

# Skyline カスタムレポート(ドラフト版)

---

Skyline のターゲットプロテオミクス環境下では、Skyline ドキュメントにインポートした質量分析生データの画像が表示され、有益な情報を得ることができます。このデータを利用して、測定しているペプチドやトランジションを最適化したり、積分境界を調整したりすることができます。Skyline ドキュメントからは、豊富なさまざまな計算値と統計を Excel や R のようなツールでの詳しい分析にぴったりの表形式のカンマ区切り (CSV) ファイルにエクスポートできます。Skyline の結果およびドキュメントグリッドは、こういった多数の値へのアクセスを提供し、データ作業時にカスタム注釈やネイティブプロパティが編集できるようにします。

本チュートリアル最初の部分は、Skyline のカスタムレポートに焦点を当て、レポートをどのように設計し、共有し、Skyline ドキュメントからの生データや概要統計のエクスポートに使用できるかを学んでいきます。エクスポートされたレポートは、以下のように使用できます。

- Excel や R のようなツールでの詳細統計分析
- 複数の実験や研究室での幅広い統計分析
- 要約統計量を使った装置の品質管理の実施
- 他のカスタム作成ソフトウェアツールに対する入力形式の提供
- リレーショナルデータレポジトリに適したインポート形式の提供

Skyline の開発にあたっては、ターゲット質量分析研究においてベンダーに依存しないプラットフォームの構築を目指しました。Skyline では、Agilent、Bruker、SCIEX、島津製作所、Thermo-Scientific、Waters 社の装置からのデータが入力されたドキュメントに対し、類似したカスタムレポートをエクスポートできます。さまざまな装置プラットフォームで一貫したレポートを作成できると、装置間の比較および大規模な複数施設間での共同研究が容易になります。

実験に合わせたカスタムレポートの作成方法を理解することは非常に重要であり、本 Skyline カスタムレポートのチュートリアルで詳しく説明しています。

本チュートリアルの後半では、カスタムレポートで利用可能な多数のデータフィールドにリアルタイムアクセスを提供する、Skyline の [結果およびドキュメントグリッド] 表示に焦点を当てていきます。Skyline で質量分析計の出力を調べ、最適化する際に結果およびドキュメントグリッドの列をカスタマイズして重要な値にすぐにアクセスできるように学びます。また、結果のさらなる解釈や人との相互作用に使用する管理用語を提供するためのカスタム注釈を使った作業方法も学びます。これもカスタムレポートでエクスポートできます。

## はじめに

本チュートリアルを始める前に、次の zip ファイルをダウンロードしてください。

<https://skyline.gs.washington.edu/tutorials/CustomReports.zip>

この中のファイルを、次のようにコンピュータ上のフォルダで解凍します。

C:\Users\brendanx\Documents

これにより次の新しいフォルダが作成されます。

C:\Users\brendanx\Documents\CustomReports

この新しいフォルダの中の Study7\_example.sky ファイルをダブルクリックして開きます。または、Skyline の [ファイル] メニューの [開く] を利用して開きます。

## データの概要

Study7\_example.sky 内のデータセットは、Clinical Proteomics Technology Assessment for Cancer(CPTAC)コンソーシアムが実施した研究のサブセットです(T. Addona et al 『Multi-site assessment of the precision and reproducibility of multiple reaction monitoring-based measurements of proteins in plasma』、*Nature Biotechnology*、**2009**、27、633~641)。この特定の研究は、アナライトペプチドのさまざまな濃度での校正曲線や、該当する同位体標識内部標準のレベルでの一定スパイクを説明します。

Skyline ファイルは、ある CPTAC 施設で取得された CPTAC Study 7.2 データ（「Study II」と呼ばれる論文）のサブセットからのデータを表示します。Skyline ファイルは、LC-MRM-MS が監視する、アナライトタンパク質（Light ペプチド）の濃度が 500 fmol から 2.92 fmol の 10 種類のペプチドシーケンスのデータを表示します（繰り返し測定 J: 500 fmol、I: 275 fmol、H: 151 fmol、G: 83 fmol、F: 46 fmol、E: 25 fmol、D: 8.55 fmol。低濃度のポイント、ただし本チュートリアルに取得値は含まれていません）。Heavy 内部標準(IS)ペプチドは、それぞれ 50 fmol の濃度でスパイクしています。

このデータセットがどのようになるのか第一印象を見るには、以下の手順を実施します。

- [ターゲット] 表示の「HGFLPR」ペプチドをクリックします。
- [ビュー] メニューで [ピーク面積] を選択し、[繰り返し測定の比較] (F8) をクリックします。

各繰り返し測定のピーク面積の棒グラフを示す新しいウィンドウが表示されます。青い棒はこのペプチドの Heavy 標識を表し（常に 50 fmol でスパイク）、赤い棒はさまざまな濃度での Light アナライトを表します（各濃度ポイントは 4 回のテクニカル反復測定で取得）。

その他のチュートリアルは、このようなドキュメントの表示方法や編集方法を説明します。ただし本チュートリアルの目的上、レポートをエクスポートしたり詳しい統計分析に使用する場合には、Study7\_example.sky ドキュメントに初期積分確認が行われています。チュ

ートリアルの残りの部分に進む前に以下の操作を行います。

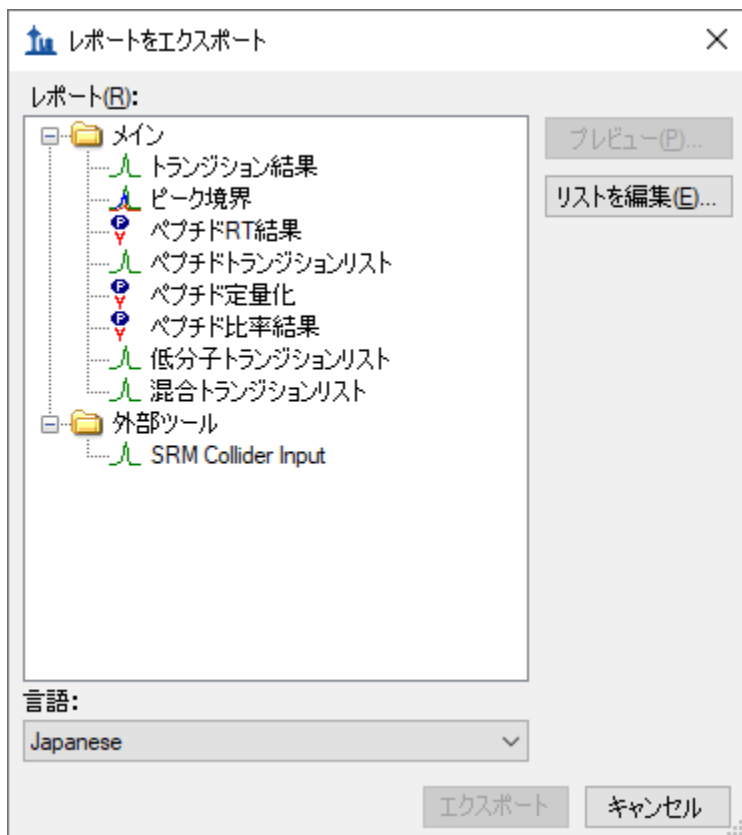
- [ピーク面積]表示を閉じます。

## 簡単なカスタムレポートの作成

最初の Skyline カスタムレポートテンプレートを作成するには、以下の手順を実施します。

- [ファイル]メニューで[エクスポート]を選択し、[レポート]をクリックします。

[レポートをエクスポート]フォームが表示されます。ここには、おそらく少なくともデフォルトの Skyline レポートテンプレートが表示されます。



以下の手順を実施して、新しい Skyline カスタムレポートテンプレートの作成を続けます。

- [リストを編集]ボタンをクリックします。
- [レポートを編集]フォームで[追加]ボタンをクリックします。
- [レポートを編集]フォームで、[レポート名]フィールドに「Overview」と入力します。

フォームは以下ようになります。

レポートを編集

レポート名(N): Overview

列 フィルタ

- タンパク質
  - ペプチド
  - タンパク質結果
    - タンパク質名
    - タンパク質の説明
    - タンパク質アクセッション
    - タンパク質推奨名
    - タンパク質遺伝子
    - タンパク質種
    - タンパク質シーケンス
    - ペプチドを自動選択
    - タンパク質メモ
    - タンパク質ローケータ
- 繰り返し測定

繰り返し測定名を軸にす  同位体標識を軸にす

OK キャンセル

- [+] ボタンをクリックしてフィールドグループである [ペプチド] と [繰り返し測定] を展開し、エクスポート可能な他の多数のフィールドを表示します。
- 展開された [ペプチド] グループから、[ペプチドシーケンス] フィールドの横にあるチェックボックスをクリックします。

フォームは以下ようになります。

レポートを編集

レポート名(N): Overview

プレビュー...

列 フィルタ

タンパク質

- ペプチド
  - プリカーサー
  - ペプチド結果
  - ペプチドシーケンス**
  - ペプチドシーケンス長
  - ペプチド修飾シーケンス
  - 分子式
  - 標準タイプ
  - 前へAa
  - 次のAa
  - 開始位置
  - 終了位置
  - ミス開裂
  - 保持時間カルキュレータスコア
  - 予測保持時間
  - 平均測定保持時間
  - 明示的保持時間
  - 明示的保持時間ウィンドウ
  - 正規化メソッド
  - ペプチドメモ
  - ペプチドローケーター
  - 内部標準濃度
  - 濃度乗数
  - 校正曲線
  - 性能指数
  - プリカーサーを自動選択

ペプチドシーケンス

繰り返し測定名を軸にす  同位体標識を軸にす

OK キャンセル

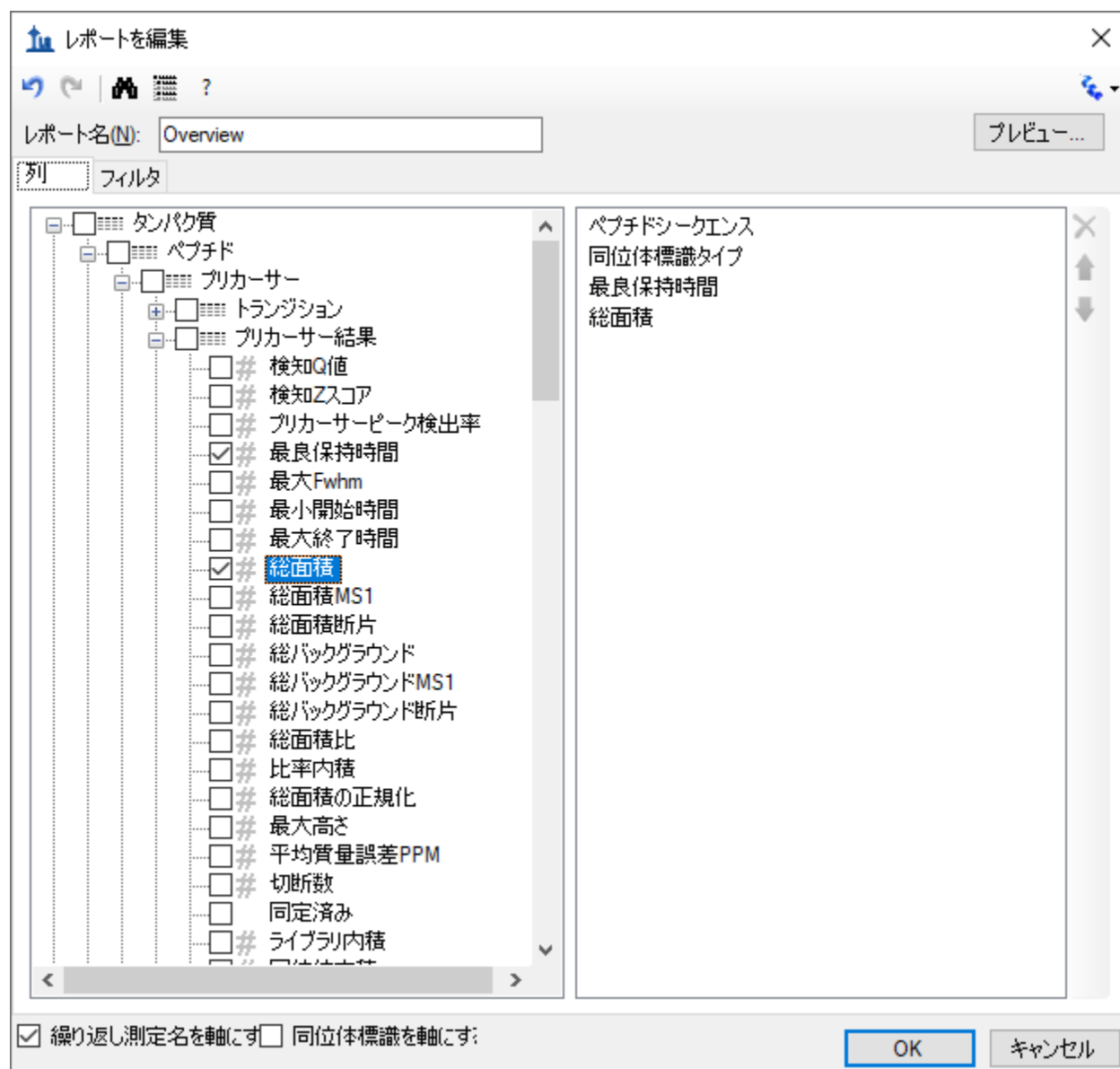
上記に示す [レポートを編集] フォームのフィールドには、明確な階層構造がありますので注意してください。最上位にあるのはタンパク質固有フィールドで、左のボックス（タンパク質名、タンパク質の説明、タンパク質シーケンス、タンパク質メモ）の下部に表示されます。その下にある展開された [繰り返し測定] グループには、繰り返し測定名などの一般的なフィールドが含まれています。Skyline カスタムレポートはまた、ペプチド固有フィールドも提供し、これは左のボックスの上部にある展開された [ペプチド] グループに含まれています。この中には、ペプチドシーケンスや平均測定保持時間などがあります。ペプチド固有フィールドには [ペプチド結果] グループが含まれており、これはまだ展開されていません。また、[プリカーサー] グループも展開されておらず、ここにはプリカーサー固有フィールド、[プリカーサー結果] グループ、そして最後に [トランジション] フィールドグループがあります。[トランジ

ション]グループにはトランジション固有フィールドと対応する[トランジション結果]グループが含まれており、このグループには保持時間、Fwhm、開始時間、終了時間、面積およびバックグラウンドなどの最も詳しい結果値が含まれています。上位の結果フィールド値の多くは、このようなデータに由来しています。

[レポートを編集]フォームで以下の手順を実施し、最初のカスタムレポートテンプレートに続けてフィールドを追加していきます。

- 「+」アイコンをクリックして、[プリカーサー]グループ（一番上にある展開された[ペプチド]グループのすぐ下にある）を展開します。
- 展開された[プリカーサー]グループに表示されるようになった[プリカーサー結果]グループフィールドを展開します。
- 展開された[プリカーサー]グループの[同位体標識タイプ]フィールドの横にあるチェックボックスをクリックします。（必要であれば下にスクロールしたり、フォームのサイズを変更します。）
- この手順を繰り返して、[プリカーサー結果]グループの以下の追加フィールドをレポートテンプレートの列リストに追加します。
  - **最良保持時間**—特定のプリカーサーに対して最大強度を持つトランジションの保持時間値
  - **総面積**—特定のプリカーサーの各トランジションすべての総面積値（このフィールド値の詳細については、[レポートを編集]フォームの上にあるツールストリップの「？」ボタンをクリックします）
- [レポートを編集]フォームの左下隅にある[繰り返し測定名を軸にする]チェックボックスをオンにします。

これによって、[レポートを編集] フォームは以下ようになります。



- [レポートを編集] フォームで [プレビュー] ボタンをクリックします。

[プレビュー] フォームは以下ようになります。

	ペプチドシーケ エンス	同位体標識タ イプ	7_2_D_01 最良保持時 間	7_2_D_01 総面積	7_2_D_02 最良保持時 間	7_2_D_02 総面積	7_2_D_03 最良保持時 間	7 総
▶	AGLCQTFVYGG...	light	19.32	84357	19.39	84909	19.34	83
	AGLCQTFVYGG...	heavy	19.32	763783	19.37	770970	19.35	75
	INDISHTQSVSAK	light	16.48	148667	16.6	125258	16.42	13
	INDISHTQSVSAK	heavy	16.47	4811985	16.57	3739629	16.34	41
	LFTGHPETLEK	light	18.03	752366	18.05	739197	18.12	78
	LFTGHPETLEK	heavy	18.03	3336096	18.05	3185734	18.12	32
	HGFLPR	light	17.61	1031266	17.61	984459	17.67	10
	HGFLPR	heavy	17.54	3637927	17.57	3727934	17.62	38
	YLASASTMDHAR	light	17.42	293092	17.46	302012	17.51	29
	YLASASTMDHAR	heavy	17.42	1784583	17.46	1802834	17.51	18
	IVGGWECEK	light	18.46	219584	18.48	218727	18.55	19
	IVGGWECEK	heavy	18.46	1239970	18.48	1309120	18.55	11
	LSEPAELTDAVK	light	19.06	316145	19.07	329088	19.07	31

プレビュー機能は、レポートテンプレート設計時にはかなり便利です。レポートをファイルにエクスポートする際の代用として使うこともできます。ツールバー上のコピーボタン(📄)は、列ヘッダーを含むすべてのデータをコピーします。また、列ヘッダーの左にある左上の長方形をクリックして[プレビュー]フォームのすべての値を選択することもできます。Ctrl+C キーを押すと、列ヘッダーを除くレポートのすべてがコピーされます。どちらかの方法でデータをコピーしたら、そのデータを Excel などの別のツールに貼り付けられます。

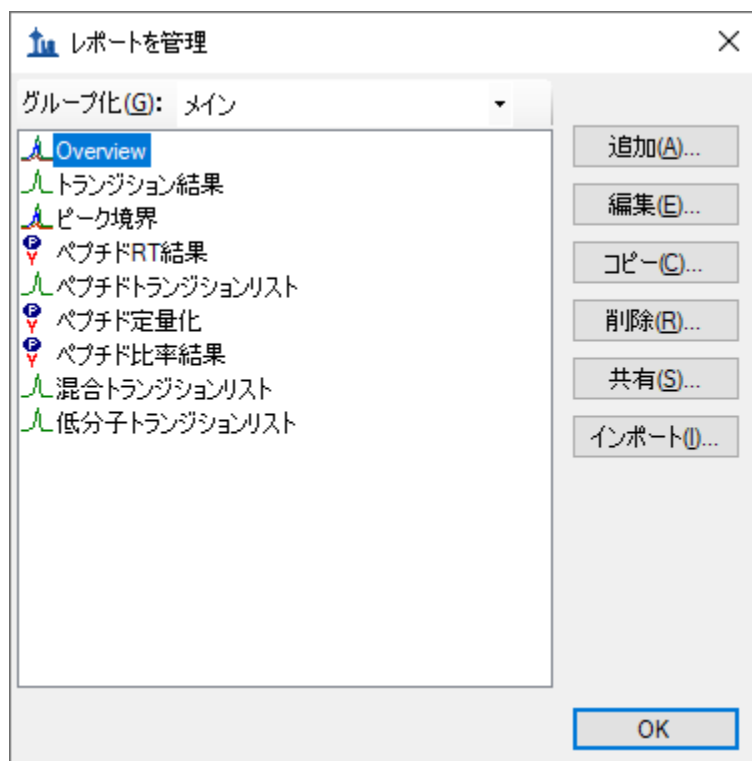
繰り返し測定 7\_2\_D\_01 および 7\_2\_D\_02 に対して上記で表示されるレポートのプレビューは、列にあるすべての LC-MRM-MS 取得/実験での Light と Heavy 両形態のペプチド全 10 種に対するプリカーサーの最良保持時間および総面積を右側に表示します。右にスクロールすると、LC-MRM-MS 取得全 28 種の列が表示できます。右上隅にある四角をクリックして[プレビュー]フォームを最大化し、さらに多くの列を表示します。この例では、7\_2\_D\_01 および 7\_2\_D\_02 が同じ Light アナライト濃度の試料から取得されています。したがって、総面積値は類似したものになることが予想されます。文字 D から J はそれぞれ、異なる Light アナライト濃度を示します。各濃度は、01 から 04 の数字で示される 4 回のテクニカル反復測定で取得されたものです。Heavy ペプチド濃度は、どの試料でも 50 fmol で一定に保持されました。

右上隅にある「x」をクリックして[プレビュー]フォームを閉じ、再び[レポートを編集]フォームに戻ります。このレポートテンプレートを保存するには、以下の操作を行います。

- [OK] ボタンをクリックします。

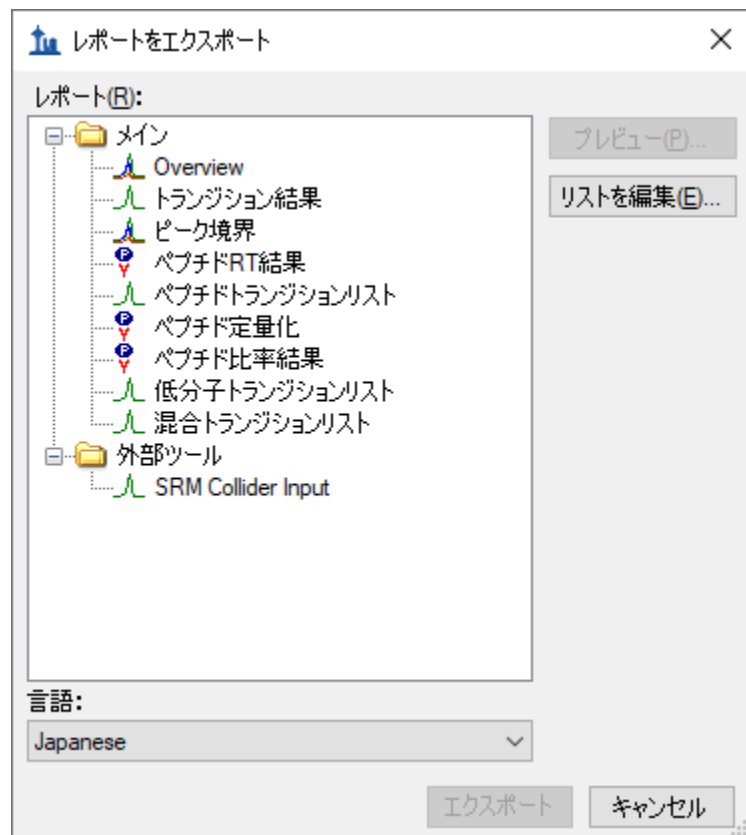


以下に示すように、レポートテンプレートリストに新しい **Overview** レポートテンプレートが表示されます。



- 再度 [OK] ボタンをクリックして [レポートをエクスポート] フォームに戻ります。

今度は Skyline レポートテンプレートリストに新しい **Overview** レポートテンプレートが追加されています。[レポートをエクスポート] フォームは以下のようになります。



レポートリストで「Overview」を選択し、[エクスポート] ボタンをクリックして、[レポートをエクスポート] フォームから、新しいレポートをエクスポートできるようになりました。現在のところはフォームを閉じ、オリジナルの Skyline ドキュメント表示からプロセスを開始します。

- [キャンセル] ボタンをクリックします。

## レポートデータのファイルへのエクスポート

上記で作成し、プレビューしたレポートを CSV ファイルにエクスポートするには、以下の操作を行います。

- [ファイル] メニューで [エクスポート] を選択し、[レポート] をクリックします。
- [レポート] リストで、「Overview」を選択します。
- [エクスポート] ボタンをクリックします。
- [レポートをエクスポート] フォームの [ファイル名] フィールドに、「Overview\_Study7\_example.csv」と入力します。
- [保存] ボタンをクリックします。

本チュートリアル用に作成した CustomReports フォルダを表示する Windows ファイルエクスプローラーウィンドウに切り替えると、今作成した Overview\_Study7\_example.csv ファイルが表示されます。これを今度は Excel で開き、内容が先ほど表示したプレビューに似ていることを確認します。ファイルには列ヘッダー名が含まれていますので注意してください。これは [プレビュー] フォームを単にコピーして貼り付けただけでは表示されません。

## レポートテンプレートの共有

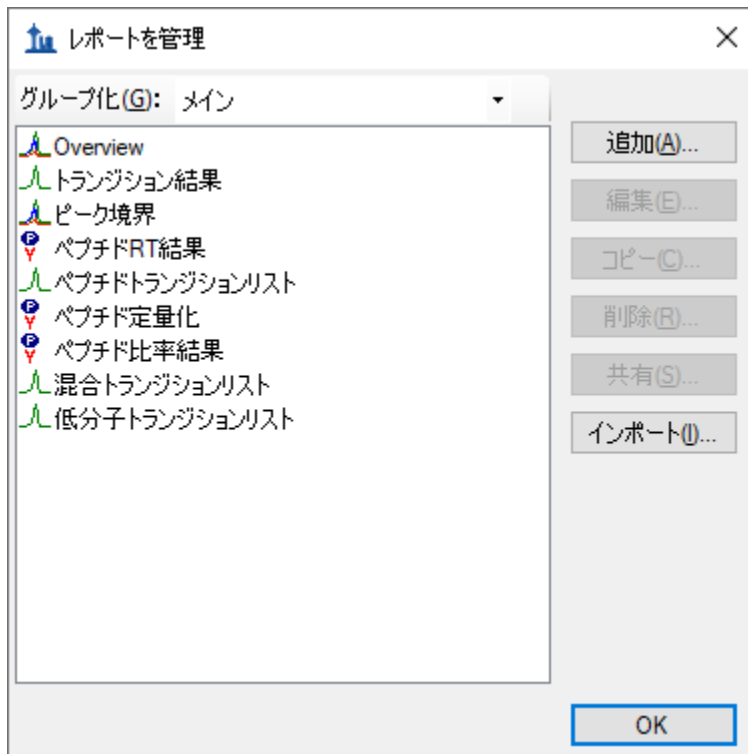
Skyline のレポートテンプレートは非常に柔軟で、管理や変更、共同研究者との共有が簡単にできます。

大規模な複数研究施設での研究に参加しているにしろ、単一の共同研究者と共同作業しているにしろ、またはプロテオミクスコミュニティに Skyline ドキュメントの特定のフィールドに依存する独自のカスタムツールを提供しているにしろ、他の人がプロトコルを繰り返すことができるように原稿に補足情報を提供しているにしろ、カスタムレポートテンプレートを共有したい理由はいろいろあるでしょう。Skyline の複数ベンダー装置のサポートは、共有するレポートテンプレートを使用すると、異なる装置を使用する複数施設からデータを収集できることを意味します。

本チュートリアルで作成した Skyline レポートテンプレートを共有するには、以下の手順を実施します。

- [ファイル]メニューで[エクスポート]を選択し、[レポート]をクリックします。
- [レポートをエクスポート]フォームで[共有]ボタンをクリックします。

Skyline は、以下に示す [ レポートを管理 ] フォームを表示します。



- リストの「Overview」をクリックして選択します。
- [共有] ボタンをクリックします。
- [名前を付けて保存] フォームの [ファイル名] フィールドに「Overview」と入力します。
- [保存] ボタンをクリックします。

レポートテンプレートが本チュートリアル用に作成された CustomReports フォルダの「Overview.skyr」ファイルに保存されます。これで独自の分析ツールを使って、または原稿の補足データとしてこれを共同研究者と共有できるようになります。

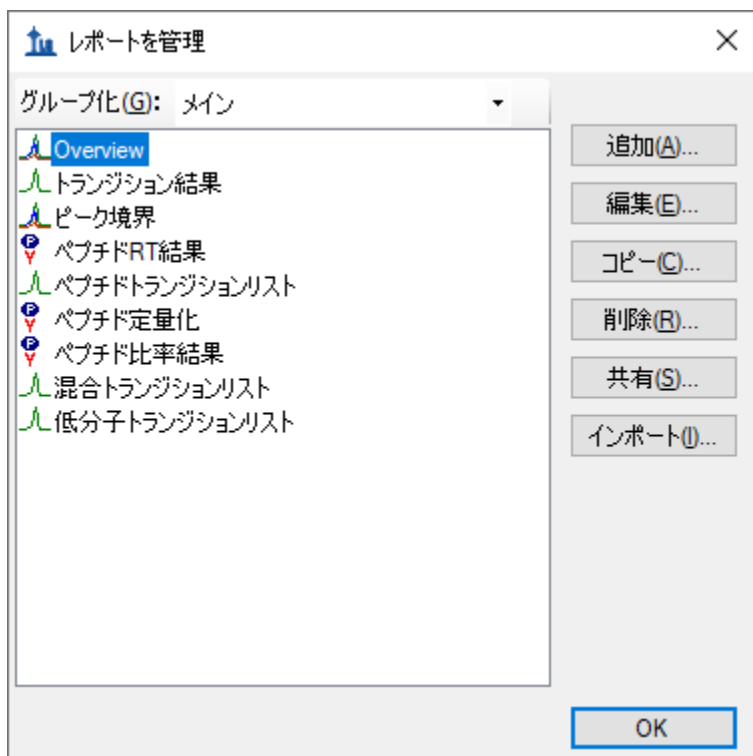
## Skyline でのレポートテンプレートの管理

共有したカスタムレポートテンプレートを他の人がどのように使用するかを理解するには、まずそれを自分のシステムから削除する必要があります。その後、前のセクションで作成した共有レポートファイル「Overview.skyr」を他の人から取得したかのように追加して戻すことができます。

[レポートをエクスポート] フォームは、前のセクションで手順を実施した後もまだ開いたままです。Skyline 設定から「Overview」レポートテンプレートを削除するには、以下の操作を行います。

- [リストを編集] ボタンをクリックします。
- [レポートを管理] フォームのリストから「Overview」項目を選択します。

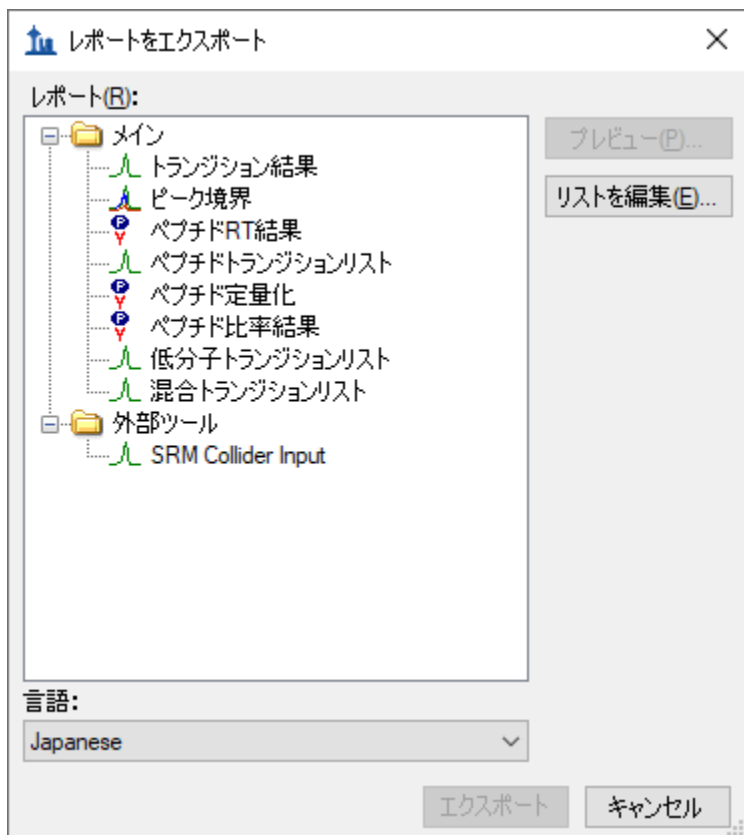
[レポートを管理] フォームは以下のようになります。



リストから「Overview」項目を削除するには、以下の操作を行います。

- [削除] ボタンをクリックします。
- [OK] ボタンをクリックします。

[レポートをエクスポート] フォームは以下ようになります。



本チュートリアルで最初に開いたときとちょうど同じです。

共同研究者が新しいレポートテンプレートをどのように Skyline にインポートするのかをデモンストレーションするには、以下の手順を実施します。

- [リストを編集] ボタンをクリックして [レポートを管理] フォームを開きます。
- [インポート] ボタンをクリックします。
- [開く] フォームで先ほど作成した「Overview.skyr」ファイルを選択します（本チュートリアル「CustomReports」フォルダの内容をまだ表示しているはず）。
- [開く] ボタンをクリックします。
- [レポートを管理] フォームで [OK] ボタンをクリックします。

これらの操作により、「Overview」項目が [レポートをエクスポート] フォームの [レポート] リストに再び追加されます。これが実際に保存したレポートであることを確認するには、以下の手順を実施します。

- [レポート] リストで「Overview」項目を選択します。
- [プレビュー] ボタンをクリックします。

Skyline は、本チュートリアルで先ほど確認したのと同じ値を含む [プレビュー] フォームを表示します。

## 既存のレポートテンプレートの変更

もちろん、単なる「Overview」レポートよりも多くのデータを含むレポートを作成できます。これは別の新規レポートテンプレートを作成したり、既存の「Overview」レポートを編集したり、または以下に示すように「Overview」レポートのコピーを作成してコピーを編集するなどによって行うことができます。「Overview」レポートテンプレートのコピーから新しくより複雑なレポートを作成するには、以下の手順を実施します。

- [レポートをエクスポート] フォームで [リストを編集] ボタンをクリックします。
- [レポート] リストで「Overview」項目を選択します。
- [コピー] ボタンをクリックし、表示されるメニューで [レポートエディタを開く] をクリックします。

Skyline は、以下のように「Overview」レポートテンプレートのフィールドがすでに追加された状態で [レポートを編集] フォームを表示します。

レポートを編集

レポート名(N):  プレビュー...

列 フィルタ

- タンパク質
  - ペプチド
  - タンパク質結果
    - Ab タンパク質名
    - Ab タンパク質の説明
    - Ab タンパク質アクセッション
    - Ab タンパク質推奨名
    - Ab タンパク質遺伝子
    - Ab タンパク質種
    - Ab タンパク質シーケンス
    - ペプチドを自動選択
    - Ab タンパク質メモ
    - Ab タンパク質ローケター
- 繰り返し測定

ペプチドシーケンス  
同位体標識タイプ  
最良保持時間  
総面積

繰り返し測定名を軸にす  同位体標識を軸にす

OK キャンセル

この新規レポートテンプレートのレポート名は、まだ指定されていません。レポート名をここで指定するには、以下の操作を行います。

- [レポート名] フィールドに「Study 7」と入力します。

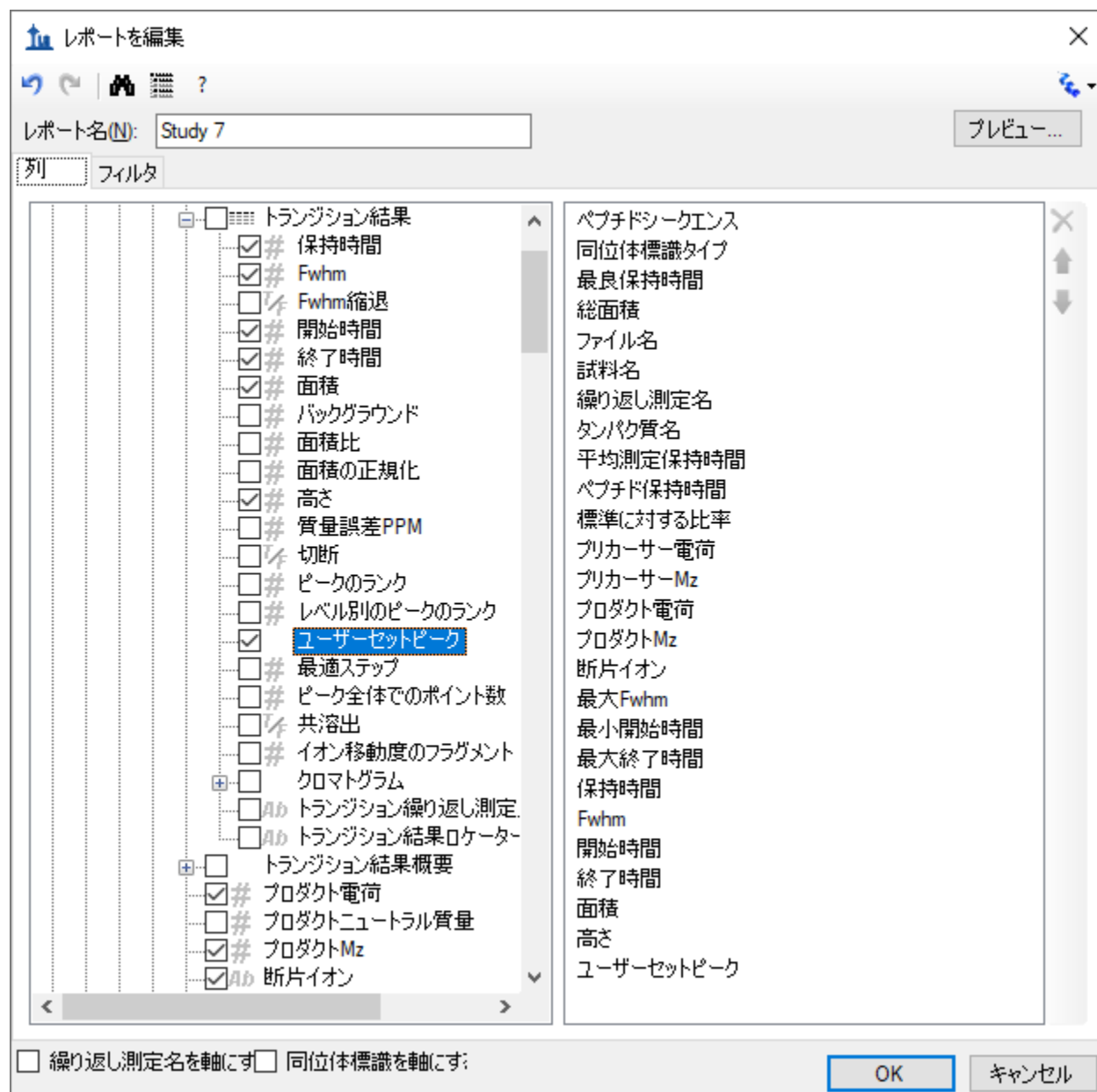
以下に説明するように、各フィールドの横にあるチェックボックスをクリックして[レポートを編集]フォームの右側にあるレポートテンプレートの列リストに追加し、さらに多くのフィールドを追加していきます。

- 左側にある[+]アイコンをクリックしてフィールドグループであるペプチドと繰り返し測定を展開します。
- 展開された[繰り返し測定]グループから、以下のフィールドを追加します。
  - ファイル名—データのインポート元であるファイルの名前
  - 試料名—試料が複数ある WIFF ファイルからデータがインポートされた場合の試料名、またはそうでない場合は再度ファイル名
  - 繰り返し測定名—インポート時にデータに割り当てられた繰り返し測定の名前
- 上位から[タンパク質名]を追加します。
- 展開された[ペプチド]グループから、全繰り返し測定における平均保持時間である[平均測定保持時間]フィールドを追加します。
- 展開された[ペプチド]グループの[ペプチド結果]グループを展開します。
- 展開された[ペプチド結果]グループから、以下のフィールドを追加します。
  - ペプチド保持時間—各繰り返し測定でのペプチドの保持時間
  - 標準に対する比率—Light の Heavy に対する面積比
- [プリカーサー]グループを展開します。
- 展開された[プリカーサー]グループから、以下のフィールドを追加します。
  - 電荷 (列リストにはプリカーサー電荷として表示)
  - Mz (列リストにはプリカーサーMz として表示)
- [トランジション]グループを展開します。
- 展開された[トランジション]グループから、以下のフィールドを追加します。
  - プロダクト電荷
  - プロダクト Mz
  - 断片イオン—断片イオン名 (y8、y10、b7 など)
- [プリカーサー]グループの[プリカーサー結果]グループを展開します。
- 展開された[プリカーサー結果]グループから、以下のフィールドを追加します。
  - 最大 Fhwm—特定のプリカーサーのトランジション半値全幅 (FWHM) の最大値
  - 最小開始時間—ピークのベースラインにおける溶出開始時間。同じプリカーサーからのすべてのトランジション (Q1/Q3) で同じになります。
  - 最大終了時間—ピークのベースラインにおける溶出開始時間。同じプリカーサーからのすべてのトランジション (Q1/Q3) で同じになります。
- [トランジション]グループの[トランジション結果]グループを展開します。
- 展開された[トランジション結果]グループから、以下のフィールドを追加します。
  - 保持時間—トランジションピークの最大強度での保持時間
  - Fwhm—トランジションピークの半値全幅
  - 開始時間—開始トランジションピークの積分境界における保持時間
  - 終了時間—終了トランジションピークの積分境界における保持時間



- **面積**—トランジションピークの曲線下の面積（AUC）からバックグラウンドを引いたもの
- **高さ**—トランジションピークの最大強度からバックグラウンドを引いたもの
- **ユーザーセットピーク**—Skyline が最初にクロマトグラムを抽出したときからピークが変化していない（FALSE）またはユーザーによって変更された（TRUE）かどうかを示します。ピーク境界ファイルのインポートやトレインモデルとの再積分によって変更された可能性のあるピークに対してはその他の値も考えられます（どちらも本チュートリアル<sup>1</sup>の適用範囲外）。
- また、フォームの下部にある [ 繰り返し測定名を軸にする ] チェックボックスをオフにします。

これでレポートテンプレートには、元の「Overview」レポートテンプレートよりも多くの詳細が含まれるようになり、[レポートを編集] フォームは以下のようになります。



この新規レポートテンプレートのフィールドを並べ替えるには、以下の操作を行います。

- 右側にある列リストで[タンパク質名]を選択します。
- 一番右にある上向き矢印を、[タンパク質名]フィールドがリストの一番上に来るまでクリックします。

このようにして、一番右にある上下の矢印ボタンを使用して自分に最適な順序に並べ替えることができます。また、矢印ボタンの上にある赤い「X」ボタンを使用するか、左側にあるリスト

でチェックマークをオフにすると、誤って追加してしまったフィールドを削除できます。本チュートリアルでは、列リストにこれ以上変更を加えずに続けます。

作成したレポートテンプレートの現在のドキュメントの値をプレビューするには、以下の操作を行います。

- [プレビュー] ボタンをクリックします。
- データを確認したら、[プレビュー] フォームを閉じます。

各ペプチドに Light アナライトと一致する Heavy 同位体標識内部標準の両方が存在するこのようなデータの場合は、こういったペアのプリカーサーがすべて一行になっているデータを使用して作業すると、一致するトランジション値をより容易に比較できて便利ことがあります。

「Study 7」レポートテンプレートにこの変更を加えるには、以下の操作を行います。

- [同位体標識を軸にする] チェックボックスをオンにします。
- もう一度 [プレビュー] ボタンをクリックして、レポートのプレビューがどのように変化したかを確認します。

一致する Light および Heavy トランジションの値すべてが同じ行に追加されています。これを達成するために新しい列が追加されており、同位体標識タイプに固有の列には「light」と「heavy」のプレフィックスが表示されています。

[プレビュー] フォームが下記に表示されています。ここでは、「light」列名と「heavy」列名を両方示すために下にスクロールされています。

	light 高さ	light ユーザー セットピーク	heavy 同位体 標識タイプ	heavy 最良保 持時間	heavy 総面積	heavy プリカー サー-Mz	heavy プロダク トMz	h F
▶	2317	FALSE	heavy	19.32	763783	747.34814	1092.515714	0.
	1838	FALSE	heavy	19.37	770970	747.34814	1092.515714	0.
	2347	FALSE	heavy	19.35	754471	747.34814	1092.515714	0.
	2000	FALSE	heavy	19.31	767662	747.34814	1092.515714	0.
	4720	FALSE	heavy	19.37	670318	747.34814	1092.515714	0.
	4220	FALSE	heavy	19.42	672388	747.34814	1092.515714	0.
	5231	FALSE	heavy	19.41	735818	747.34814	1092.515714	0.
	5034	FALSE	heavy	19.4	679216	747.34814	1092.515714	0.
	7584	FALSE	heavy	19.44	612645	747.34814	1092.515714	0.
	8172	FALSE	heavy	19.45	737687	747.34814	1092.515714	0.
	7422	FALSE	heavy	19.4	715710	747.34814	1092.515714	0.
	8068	FALSE	heavy	19.44	677488	747.34814	1092.515714	0.
	11888	FALSE	heavy	19.45	611335	747.34814	1092.515714	0.
	11290	FALSE	heavy	19.52	655921	747.34814	1092.515714	0.

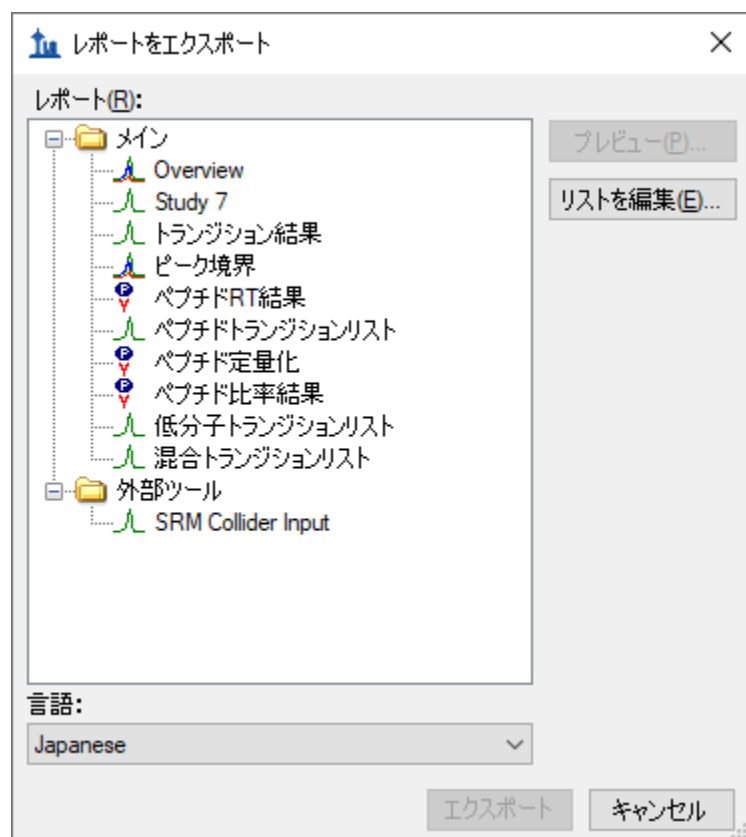
「heavy 同位体標識タイプ」列にはすべての行に「heavy」が表示されており、「light 同位体標識タイプ」列にはすべての行に「light」が表示されていることに気付かれるかもしれません。列を軸にすると、列リストに含むように追加するものはほとんどありません。[プレビュー] フォームを閉じ、以下の操作を行ってこのレポートから [同位体標識タイプ] フィールドを削除します。

- 右側にある列リストで「同位体標識タイプ」を選択します。
- 列リストの右端にある赤い「X」ボタンをクリックします。

もう一度 [プレビュー] ボタンをクリックすると、[light 同位体標識タイプ] と [heavy 同位体標識タイプ] の両列が削除されたことが確認できますが、本チュートリアル 次の手順は、以下の操作を行って作業を保存することです。

- [レポートを編集] フォームで [OK] ボタンをクリックします。
- [レポートを編集] フォームで [OK] ボタンをクリックします。

これで [レポートをエクスポート] フォームに戻ります。フォームは以下のようになります。



これで、ここから新しい「Study 7」レポートの CSV ファイルへのエクスポートを続けられます。レポートを選択し、[エクスポート] ボタンをクリックするか、[共有] ボタンをクリックして

この新しいレポートを共有するファイルを作成します。ただし、本チュートリアルでは以下の操作を行います。

- [キャンセル] ボタンをクリックして「Study7\_example」ドキュメントに戻ります。

## 品質管理要約レポート

ここまでは、ドキュメントで指定されたペプチドおよびトランジションのインポートされる繰り返し測定それぞれに対して Skyline が提供する値に基づいてレポートを作成してきました。Skyline はまた、インポートされるすべての繰り返し測定において、レポートフィールドに要約統計量を提供します。この要約フィールドは、繰り返し測定 QC 実行が優れた再現性と変動係数 (CV) を示すようにすることで品質管理に特に適しています。Skyline レポートテンプレートは、ピーク面積、FWHM、保持時間などの主要パラメーターの全繰り返し測定での平均値や CV を考慮して設計できます。

本チュートリアルは、Skyline にインポートする要約レポートテンプレートを提供しますが、そのような要約レポートテンプレートを [レポートを編集] フォームでどのように作成するかも説明します。

まずは以下の操作を行って新規ドキュメントを開きます。

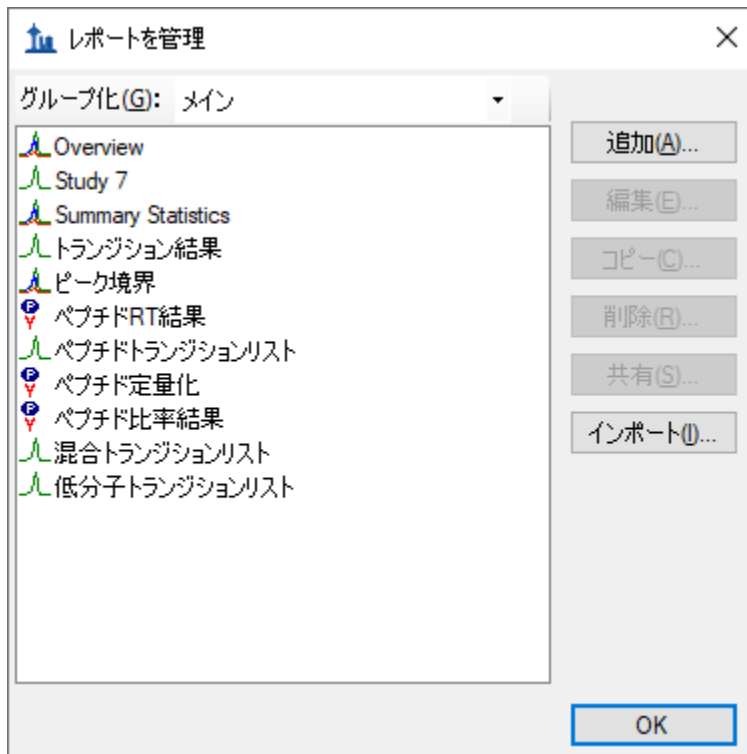
- [ファイル] メニューで [開く] をクリックします。
- 必要であれば、本チュートリアル用に作成した「CustomReports」フォルダに移動します。
- 「Study9S.sky」ファイルを選択します。
- [開く] ボタンをクリックします。

このファイルには 2 つの CPTAC 施設で 10 回の LC-MRM-MS 実行で取得されたデータが含まれており、22 個のアナライトペプチドを 5 回の実行すべてで 50 fmol の一定濃度で注入します。このようなデータセットは、繰り返し測定インジェクションの再現性を評価するために使用できます。チュートリアルのこの部分では、まずライブレポートを使って作業を開始し、そのレポートを使ってドキュメントを見ていきます。これには、レポートをエクスポートではなくドキュメントグリッド機能を使用します。

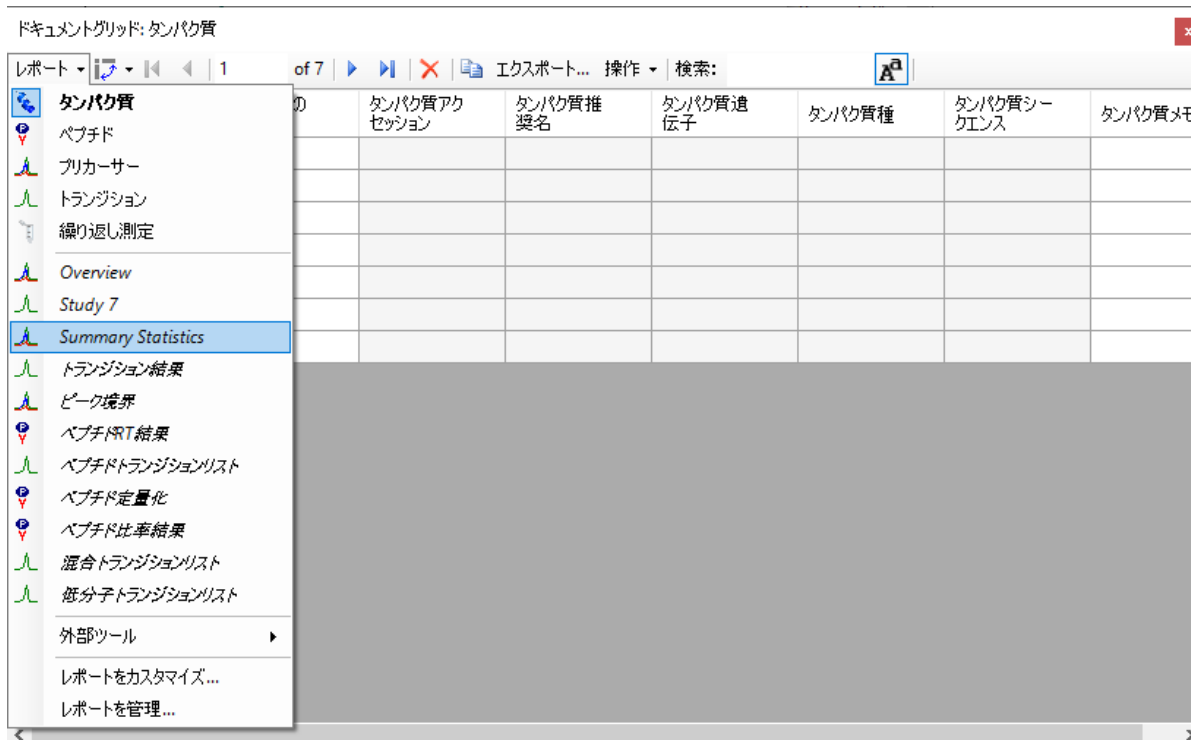
主要品質管理測定のデータを表示するには、以下の手順を実施します。

- [ビュー] メニューで [ドキュメントグリッド] を選択します。
- [ドキュメントグリッド] フォームの上部にある [レポート] ボタンをクリックします。ドロップダウンリストが表示されます。
- ドロップダウンリストから [レポートを管理] を選択します。
- [レポートを管理] フォームで [インポート] ボタンをクリックします。
- [開く] フォームで「CustomerReports」フォルダの Summary\_stats.skyr ファイルを選択します。
- [開く] ボタンをクリックします。

「Summary Statistics」という名前の新しいレポートがレポートのリストに追加されており、**[レポートを管理]** フォームは以下のようになります。



- [OK] ボタンをクリックして**[レポートを管理]** フォームを閉じます。
- [ドキュメントグリッド] フォームで**[レポート]** ボタンをクリックし、**[Summary Statistics]** を選択します。



[ Summary Statistics ] を選択すると、[ ドキュメントグリッド ] は以下ようになります。

	タンパク質名	ペプチドシーケンス	平均総面積	Cv総面積	平均最大 Fwhm	Cv最大 Fwhm	範囲最良保持時間	平均最良保持時間
▶	APR	AGLCQTFVYGGR	41711497	3.9%	0.26	1.1%	0.1	18.25
	LEP	INDISHTQSVSAK	5891301	59.3%	0.15	23.5%	0.03	13.69
	MYO	LFTGHPETLEK	71014711	4.6%	0.2	1.3%	0.03	14.94
	MBP	HGFLPR	15131783	22.4%	0.25	11.1%	0.13	14.49
	MBP	YLASASTMDHAR	59848554	11.4%	0.18	5.1%	0.07	14.28
	PSA	IVGGWECEK	49199171	2%	0.24	1.3%	0.07	15.57
	PSA	LSEPAELTDAVK	64877269	1.3%	0.25	1.5%	0.09	17.34
	HRP	SSDLVALSGGHTFGK	16337914	2.7%	0.19	1.6%	0.1	17.14
	CRP	ESDTSYVSLK	19049916	2%	0.21	1.7%	0.09	15.52
	CRP	GYSIFSATK	68231290	1.4%	0.29	2.7%	0.06	20.68

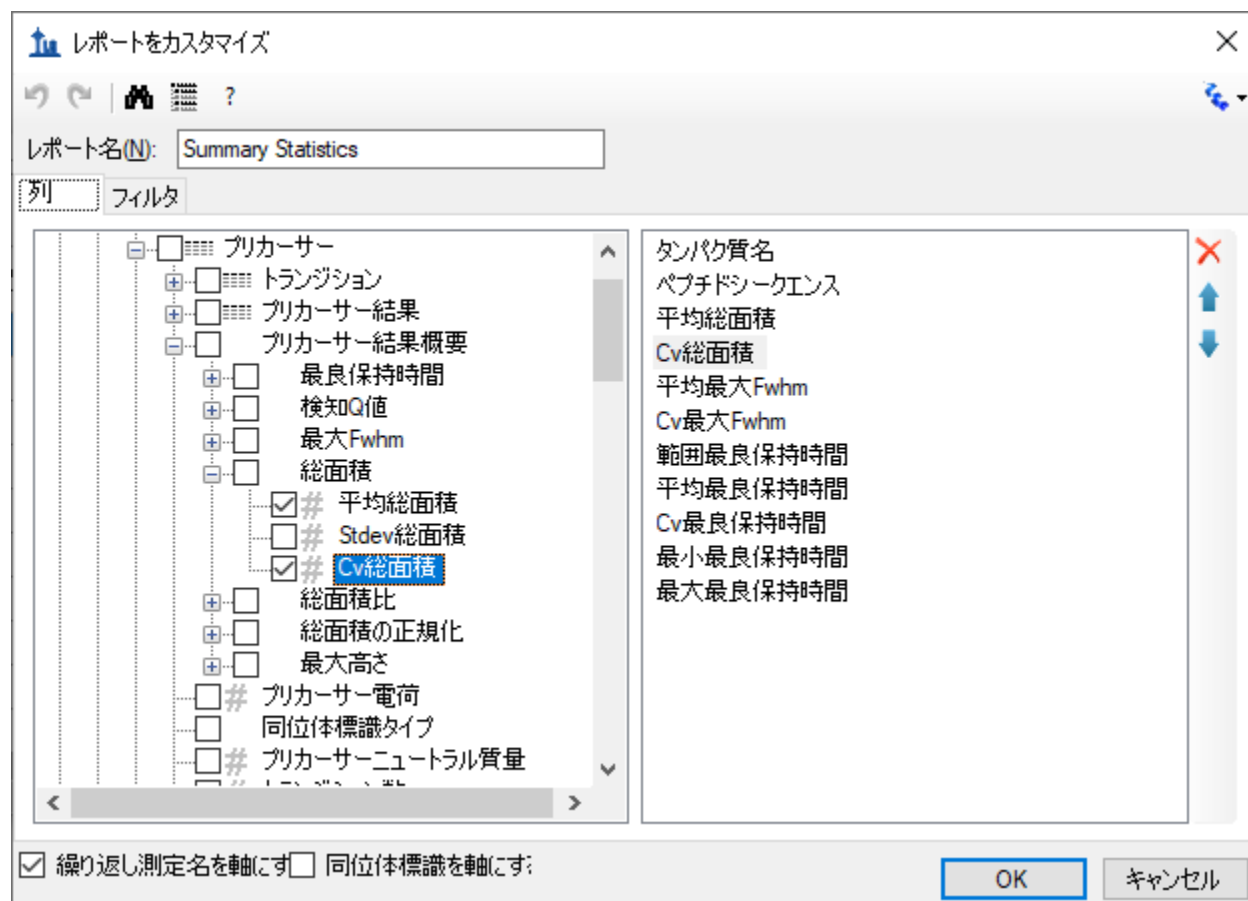
このレポートは、赤いボックスの各列が示すように、同じ試料の5回の繰り返し測定インジェクションから取得された Study9pilot.sky 内のデータがほぼ5%未満のFWHM、また大半は10%未満の総面積のペプチドCV値を生み出すことを示しています。さらに、[ 範囲最良保持時間 ] と呼ばれる列（赤いボックス）は、5回の繰り返し測定インジェクションにおけるあらゆる特定のペプチドに対する保持時間のドリフトを分単位でリストしています。この場合は、保持時間ドリフトは最低限（0.15分未満、10秒未満）しかありません。

この要約レポートを使用すると、品質管理問題が重要な試料で取得したデータに影響を与える前に早期に警告を与えることができます。この特定のデータセットでは、HPLC および MS は許容できる振る舞いをしているように見えます。ただしある場合で、ペプチド INDISHTQSVSAK（タンパク質 LEP からのもの）の総面積の CV 値が 59.2%、FWHM の CV 値が 23.5%（赤丸で囲われている）となっており、その他すべてのペプチドとは大きく異なります。

以下の操作を行うと、特定の基準に一致する行のみを表示するようにこのレポートにフィルタを追加できます。

- [ドキュメントグリッド] フォームで [レポート] ボタンをクリックし、[レポートを編集] を選択します。
- 左側のツリー表示で [Cv 総面積] 列を見つけるには、右側のリストでその列名をダブルクリックします。

[レポートをカスタマイズ] フォームは以下のようになります。



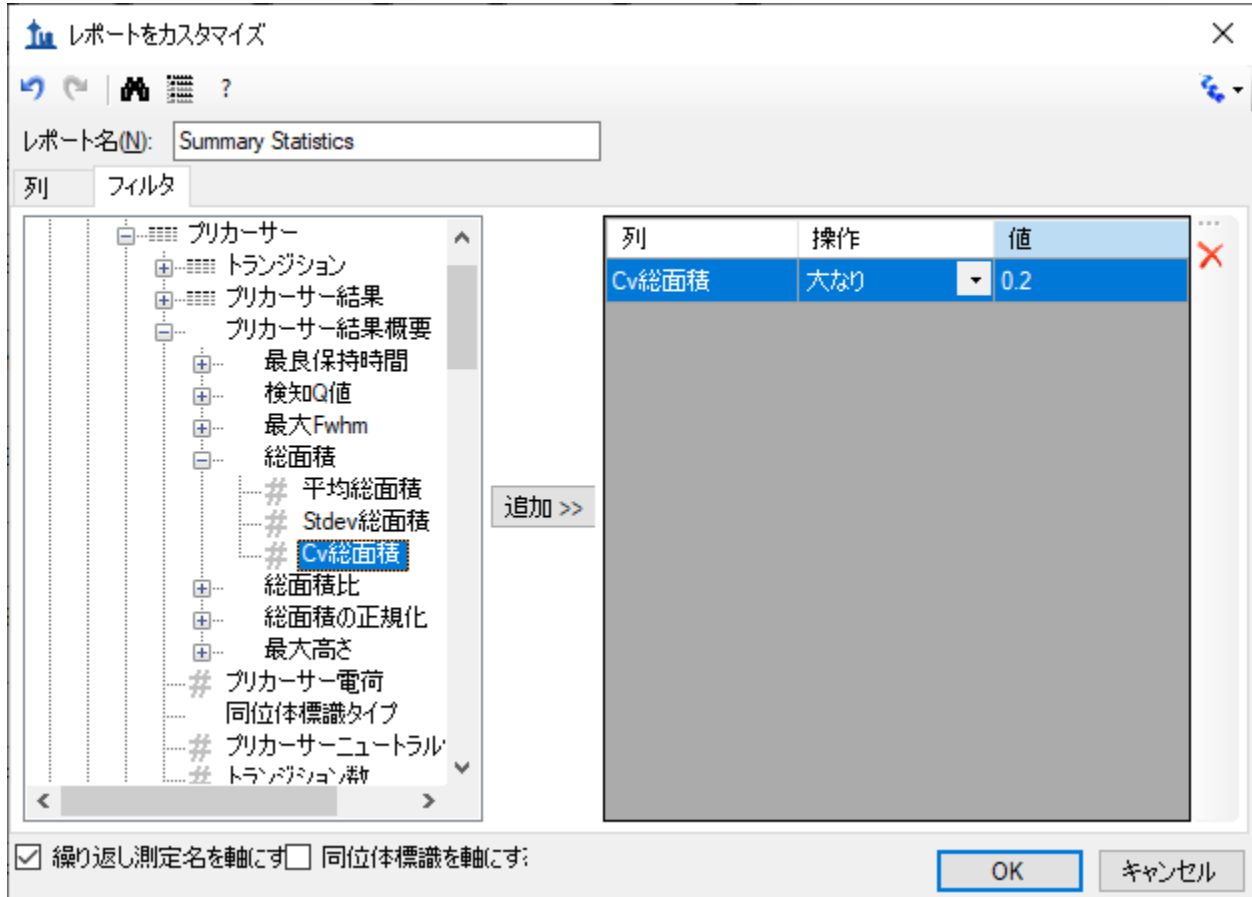
このレポートに新しいフィルタを定義するには、以下の操作を行います。

- [フィルタ] タブをクリックします。左側のツリー表示では、[Cv 総面積] 列がまだ選択されています。



- [追加>>] ボタンをクリックしてその列をフィルタのリストに追加します。
- [操作] を [大なり] に設定します。
- [値] 列に「0.2」を入力します。

[レポートをカスタマイズ] フォームは以下ようになります。



[Cv 総面積] 列が [ドキュメントグリッド] でパーセンテージとして表示されても、[フィルタ] タブでは、数字「20%」は「0.2」と表示されます。

- [レポートをカスタマイズ] フォームで [OK] ボタンをクリックし、このフィルタに一致する行を確認します。

ドキュメントグリッド: Summary Statistics

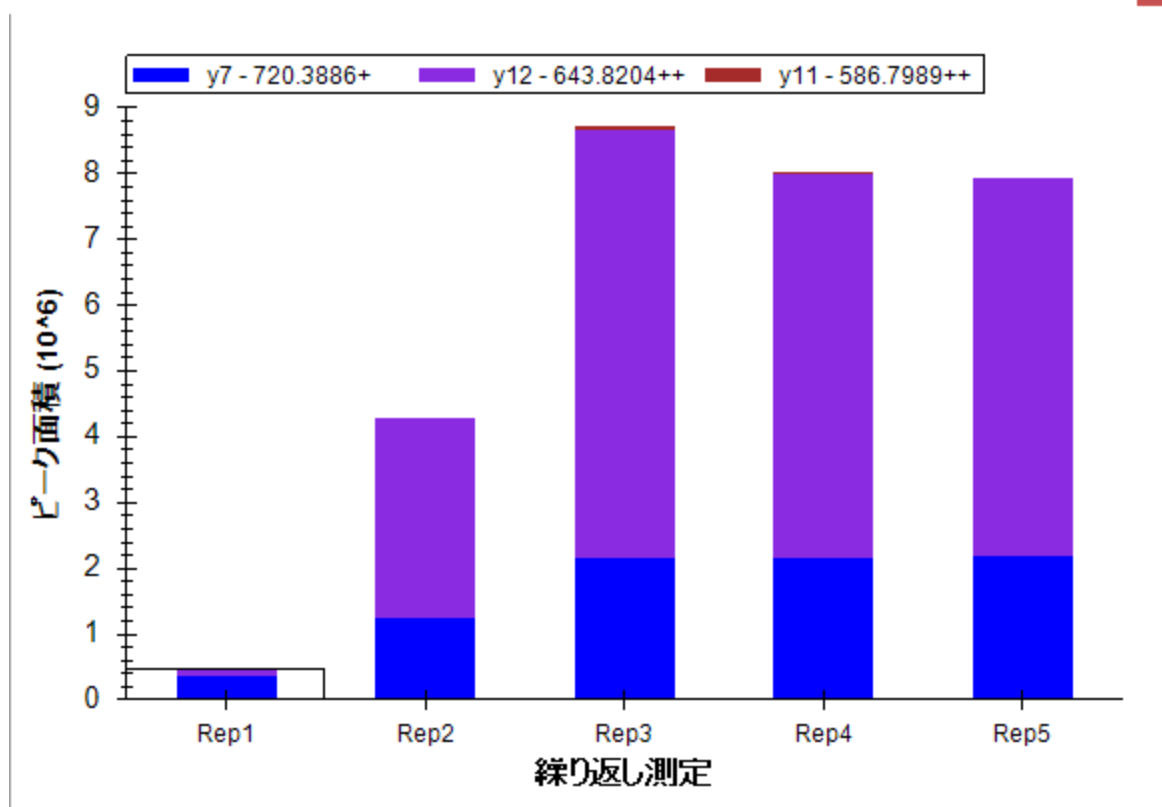
レポート ▾ | 1 of 2 | エクスポート... 操作 ▾ | 検索:

	タンパク質名	ペプチドシーケンス	平均総面積	Cv総面積	平均最大 Fwhm	Cv最大 Fwhm	範囲最良保持時間	平均最良保持時間
▶	LEP	INDISHTQSVSAK	5891301	59.3%	0.15	23.5%	0.03	13.69
	MBP	HGFLPR	15131783	22.4%	0.25	11.1%	0.13	14.49

INDISHTQSVSAK ペプチドをもう少し詳しく調べるには、以下の操作を行います。

- 右上隅にある赤い X をクリックして [ドキュメントグリッド] を閉じます。
- ペプチドツリー表示内のペプチド「INDISHTQSVSAK」を選択します。
- [ビュー]メニューで [ピーク面積] を選択し、[繰り返し測定の比較] (F7) をクリックします。

全 5 回の繰り返し測定の各トランジションの総ピーク面積と割合を表示する [ピーク面積] 表示により、要約レポートプレビューの CV 値で示された問題を明確にすることができます。比較するには、その他のペプチドを複数選択します。要約レポートプレビューで [Cv 総面積] 値がかなり低かったことからわかるように、[ピーク面積] 表示はより優れたピーク面積再現性を示します。ここでは、ペプチドの大半の CV 値が 10% 未満となっています。



問題の原因を迅速に探れるよう、Skyline 自体も強力な視覚的表示を提供しますが、Skyline 要約レポートを品質管理データと共に使用すると、問題を早期に警告できます。

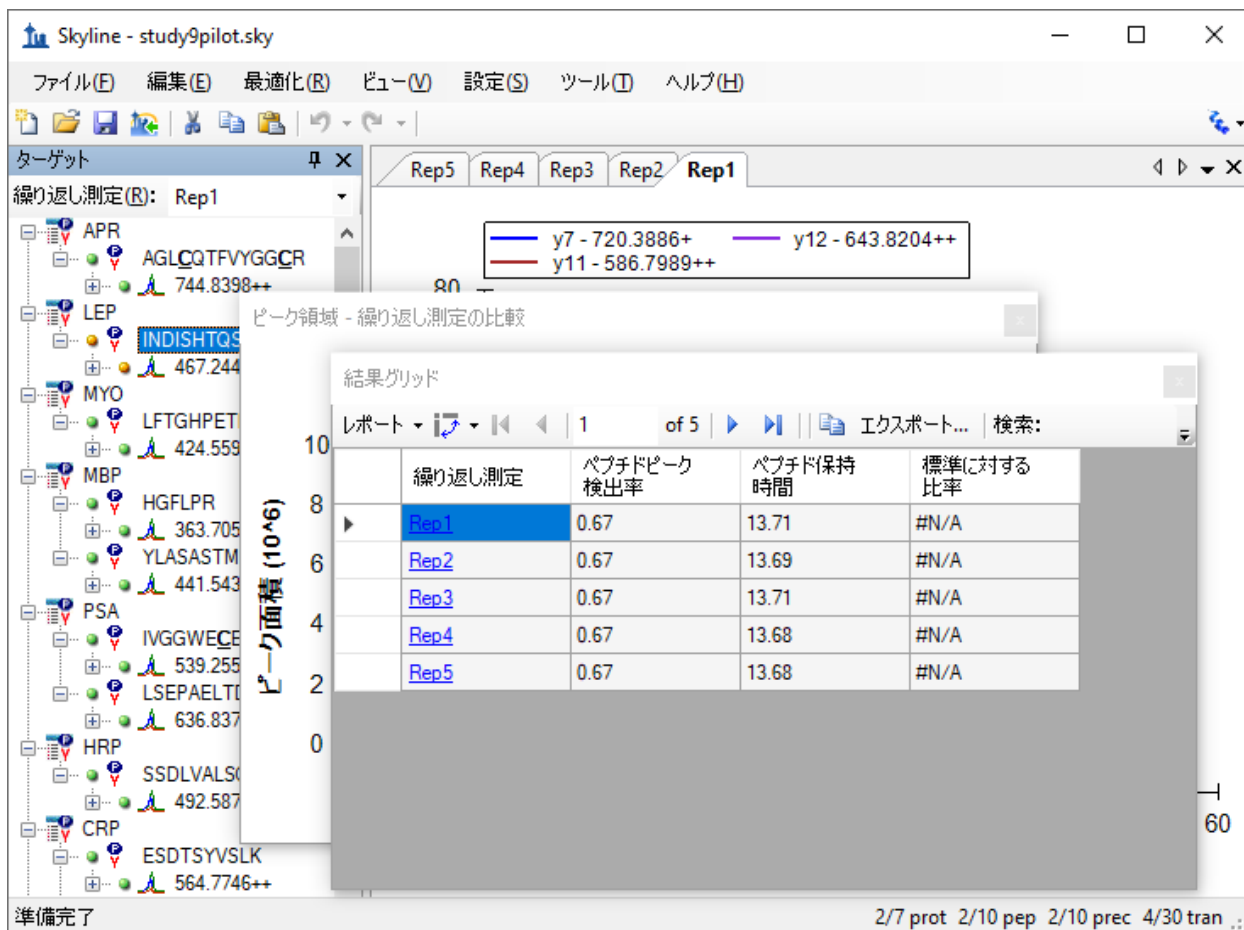
## [結果グリッド] 表示

場合によっては、Skyline チャートで表示される生データにすぐアクセスできるように、データを編集している間にレポートで表示される一部の値を確認したいこともあるでしょう。Skyline の [結果グリッド] 表示は、カスタムレポートで利用可能な多数のデータフィールドへのリアルタイムアクセスを提供します。本チュートリアルはこのセクションでは、Skyline で質量分析計出力を検査し、最適化しながら、[結果グリッド] を使用して重要な値にすぐにアクセスし、データに注釈を付けて重要な人間による洞察を捉える方法を学びます。

[結果グリッド] 表示を使い始めるには、以下の操作を行います。

- [ビュー] メニューで [その他のグリッド] を選択し、[結果グリッド] (Alt+2) をクリックします。

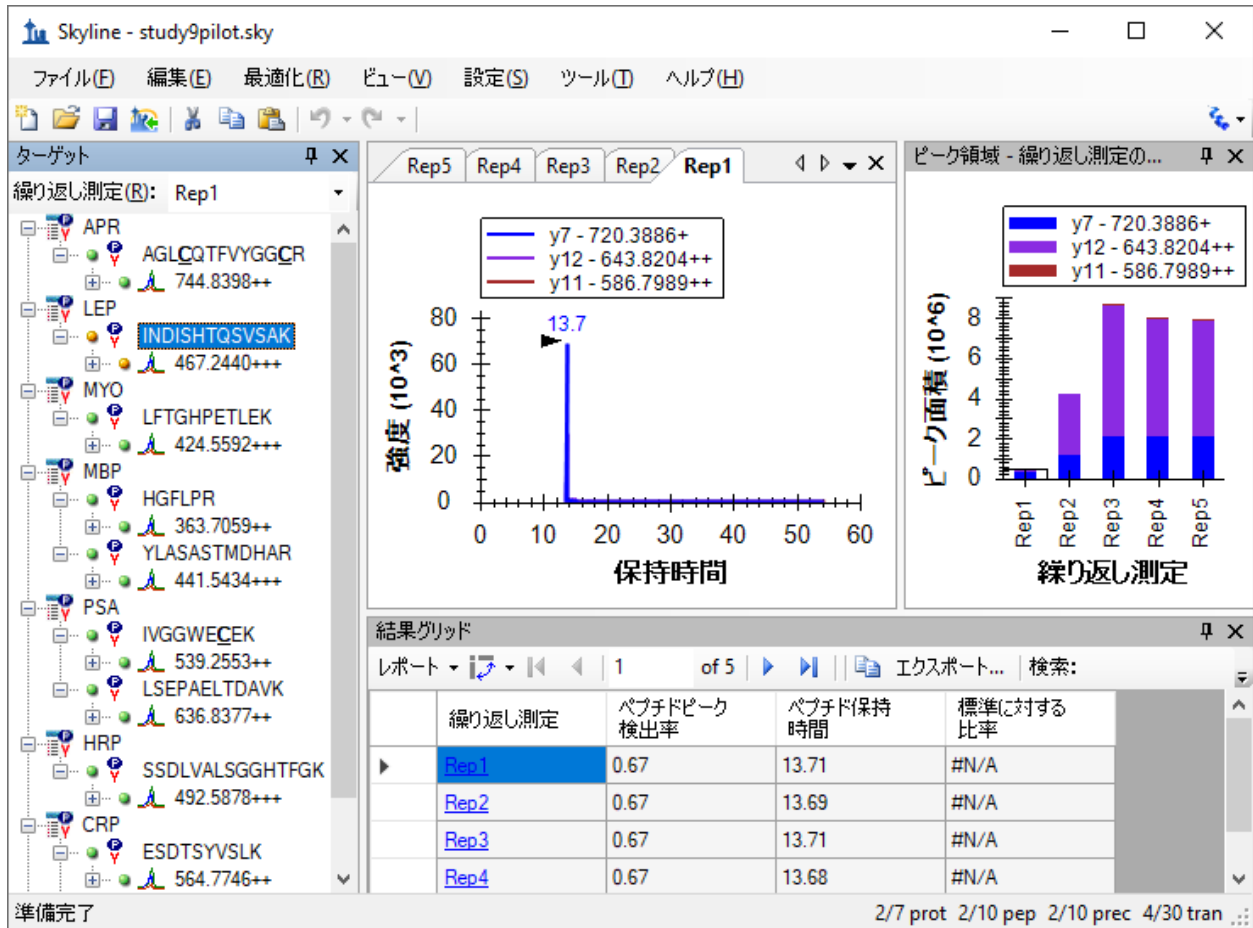
Skyline は、以下のようになります。



今度は以下の操作を行ってウィンドウを見やすく並べ替えます。

- [ 結果グリッド ] のキャプションをクリックしてメインウィンドウの下端にドラッグし、ドッキングさせます。
- [ ピーク面積 ] のキャプションをクリックしてメインウィンドウの右端にドラッグし、ドッキングさせます。
- さまざまなウィンドウ枠の間にあるスプリッターをクリックしてドラッグし、スペースの割り当てを調整します。
- [ ビュー ] メニューで [ 自動ズーム ] を選択し、[ 最適ピーク ] ( F11 ) がまだ選択されていない場合はクリックして選択します。
- [ ターゲット ] 表示で、現在選択されているペプチドの下にあるプリカーサー「467.2440+++」を選択します。

これにより以下のような Skyline の画面が表示されます。



Skyline は、データのナビゲーション時にチャートと [結果グリッド] の同期を維持します。[結果グリッド] のその他の行いずれかをクリックすると、Skyline はアクティブなクロマトグラムの繰り返し測定タブを変更します。また、[ピーク面積] グラフで選択長方形が表示されている棒が変更され、[ターゲット] 表示の上部にある [繰り返し測定] リストの選択も変更されます。

- 今度は [ピーク面積] プロットの別の棒をクリックするか、[繰り返し測定] リストの選択を変更します。

[結果グリッド] の選択行など、その他の表示が更新されます。

[結果グリッド] の [繰り返し測定] 列の右側にある最初の列は、[プリカーサー繰り返し測定メモ] です。この列では、選択されたプリカーサーおよび繰り返し測定の [プリカーサー結果] フィールドグループに自由なテキストメモを関連付けることができます。

- 現在選択されているプリカーサーの繰り返し測定名「Rep1」の最初の行に「Low signal」と入力します。

[結果グリッド]は以下のようになります。

	繰り返し測定	プリカーサー繰り返し測定メモ	プリカーサーピーク検出率	最良保持時間	最大Fwhm
	Rep1	Low signal	0.67	13.71	0.09
▶	Rep2		0.67	13.69	0.15
	Rep3		0.67	13.71	0.18

現在の [結果グリッド] 表示のその他すべての列は Skyline によって計算され、編集はできませんが、どの列をどの順で表示するかは変更できます。列の中には、上記画像ではスクロールしないと表示されないものもあります。表示されるプリカーサー結果列の数を少なくするには、以下の操作を行います。

- [結果グリッド]の上部にある [レポート] ボタンをクリックし、[レポートを編集] を選択します。
- [レポートをカスタマイズ] フォームで、[最小開始時間]、[最大終了時間]、[ライブラリ内積]の各列に対し、リストボックス内の列名をクリックしてからリストボックスの右側にある X ボタンをクリックします。
- [OK] ボタンをクリックします。

以下の操作を行うと、その他のプリカーサーの結果を確認できるようになります。

- [ターゲット] 表示で、プリカーサー要素をクリックします。
- 矢印キーを使用して、[ターゲット] 表示の選択を他のプリカーサー要素に変更します。

最後に、プリカーサーを展開してトランジションを確認します。同じ方法を適用すると、トランジション用に表示される列をカスタマイズできます。その代わりに、現在のところは本チュートリアル最後のセクションまで継続し、[結果グリッド]で管理可能なカスタム注釈を追加し、後で Skyline レポートでエクスポートする方法を学びます。

## カスタム注釈

Skyline は、3 種類のカスタム注釈をサポートしています。

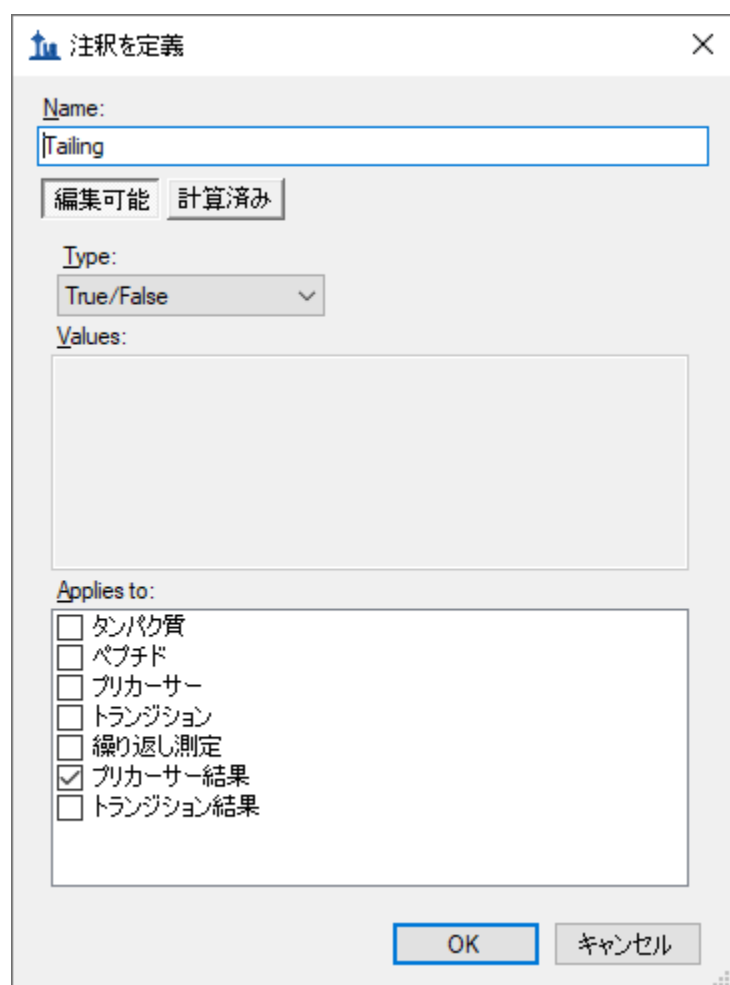
1. フリーテキスト (すべてのタイプでデフォルトで利用可能な [メモ] に類似)
2. 数字
3. True/False
4. 値のリスト

最後の2種類を使用すると、データを処理している間に管理用語で情報が収集できます。これは後ほど Skyline レポートでエクスポートし、プログラム統計分析の入力として使用できます。

簡単に新しい True/False 注釈を定義するには、以下の手順を実施します。

- [設定]メニューで[ドキュメント設定]をクリックします。
- [ドキュメント設定]フォームの[注釈]タブで[リストを編集]ボタンをクリックします。
- [注釈を定義]フォームで[追加]ボタンをクリックします。
- [注釈を定義]フォームの[名前]フィールドに、「Tailing」と入力します。
- [タイプ]フィールドで「True/False」を選択します。
- [適用先]リストで[プリカーサー結果]チェックボックスをオンにします。

[注釈を定義]フォームは以下のようになります。

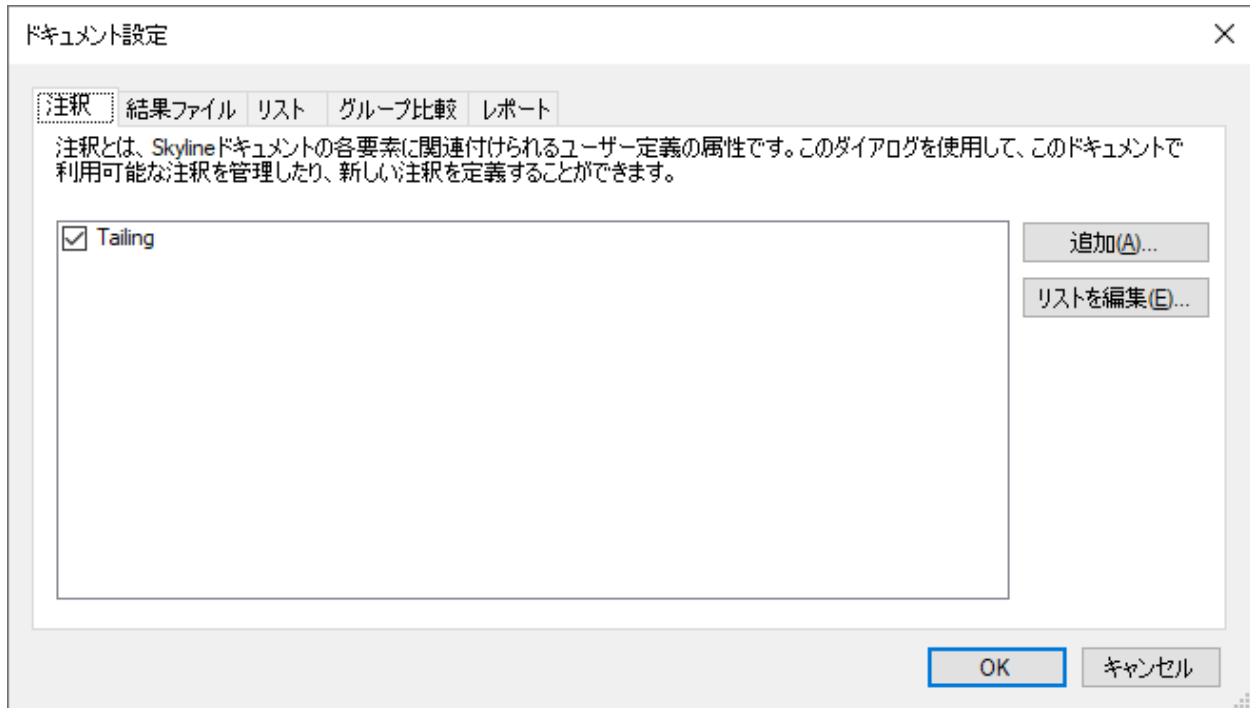


The screenshot shows a dialog box titled "注釈を定義" (Define Annotation). It has a close button (X) in the top right corner. The "Name:" field contains the text "Tailing". Below the name field are two buttons: "編集可能" (Editable) and "計算済み" (Calculated). The "Type:" dropdown menu is set to "True/False". The "Values:" field is an empty text area. The "Applies to:" section contains a list of checkboxes: "タンパク質" (Protein), "ペプチド" (Peptide), "プリカーサー" (Precursor), "トランジション" (Transition), "繰り返し測定" (Repeat measurement), "プリカーサー結果" (Precursor results) which is checked, and "トランジション結果" (Transition results). At the bottom of the dialog are "OK" and "キャンセル" (Cancel) buttons.

ここで注釈を保存し、以下の操作を行ってドキュメントに注釈を追加します。

- [注釈を定義]フォームで[OK]ボタンをクリックします。
- [注釈を定義]フォームで[OK]ボタンをクリックします。
- 新しい「Tailing」注釈のチェックボックスをオンにします。

[ドキュメント設定] フォームは以下ようになります。



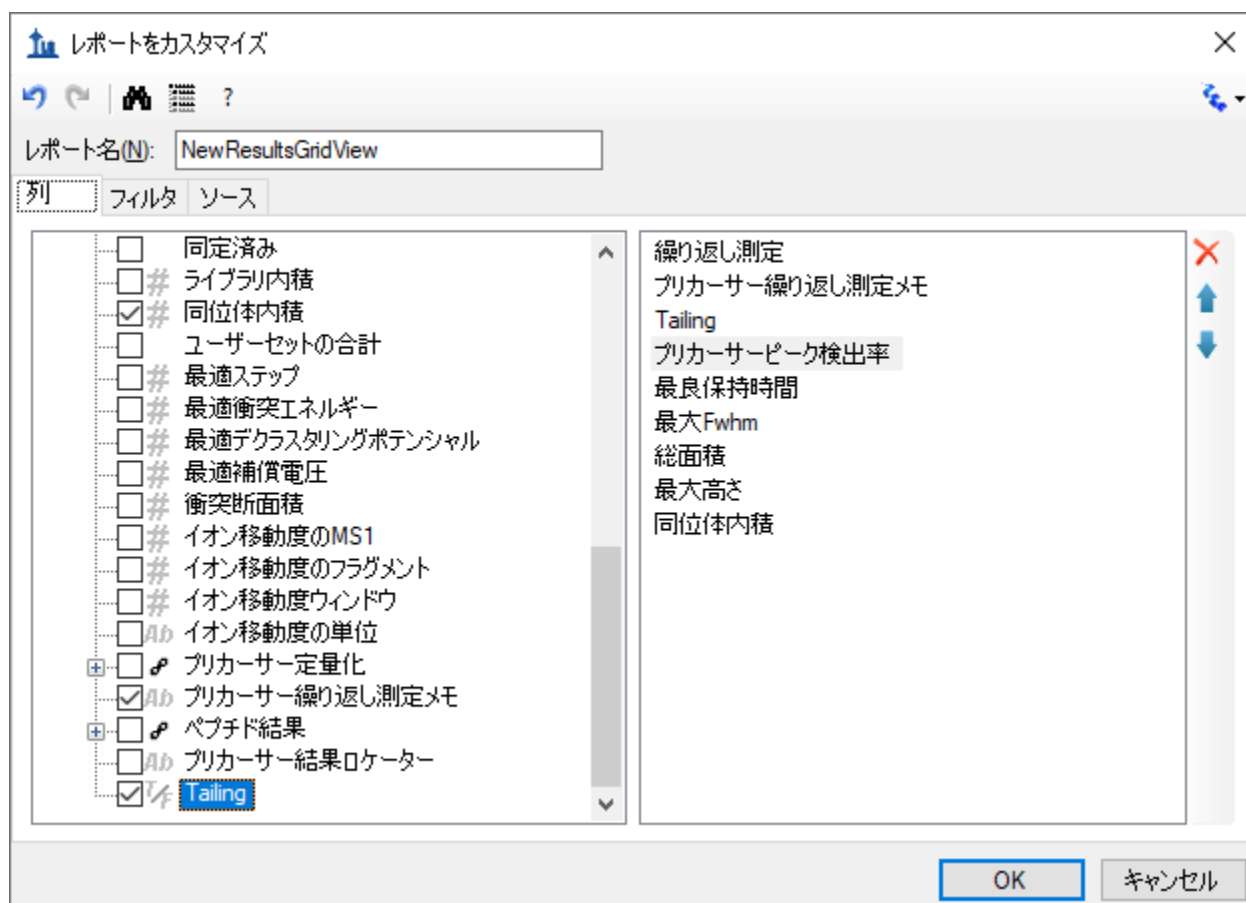
- [OK] ボタンをクリックします。
- [ターゲット] 表示でペプチド「ESDTSYVSLK」のプリカーサー要素「564.7746++」を選択します。

[結果グリッド] のカスタム表示には新しい [Tailing] 列が表示されませんが、これは追加できます。

- [結果グリッド] の上部にある [レポート] ドロップダウンをクリックし、[レポートを編集] を選択します。
- 右側のリスト表示で、3 列目の（「プリカーサーピーク検出率」）をクリックします。この要素の上に新しい列が追加されます。
- 左側のツリー表示の下部にある [Tailing] の横にあるチェックボックスをオンにします。



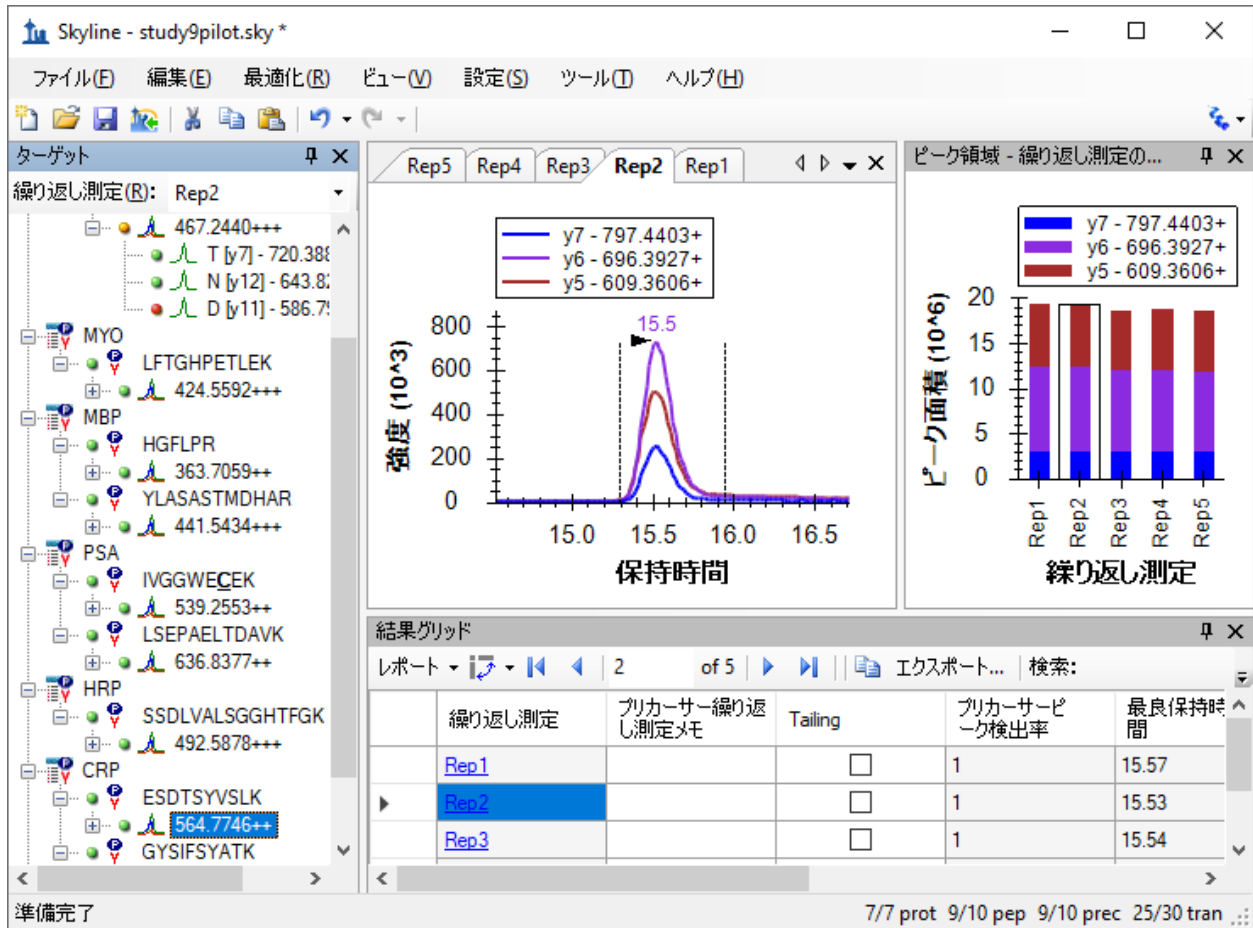
[レポートをカスタマイズ] フォームは以下ようになります。



- [OK] ボタンをクリックします。

新しい [Tailing] 列が、[結果グリッド] の [プリカーサー繰り返し測定メモ] と [プリカーサーピーク検出率] との間に追加されます。

これで Skyline ウィンドウは以下ようになります。



このドキュメントのピークには問題はありませんが、このピークは少し尾を引いています。「Rep1」行の新しい [Tailing] 列のチェックボックスをオンにします。他の 5 行それぞれに対する選択を変更します。尾を引いているのは考慮すべきかどうかを判断し、考慮すべきであると判断すればチェックボックスをオンにします。プリカーサーツリーで選択されている項目を変更し、「564.7746++」プリカーサーに戻って変更が記録されているかどうかを確認します。

これで Skyline カスタムレポートで新しい [Tailing] 注釈をエクスポートできます。これは [プリカーサー結果] フィールドグループに表示されます。

## 結論

本チュートリアルでは、Skyline ターゲット質量分析法ドキュメントに関連した豊富な値セットにアクセスするために Skyline が提供する柔軟なカスタムレポートを紹介しました。これらのレポートは、Skyline 内のデータ分析から R、Matlab、Java、C++ でコード化されたカスタムプログラムや、Excel を使用したより複雑な統計分析への移行を円滑にします。ここでは、これらのレポートテンプレートを通して利用可能であり、データ品質に関する迅速な指標を提供可能な要約統計量を学びました。カスタムレポートテンプレートは共同研究者と共有したり、公表文献で補足資料として共有でき、他の人が異なる装置でも新しいデータセットで同じ分析を繰り返せるようにしており、Skyline の複数ベンダーサポートをフル活用しています。最後に、Skyline レポートで利用可能な多数の値にすぐにアクセスし、カスタム注釈を使用して作業し、豊富な新しい情報をドキュメントに追加できるように Skyline の**結果グリッド**を使用する方法を学びました。今までこれらの機能を認識していなかったのであれば、Skyline で実現可能な実験範囲を確実に広げることができるでしょう。

## 今後の研究

利用可能な列は、Skyline 自体で説明されています。マウスを [ドキュメントグリッド] または [結果グリッド] 上に合わせると、列を説明するツールヒントが表示されます。また、[レポートをカスタマイズ] フォームのツールバーには「?」ボタンがあり、利用可能なすべての列を説明するページが表示されます。このページは、[ヘルプ]>[ドキュメンテーション]>[レポート]でも表示できます。

また、行をグループ化してまとめて統計を実施することもできます。この機能の使用例については、以下のページを参照してください。

<https://skyline.ms/pivotedit.url>