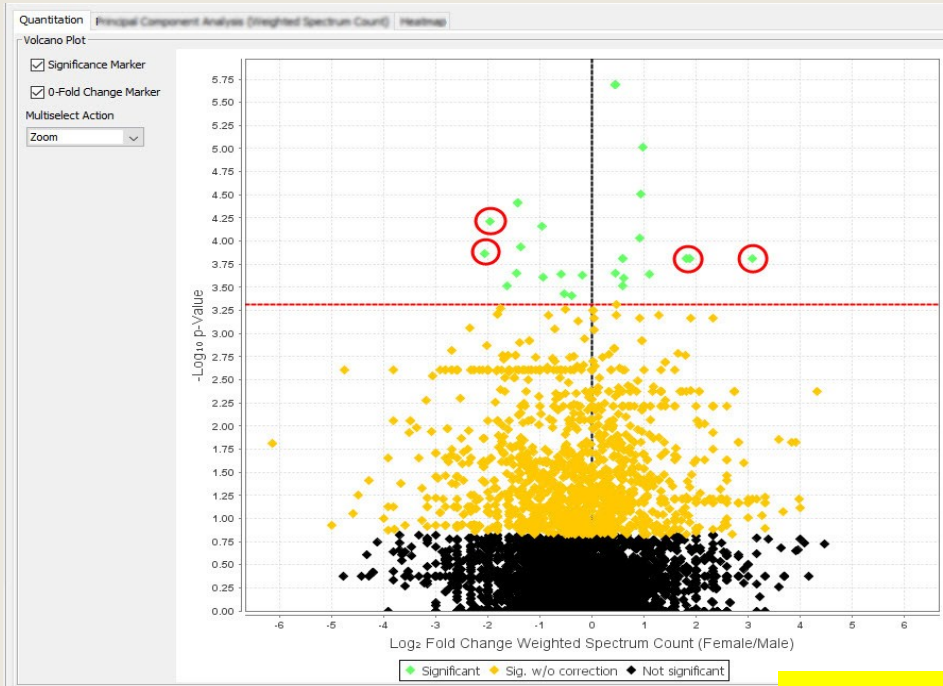
Scatter plot
→スライド28

Volcano plot
→スライド28

CV
→スライド29

Trend Chart
→スライド29

補足 : Quantitation タブのグラフ [1]



→ P.122

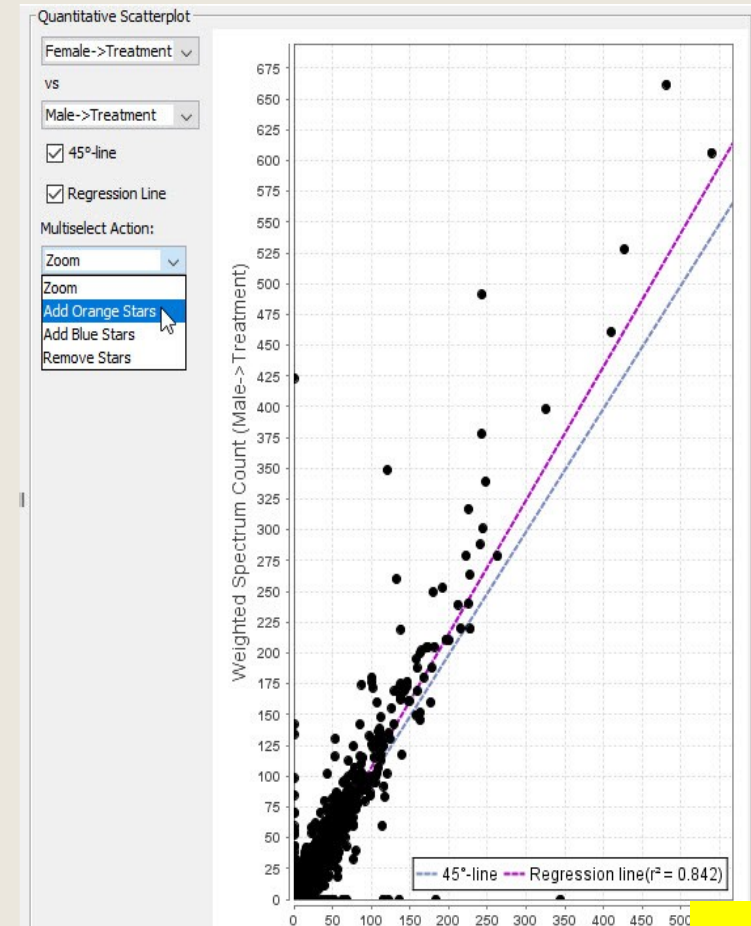
Volcano plot

縦軸 $-\text{Log}_{10}(p)$

横軸 $\text{Log}_2(\text{Fold Change})$

赤点線 多重検定検証の $p(q, \alpha)$

変動タンパク質をratio, p-value両面から探す



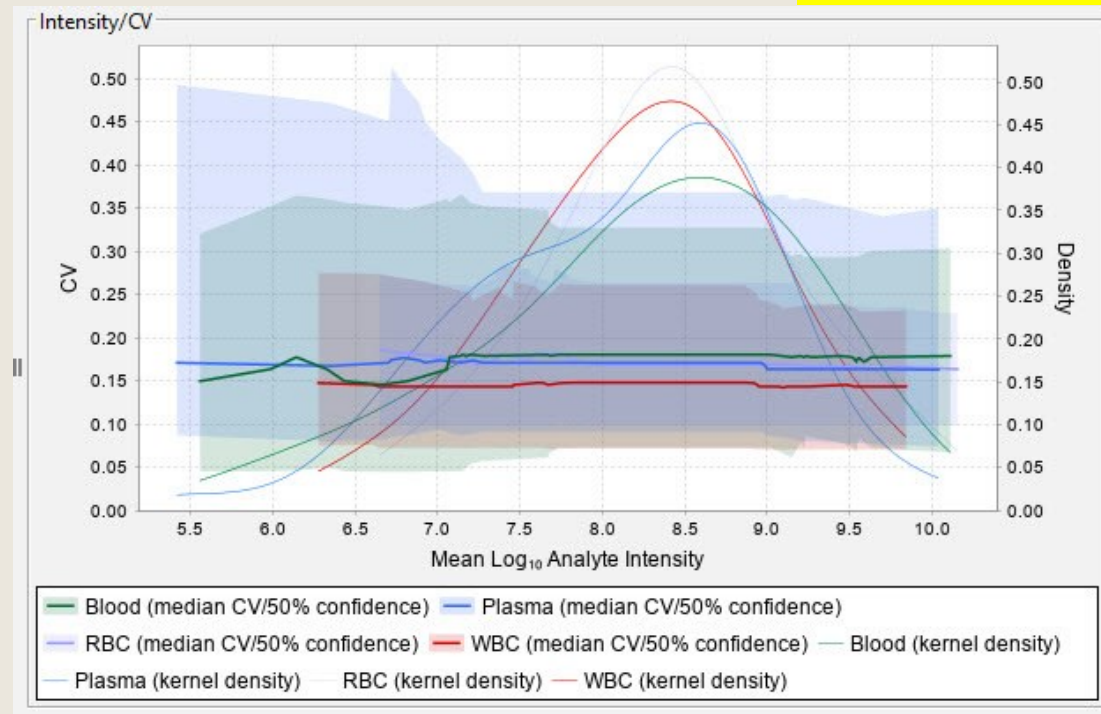
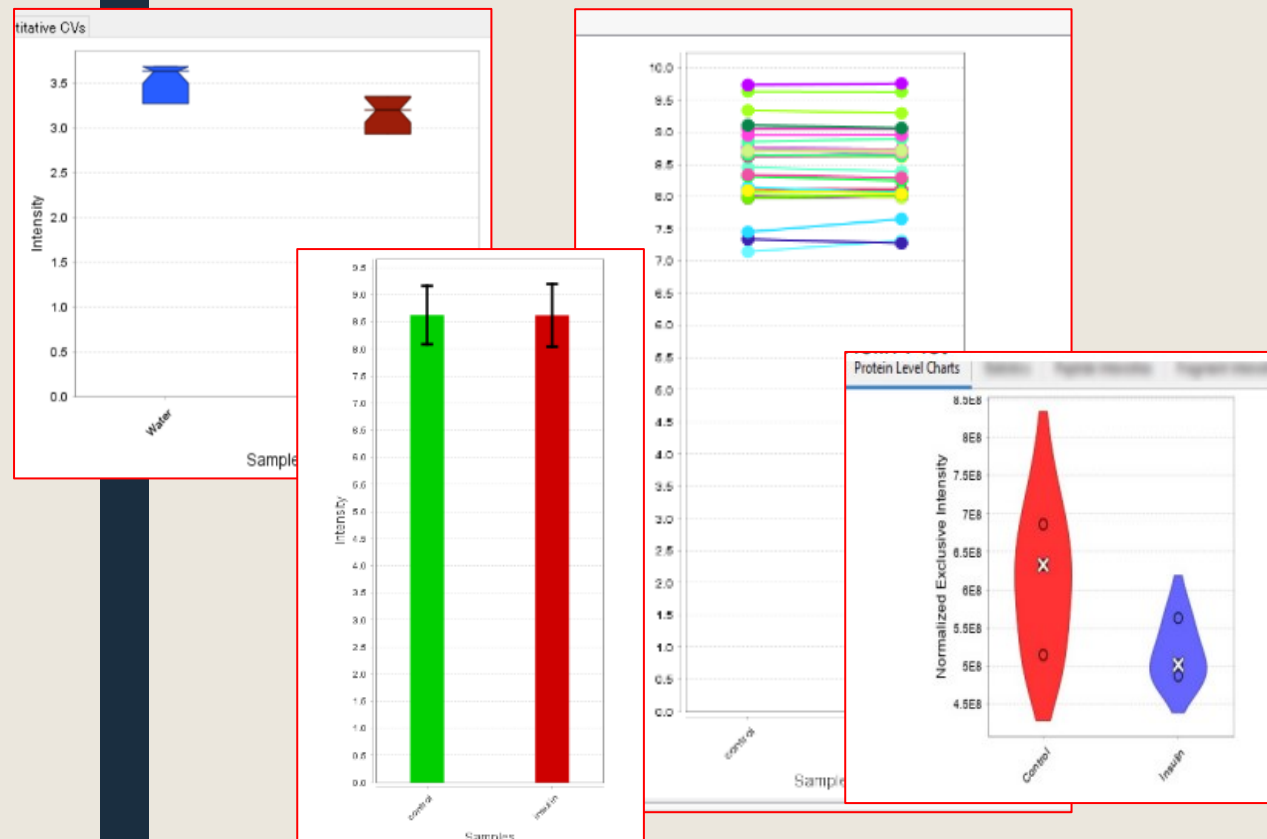
→ P.124

Scatterplot

$y=x$ や回帰直線から大きく外れる化合物を探す

補足 : Quantitation タブのグラフ [2]

→ P.125

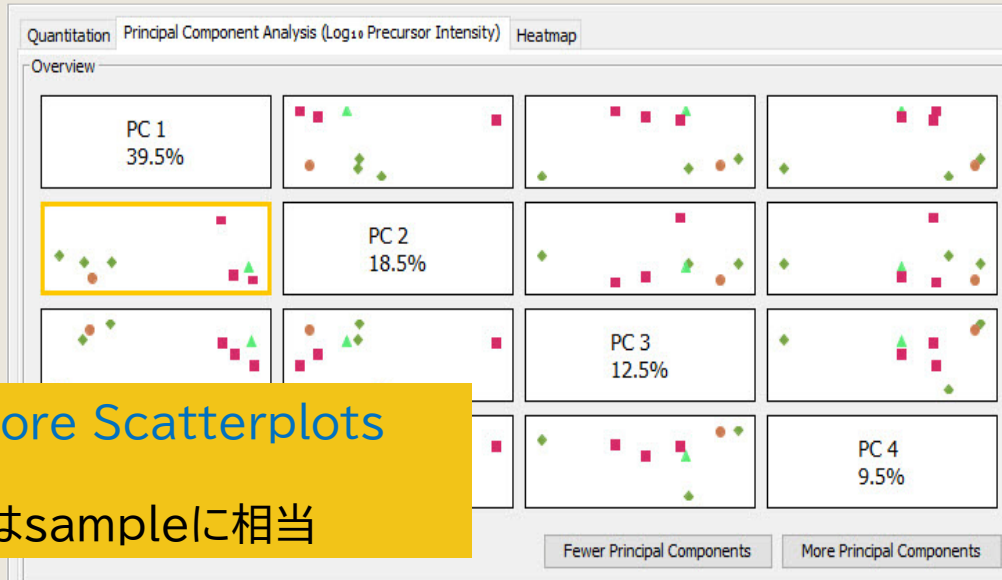


Trend Chart

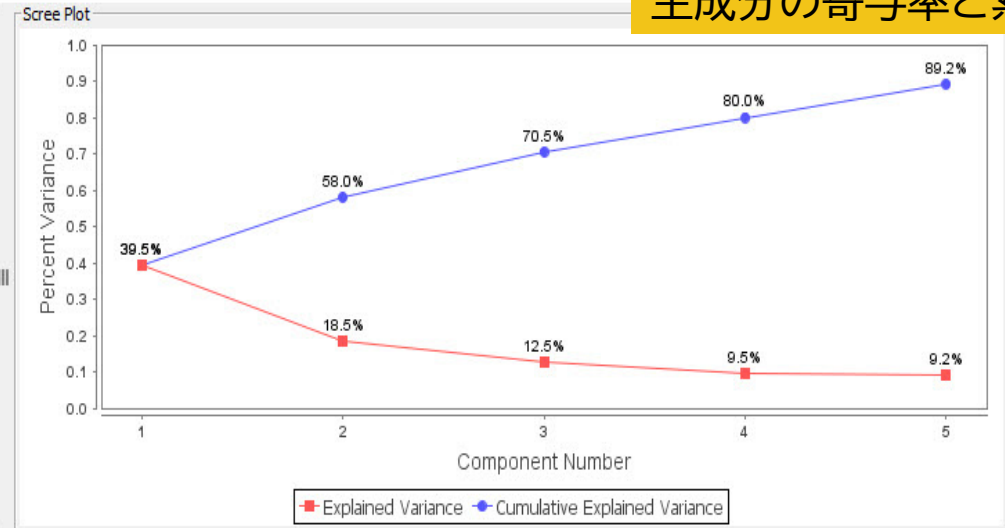
左から、箱ひげ図、棒グラフ、Trend line、Violin Plot。
サンプル毎の定量値ばらつきをチェックする

CV

CV50%信頼区間ならびに中央値 +
カーネル密度推定値を使った分布線



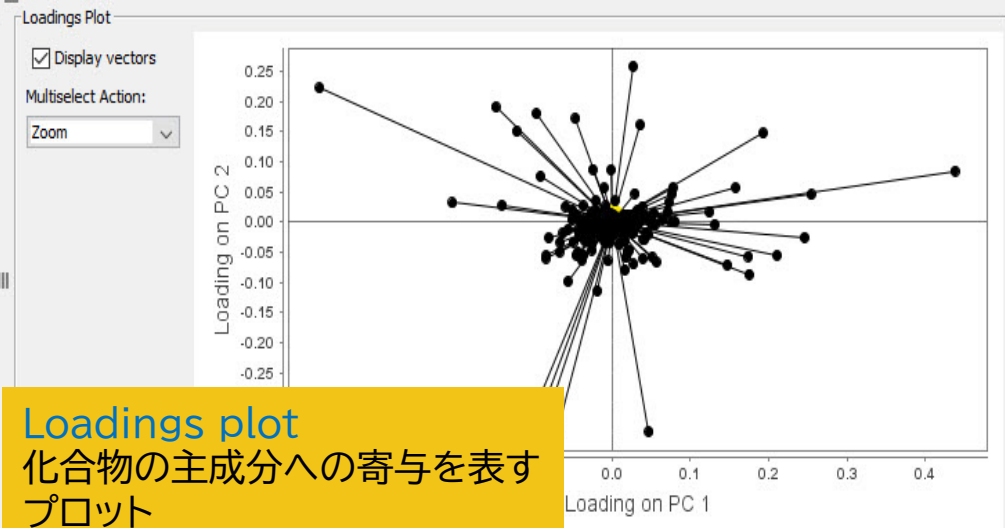
PCA Score Scatterplots
主成分別
プロットはsampleに相当



主成分の寄与率と累積



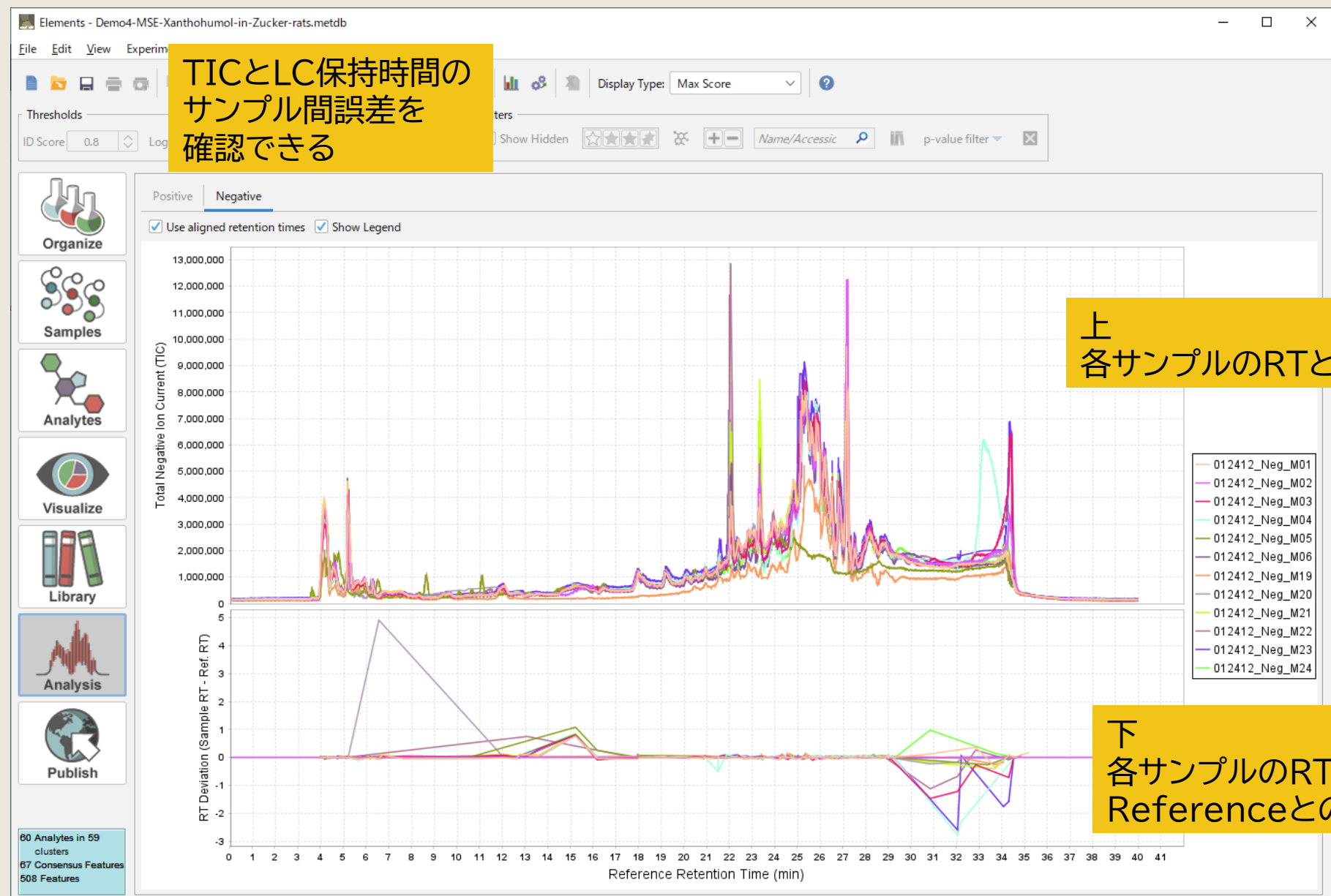
Score plot
PCA Score Scatterplotで
選択した主成分組み合わせの
拡大図



Loadings plot
化合物の主成分への寄与を表す
プロット

Analysis

- Scaffold Elementsでできること
- 対応フォーマット・データ変換
- データ取り込み操作
- Samples画面
- Score、定量
- Samples以外の画面
 - Organize
 - Analyte
 - Visualize
 - Analysis
 - Publish
- 検定
- Flux Analysis
- その他



Publish

Scaffold Elements

■ Scaffold Elementsで
できること

■ 対応フォーマット・
データ変換

■ データ取り込み操作

■ Samples画面

■ Score、定量

■ Samples以外の画面

- Organize
- Analyte
- Visualize
- Analysis
- Publish

■ 検定

■ Flux Analysis

■ その他

The screenshot shows the 'Elements' software interface with the 'Publish' button highlighted in the left sidebar. The main window displays the 'Experiment Methods' section, which lists various parameters for the analysis. A yellow callout box highlights the 'Search' parameters, and another yellow callout box highlights the 'Method' article preview on the right.

検索パラメータの確認、論文のMethodのような文章の作成

Section	Parameter	Value
Software Specifications	Elements Version	3.0.0
	ProteoWizard Version(s)	pwiz_Reader_Waters: 3.0.19254
	Generate Filtered mz5 Files	false
Search	Mass Range	[50.0 - 1200.0]
	Retention Time Range	Full Range
	Match Type	mass only
	Parent Tolerance	20.0 ppm
	Fragment Tolerance	0.1 Da
	RT Tolerance	0.5 min
	Treat MS1 Peak Group as Single Analyte	false
	Perform RT Alignment	true
	Perform Feature Reextraction	true
	Report Unknown Analytes	raise
Feature Finding	Noise Threshold	0.1% of max signal
	Minimum Delta Scan Time	0.5 sec
Adducts	[M-H]-	-1.007
	[M-H-H2O]-	-19.018
Library 1	Name	METLIN_spectral_libraries_v2017.11.06.libdb
	Vendor	
	Entries	72125
	File Location	METLIN_spectral_libraries_v2017.11.06.libdb

パラメーター一覧

Method文章

RAW DATA PROCESSING:
Raw data files were produced using the following chromatographic system: Demo 4. Raw data files were converted to mz5 format using ProteoWizard version(s) pwiz_Reader_Waters: 3.0.19254. Feature finding (a/k/a peak picking) was performed using Elements (version 3.0.0, Proteome Software Inc., Portland, OR). Feature finding was conducted over a mass range of [50.0 - 1200.0] and the entire retention time range. A noise threshold value of 0.1% of max signal and a minimum time between scans of 0.5 sec was used. MS2 spectra were detected for some features. Features were organized into isotopic clusters, and all appropriate MS2 spectra were associated to appropriate features. MS1 Peak Groups were formed within individual samples using a same-charge inclusion threshold of 1.0 sec and a cross-charge inclusion threshold of 1.0 sec. Retention time alignment was performed on all samples. Consensus MS1 Peak Groups were formed using a maximum RT difference of 5 min, and those consensus spectra identified in 75% of the samples were used for RT alignment. Following RT alignment, Consensus MS1 Peak Groups were regenerated, using a post-alignment maximum RT Difference of 1 min. Cross-sample gap filling feature reextraction was not performed. Analyte clusters were formed containing all analytes associated with a single consensus MS1 Peak Group. Analyte groups were formed containing all analytes with the same set of ions (peaks in the MS1 Peak Group).

SPECTRAL LIBRARY SEARCH:
Candidate analyte identifications were generated by matching experimental data to spectral library data using exact mass with a mass tolerance of 20.0 ppm. If both the MS2 spectra, MS2 peaks were matched between experimental data and library data with a mass tolerance of 0.1 Da. The following libraries were searched to generate candidate identifications:
METLIN_spectral_libraries_v2017.11.06.libdb (72125 entries)
NIST_hr_msms_v20.libdb (1025741 entries)
The following ion types were considered when matching features to library analytes: [M-H]- and [M-H-H2O]-. Features that did not match to any analytes contained in the spectral libraries were discarded.

SCORING:
To gauge confidence in candidate analyte identifications, an Analyte ID score was calculated from individual feature - library entry matches, incorporating mass accuracy, isotopic distribution, and fragmentation pattern. Analyte identifications that were identified with more ion types received a higher score than identifications made with fewer ion types.

検定

Scaffold Elements

- Scaffold Elementsでできること
- 対応フォーマット・データ変換
- データ取り込み操作
- Samples画面
- Score、定量
- Samples以外の画面
- 検定
 - 検定
 - 多重検定の補正
- Flux Analysis
- その他

Statistical Test

<input type="radio"/> ANOVA / t-test	P	≥2 Background×Concentrations
<input type="radio"/> Permutation Test	NP	≥2 Background×Concentrations
<input type="radio"/> Mann-Whitney U Test	NP	Exactly 2 Background×Concentrations
<input type="radio"/> Kruskal-Wallis Test	NP	≥2 Background×Concentrations
<input checked="" type="radio"/> None		

MenuのExperiment →
Quantitative Analysis
で実施

代表的な検定

Permutation Test

- ノンパラメトリック
- 2群 ○ 3群以上 ○
- ベースはF検定、群間のランダムなデータを入れ替えてF値を計算し続けます
- 10000回の入れ替え計算を行い、入れ替え前のF値より有意差以上に超えた回数を10000(データ入れ替えの試行回数)で割った値をp-value とする。

ANOVA/ t-test

- パラメトリック
- 2群 ○ 3群以上 ○
- ANOVA両側検定を行う。(2群しかない場合 t検定と同じ。)

Mann Whitney U test / Kruskal-Wallis test

- ノンパラメトリック
- 2群→Mann Whitney U, 3群以上→Kruskal-Wallis
- 同じ分布の形、スケールである事を前提とする

選択した実験計画と選択可能な検定について、
参考になる日本語による別資料(Scaffold DIA 日本語マニュアル)

<https://www.matrixscience.co.jp/supportpdf/scaffold/ScaffoldDIAManual.pdf#page=86>

多重検定の補正

- Scaffold Elementsでできること
- 対応フォーマット・データ変換
- データ取り込み操作
- Samples画面
- Score、定量
- Samples以外の画面
- 検定
 - 検定
 - 多重検定の補正
- Flux Analysis
- その他

Multiple Test Correction

- Control FWER with Hochberg's step-up and Holm's step-down
- Control FDR with standard Benjamini-Hochberg procedure
- Control FWER with Hochberg's step-up and Holm's step-down
- No correction

多重検定時の第一種過誤に対応する補正。

FDR: (False Discovery Rate)

BH法

FWER: Family Wise Error Rate

ホッホベルクのステップアップ手順&ホルムのステップダウン

- Scaffold Elementsでできること
- 対応フォーマット・データ変換
- データ取り込み操作
- Samples画面
- Score、定量
- Samples以外の画面
- 検定
- Flux Analysis
- その他

MenuのExperiment -> Flux Analysis で実施

- 同位体ラベルを使用して代謝経路を通る代謝物の変化を追跡
- 対応同位体ラベル： ^{13}C , ^{15}N , ^{18}O , D(重水素)
- 非ラベルサンプルを解析 → インデックスファイルを保存
→ インデックスと照らし合わせながらラベルサンプルの解析
- 質量並びに保持時間の誤差範囲指定
- リファレンス： アンラベル全て or 特定ファイル間の対応付け

補足説明：アンラベル全てをリファレンス指定

→ P.148

The screenshot shows the 'Launch Isotopic Flux Experiment' dialog box. It contains a table of files and unlabeled samples, and various configuration options. Six callouts provide step-by-step instructions:

1. Click Add and select labeled samples
2. By default, this box is unchecked and the consensus features across all unlabeled samples are used as reference
3. All unlabeled Files is automatically selected
5. Specify the parameters for the flux search
6. Click to launch the flux analysis

	File	Unlabeled Sample
✓	081513LPS12C1.mzML	All Unlabeled Files
✓	081513LPS12C2.mzML	All Unlabeled Files
✓	081513LPS12C3.mzML	All Unlabeled Files
✓	081513ctrl12C1.mzML	All Unabeled Files
✓	081513ctrl12C2.mzML	All Unlabeled Files
✓	081513ctrl12C3.mzML	All Unlabeled Files

Buttons: Add, Remove

Associate features from individual unlabeled samples with features in specific labeled samples

Storing Indexed Feature Files

Indexed Feature Files are large, so they must be created in a location with sufficient free space.

Location of Indexed Feature Files: C:\Demo [Browse...]

Saving Indexed Feature Files

Saving Indexed Feature Files allows you to bypass peak picking when loading the same files into a new experiment.

Save Indexed Feature Files
 Don't Save Indexed Feature Files

Isotopic Label: 13C

Mass Tolerance: 0.001 Da ✓

RT Tolerance: 120 seconds ✓

Require [M+0] present in analogous labeled sample
 Require incorporation number higher than 2 in analogous labeled sample
 Use only the most intense ion in each metabolite
 Perform reextraction of labeled isotopes from raw file.

Launch Flux Experiment [✓] All Flux Experiment parameters and settings are specified and valid

補足説明：ファイル毎に対応するリファレンスを指定

→ P.148

The screenshot shows the 'Launch Isotopic Flux Experiment' dialog box. It contains a table with columns for 'File' and 'Unlabeled Sample'. Below the table are various configuration options and a 'Launch Flux Experiment' button. Six numbered callouts provide instructions:

1. Click Add and select labeled samples
2. Click this box to specify which unlabeled sample should be used as reference for each labeled sample
3. Click and select the correct unlabeled sample for each labeled sample
5. Specify the parameters for the flux search
6. Click to launch the flux analysis

File	Unlabeled Sample
081513LPS13C1.mzML	081513LPS12C1
081513ctrl13C1.mzML	081513ctrl12C1

Buttons: Add, Remove

Options:
 Associate features from individual unlabeled samples with features in specific labeled samples
Storing Indexed Feature Files
Indexed Feature Files are large, so they must be created in a location with sufficient free space.
Location of Indexed Feature Files: C:\metabolomics_data\ [Browse...]
Saving Indexed Feature Files
Saving Indexed Feature Files allows you to bypass peak picking when loading the same files into a new experiment.
 Save Indexed Feature Files
 Don't Save Indexed Feature Files
Isotopic Label: 13C
Mass Tolerance: 0.001 Da
RT Tolerance: 120 seconds
 Require [M+0] present in analogous labeled sample
 Require incorporation number higher than 2
 Use only the most intense ion in each metabolite
 Perform reextraction of labeled peaks in raw data

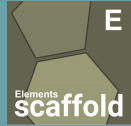
Launch Flux Experiment [Valid]

- Scaffold Elementsでできること
- 対応フォーマット・データ変換
- データ取り込み操作
- Samples画面
- Score、定量
- Samples以外の画面
- 検定
- Flux Analysis
- その他
 - 解析操作の流れ
 - Appendix 内容
 - インストール環境

その他：解析操作の流れ

- ソフトウェア起動
- 新規作成、Ctrl + N
(menuの「File」-> New やアイコンクリック)
- 検索パラメータ指定、解析開始
- データ取り込み完了
- 属性付与、階層構造化
- データ解析(定性解析、定量解析、検定)
- レポート

その他 : Appendix



- Scaffold Elementsでできること
- 対応フォーマット・データ変換
- データ取り込み操作
- Samples画面
- Score、定量
- Samples以外の画面
- 検定
- Flux Analysis
- その他
 - 解析操作の流れ
 - Appendix 内容
 - インストール環境

- Appendix A. Creating A Personal Spectral Library
- Appendix B. Creating a Custom Spectral Library using a tab-delimited text file
- Appendix C. Elements Scoring Algorithms
- Appendix D. Rolling up Values
- Appendix E. Agglomerative Point Clustering Feature Finding Algorithm
- Appendix F. Isotopic Clustering
- Appendix G. Forming Consensus MS1 peak groups
- Appendix H. Exporting a Transition List to Skyline
- Appendix I. Structure of Scaffold Elements files (*.metdb)
- Appendix J. Terminology
- Appendix K. Heat map clustering
- Appendix L. Techniques to Control the Family-wise Error Rate
- Appendix M. Using Principal Component Analysis in Scaffold Elements
- Appendix N. How PCA is Performed in Scaffold Elements
- Appendix O. Description of Mouse Right Click Context Menu Commands

- Scaffold Elementsでできること
- 対応フォーマット・データ変換
- データ取り込み操作
- Samples画面
- Score、定量
- Samples以外の画面
- 検定
- Flux Analysis
- その他
 - 解析操作の流れ
 - Appendix 内容
 - インストール環境

その他：インストール環境

・対応OS

Windows 10,11 (64bit)

* MacやLinux版使用の場合、解析前にmzMLを準備

・メモリ

最低 4GB以上、32GB以上を強く推奨

・ストレージ

最低 数百 MB 以上。高速SSD の使用を推奨

・CPU

使用可能なコア数の上限が 64コア