

Modification 設定手順

はじめに

Mascot Server version 2.2 より modification 設定 の仕組みが以下のように一新されました。

設定ファイルが mod_file から「unimod.xml」となり、修飾に関する設定変更は Web 上の Configuration Editor ツールから行います。

これまでの設定ファイルである mod_file は引き続き利用していますが、unimod.xml が更新された際に変更内容に合わせて自動的に更新されます。

修飾設定の名前が、Proteomics Standards Initiative の Protein modification workgroup によって定められた「PSI-MS Name」に統一化されたため、旧バージョンで使われていた名称と変わっている場合があります。

http://www.unimod.org/unimod_help.html

<http://psidev.sourceforge.net/mod/>

なども合わせてご参照ください。

これに伴い version 2.1 以前の MASCOT から version 2.2 へアップグレードをした際、**ユーザーが追加した修飾設定を Configuration Editor ツールから再度登録しなおす必要があります**。また、旧バージョンで使用していた修飾が新バージョンで見つからない場合、名称が変わっている可能性があるため、**目的の修飾が新バージョンでどのような名称となっているか確認する必要があります**。

本資料では、修飾の新しい名称の確認方法と、Configuration Editor ツールを使った修飾設定の追加方法についてご説明いたします。以下のような内容で構成されています。

1. unimod.xml に含まれる項目について
2. Configuration Editor 画面の表示
3. 目的の項目が unimod.xml に登録されているか確認する方法
4. 新規項目の追加

1 . unimod.xml に含まれる項目について

MASCOT Server の修飾に関する設定ファイル「unimod.xml」は、公開サイト unimod

<http://www.unimod.org>

において登録された、600 以上の修飾情報が保存されています。

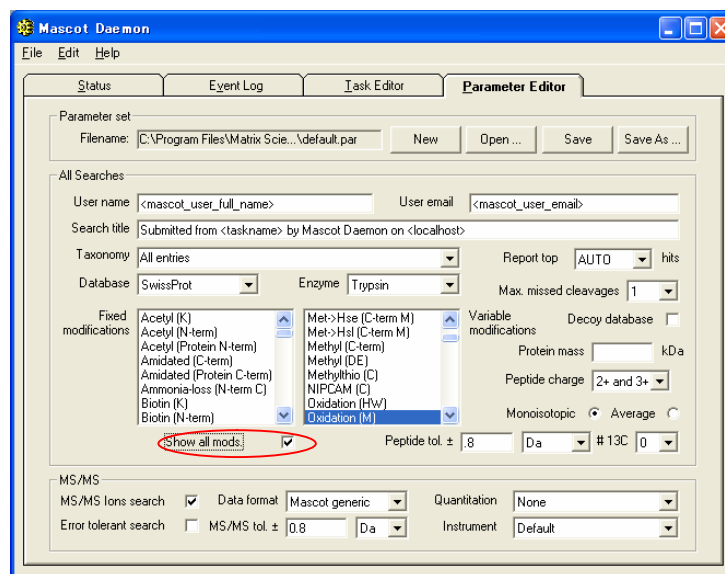
最新の unimod.xml は以下の場所から取得することができ、既存の unimod.xml と入れ替えることで、新しい修飾設定を利用することができます。

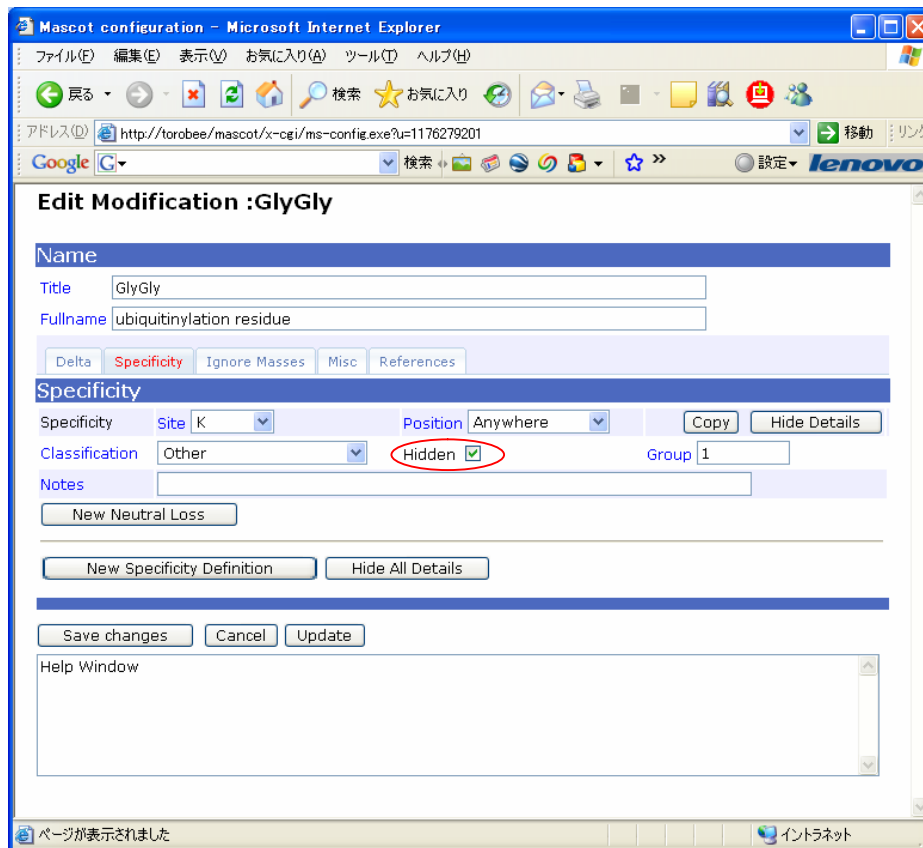
<http://www.unimod.org/xml/unimod.xml>

MASCOT 検索画面の修飾項目に、unimod.xml に登録されたすべての修飾情報を表示すると数が多すぎて不便なため、使用頻度の低い修飾については "Hidden" パラメータを使って検索条件指定画面に現れないように設定されています。

Hidden とされた修飾情報を検索時に利用するためには、

- ・ Mascot Daemon で、parameter ファイル作成時に Parameter Editor 画面にて [Show all mods.] チェックボックスにチェックを入れる
- ・ Mascot Configuration Modifications にて [Hidden] チェックをはずすのいずれかを行う必要があります。

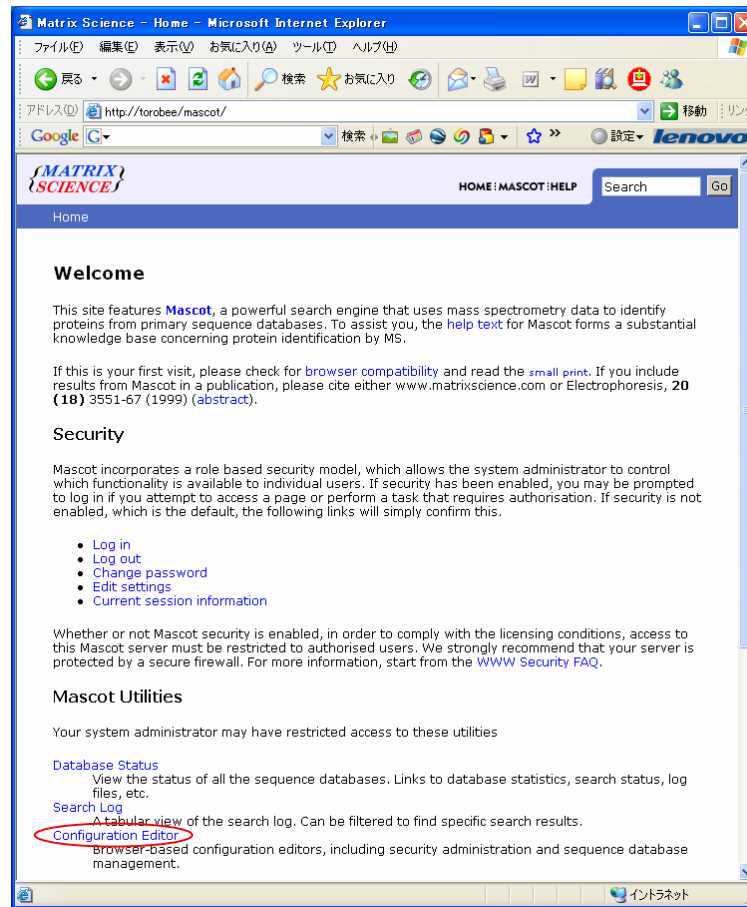




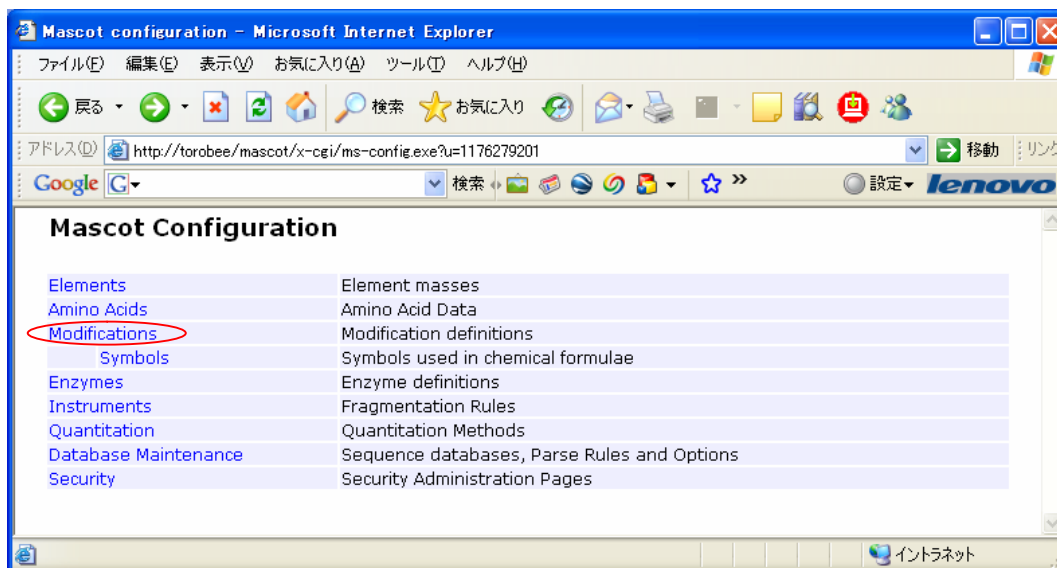
2 . Configuration Editor 画面の表示

Modification の設定画面を開くための操作は以下の通りです。

Web ブラウザにて Mascot の Home 画面を開きます。画面内の、[Configuration Editor] のハイパーリンクをクリックします。



[Modification] のハイパーリンクをクリックします。



[Mascot Configuration : Modifications] 設定画面が表示されます。

Title:
修飾名。クリックすることで昇順 / 降順に並び替えることができます。

Monoisotopic:
monoisotopic での理論質量値。クリックすることで昇順 / 降順に並び替えることができます。

ページの移動。ソートしている内容別に表示されません。

1 ページに表示する項目数を変更します。

Help Window:
画面内の青い文字の項目にカーソルを合わせると、その項目に関する説明文が表示されます。

| Title | Monoisotopic | Average | Composition | | | |
|--------------|--------------|----------|-----------------------------|------|--------|-------|
| 15dB-biotin | 626.386577 | 626.8927 | H(54) C(35) N(4) O(4) S | Copy | Delete | Print |
| 2HPG | 282.052824 | 282.2476 | H(10) C(16) O(5) | Copy | Delete | Print |
| 4-ONE | 154.099380 | 154.2063 | H(14) C(9) O(2) | Copy | Delete | Print |
| a-type-ion | -29.002740 | -29.0180 | H(-1) C(-1) O(-1) | Copy | Delete | Print |
| AccQTag | 170.048013 | 170.1674 | H(6) C(10) N(2) O | Copy | Delete | Print |
| Acetyl | 42.010565 | 42.0367 | H(2) C(2) O | Copy | Delete | Print |
| Acetyl:2H(3) | 45.029395 | 45.0552 | H(-1) 2H(3) C(2) O | Copy | Delete | Print |
| ADP-Ribosyl | 541.061110 | 541.3005 | H(21) C(15) N(5) O(13) P(2) | Copy | Delete | Print |
| AEBS | 183.035399 | 183.2276 | H(9) C(8) N O(2) S | Copy | Delete | Print |
| AEC-MAEC | 59.019355 | 59.1334 | H(5) C(2) N O(-1) S | Copy | Delete | Print |
| Ala->Asp | 43.989829 | 44.0095 | C O(2) | Copy | Delete | Print |
| Ala->Glu | 58.005479 | 58.0361 | H(2) C(2) O(2) | Copy | Delete | Print |
| Ala->Gly | -14.015650 | -14.0266 | H(-2) C(-1) | Copy | Delete | Print |
| Ala->Pro | 26.015650 | 26.0373 | H(2) C(2) | Copy | Delete | Print |
| Ala->Ser | 15.994915 | 15.9994 | O | Copy | Delete | Print |
| Ala->Thr | 30.010565 | 30.0260 | H(2) C O | Copy | Delete | Print |
| Ala->Val | 28.031300 | 28.0532 | H(4) C(2) | Copy | Delete | Print |
| Amidated | -0.984016 | -0.9848 | H N O(-1) | Copy | Delete | Print |
| Amidine | 41.026549 | 41.0819 | H(3) C(2) N | Copy | Delete | Print |
| Amidino | 42.021798 | 42.0400 | H(2) C N(2) | Copy | Delete | Print |

Page 1 of 26 Go to page: 15 to Am Page size: 20

Add new modification Main menu

Help Window

3 . 目的の項目が unimod.xml に登録されているか確認する方法

追加したい項目が既に unimod.xml に登録されているかを確認するためには、項目を Monoisotopic の降順/昇順 に並べ、目的の修飾を、Monoisotopic 値を元に見つけます(次ページ図)。

Mascot Configuration: Modifications

| Title | Average | Composition |
|--------------|-------------|--|
| Trp->Gly | -129.057849 | H(-7) C(-9) N(-1) Copy Delete Print |
| Lys-loss | -128.094963 | H(-12) C(-6) N(-2) O(-1) Copy Delete Print |
| Arg->Gly | -99.079647 | H(-9) C(-4) N(-3) Copy Delete Print |
| Trp->Ser | -99.047285 | H(-5) C(-8) N(-1) O Copy Delete Print |
| Tyr->Dha | -94.041865 | H(-6) C(-6) O(-1) Copy Delete Print |
| Trp->Cys | -83.070128 | H(-5) C(-8) N(-1) S Copy Delete Print |
| Tyr->Ser | -76.031300 | H(-4) C(-6) Copy Delete Print |
| Trp->Leu | -72.995249 | H C(-5) N(-1) Copy Delete Print |
| Glu->Gly | -72.021129 | H(-4) C(-3) O(-2) Copy Delete Print |
| Arg->Ser | -69.069083 | H(-7) C(-3) N(-3) O Copy Delete Print |
| Tyr->Cys | -60.054144 | H(-4) C(-6) O(-1) S Copy Delete Print |
| Phe->Ser | -60.036386 | H(-4) C(-6) O Copy Delete Print |
| Arg->Pro | -59.048347 | H(-5) C(-1) N(-3) Copy Delete Print |
| Glu->Ala | -58.005479 | H(-2) C(-2) O(-2) Copy Delete Print |
| Asp->Gly | -58.005479 | H(-2) C(-2) O(-2) Copy Delete Print |
| Arg->Thr | -55.053433 | H(-5) C(-2) N(-3) O Copy Delete Print |
| Arg->Cys | -53.091927 | H(-7) C(-3) N(-3) S Copy Delete Print |
| Tyr->Asn | -49.020401 | H(-3) C(-5) N Copy Delete Print |
| Tyr->Asp | -48.036386 | H(-4) C(-5) O Copy Delete Print |
| Dethiomethyl | -48.003371 | H(-4) C(-1) S(-1) Copy Delete Print |

Page 1 of 26 Go to page **-129 to -48** Page size 20

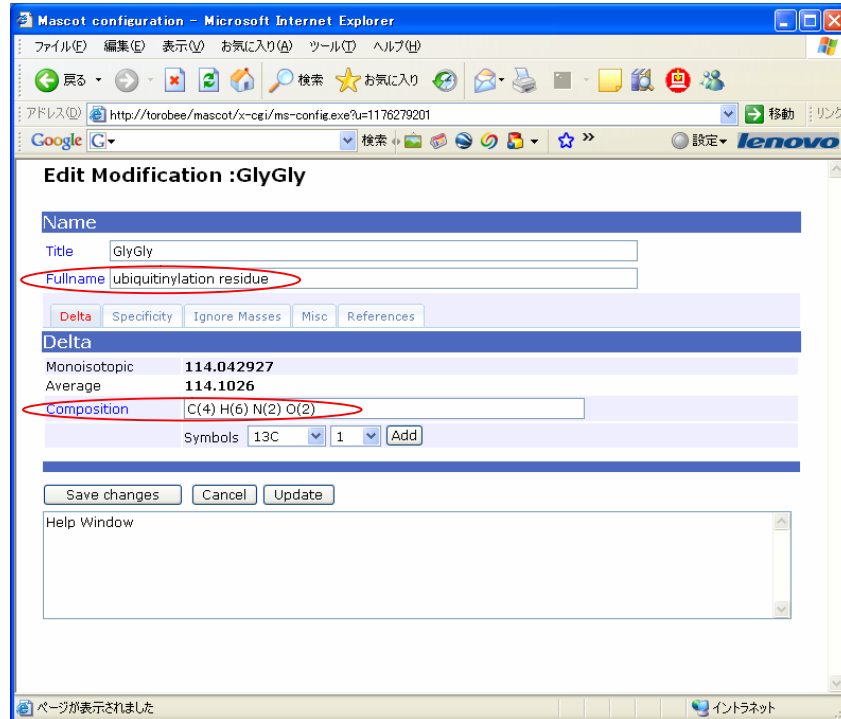
Add new modification

Help Window

- 129 to -48
- 48 to -30
- 30 to -18
- 18 to -14
- 14 to 1
- 1 to 10
- 12 to 16
- 16 to 26
- 26 to 30
- 31 to 42
- 43 to 54
- 55 to 70
- 70 to 86
- 87 to 108
- 108 to 125**
- 126 to 141
- 143 to 159
- 161 to 202
- 203 to 234
- 236 to 294
- 296 to 340
- 340 to 386
- 387 to 494
- 495 to 626
- 635 to 881
- 892 to 1769

Title の降順/昇順で並べ、名前を元にも探すこともできます。

各 Title の項目をクリックすると、Fullname 項目や、Composition 項目で、よりわかりやすい説明文や分子の構成が確認できるので、確認の際に役立ちます。



Configuration Editor を利用する以外に、Web サイト UNIMOD

<http://www.unimod.org>

の検索項目において、旧名称などによるキーワード検索を行う事もできます。

- * ユーザー登録をせずに UNIMOD のサイトに入る場合は、サイト画面のはじめに[Login as guest] を選んでください。

The screenshot shows the UNIMOD website in a Microsoft Internet Explorer browser. The search bar is highlighted with a red oval. The search results table is as follows:

| Accession # | PSI-MS Name | Interim name | Description | Monoisotopic mass | Average mass | Composition |
|-------------|-------------|--------------|--|-------------------|--------------|--------------------------|
| 676 | | Trp->Gly | Trp->Gly substitution | -129.057849 | -129.1586 | H(-7) C(-9) N(-1) |
| 313 | Lys-loss | -K | Loss of C-terminal K from Heavy Chain of MAb | -128.094963 | -128.1723 | H(-12) C(-6) N(-2) O(-1) |
| 646 | | Arg->Gly | Arg->Gly substitution | -99.079647 | -99.1344 | H(-9) C(-4) N(-3) |
| 673 | | Trp->Ser | Trp->Ser substitution | -99.047285 | -99.1326 | H(-5) C(-8) N(-1) O |
| 400 | Tyr->Dha | DehydroalaY | Dehydroalanine (from Tyrosine) | -94.041865 | -94.1112 | H(-6) C(-6) O(-1) |
| 674 | | Trp->Cys | Trp->Cys substitution | -83.070128 | -83.0670 | H(-5) C(-8) N(-1) S |
| 679 | | Tyr->Ser | Tyr->Ser substitution | -76.031300 | -76.0960 | H(-4) C(-6) |
| 677 | | Trp->Leu | Trp->Leu substitution | -72.995249 | -73.0523 | H C(-5) N(-1) |
| 564 | | Glu->Gly | Glu->Gly substitution | -72.021129 | -72.0627 | H(-4) C(-3) O(-2) |
| 636 | | Arg->Ser | Arg->Ser substitution | -69.069083 | -69.1084 | H(-7) C(-3) N(-3) O |
| 683 | | Tyr->Cys | Tyr->Cys substitution | -60.054144 | -60.0304 | H(-4) C(-6) O(-1) S |
| 566 | | Phe->Ser | Phe->Ser substitution | -60.036386 | -60.0966 | H(-4) C(-6) O |
| 639 | | Arg->Pro | Arg->Pro substitution | -59.048347 | -59.0705 | H(-5) C(-1) N(-3) |
| 556 | | Asp->Gly | Asp->Gly substitution | -58.005479 | -58.0361 | H(-2) C(-2) O(-2) |
| 560 | | Glu->Ala | Glu->Ala substitution | -58.005479 | -58.0361 | H(-2) C(-2) O(-2) |
| 638 | | Arg->Thr | Arg->Thr substitution | -55.053433 | -55.0818 | H(-5) C(-2) N(-3) O |
| 644 | | Arg->Cys | Arg->Cys substitution | -53.091927 | -53.0428 | H(-7) C(-3) N(-3) S |
| 680 | | Tyr->Asn | Tyr->Asn substitution | -49.020401 | -49.0706 | H(-3) C(-5) N |
| 682 | | Tyr->Asp | Tyr->Asp substitution | -48.036386 | -48.0859 | H(-4) C(-5) O |

新名称の項目に Hidden のチェックが入っているかどうかの確認と、入っていた場合にチェックをはずす方法は以下のとおりです。

該当項目をクリックします（例では GlyGly）

| Title | Monoisotopic | Average | Composition | | | |
|------------------------------|--------------|----------|----------------------|------|--------|-------|
| O-Dimethylphosphate | 107.997631 | 108.0331 | H(5) C(2) O(3) P | Copy | Delete | Print |
| ICPL:2H(4) | 109.046571 | 109.1188 | H(-1) 2H(4) C(6) N O | Copy | Delete | Print |
| dNIC | 109.048119 | 109.1205 | H 2H(3) C(6) N O | Copy | Delete | Print |
| Methylpyrroline | 109.052764 | 109.1259 | H(7) C(6) N O | Copy | Delete | Print |
| Nmethylmaleimide | 111.032028 | 111.0987 | H(5) C(5) N O(2) | Copy | Delete | Print |
| ICPL:13C(6) | 111.041593 | 111.0500 | H(3) 13C(6) N O | Copy | Delete | Print |
| Delta-H(8)C(6)O(2) | 112.052430 | 112.1265 | H(8) C(6) O(2) | Copy | Delete | Print |
| GlyGly | 114.042927 | 114.1026 | H(6) C(4) N(2) O(2) | Copy | Delete | Print |
| DHP | 118.065674 | 118.1558 | H(8) C(8) N | Copy | Delete | Print |
| CysteinyI | 119.004099 | 119.1423 | H(5) C(3) N O(2) S | Copy | Delete | Print |
| Pyridylacetyl | 119.037114 | 119.1207 | H(5) C(7) N O | Copy | Delete | Print |
| Phenylisocyanate | 119.037114 | 119.1207 | H(5) C(7) N O | Copy | Delete | Print |
| DTT_C | 120.024500 | 120.1701 | H(8) C(4) O(2) S | Copy | Delete | Print |
| O-Isopropylmethylphosphonate | 120.034017 | 120.0868 | H(9) C(4) O(2) P | Copy | Delete | Print |
| PET | 121.035005 | 121.2028 | H(7) C(7) N O(-1) S | Copy | Delete | Print |
| Isopropylphospho | 122.013281 | 122.0596 | H(7) C(3) O(3) P | Copy | Delete | Print |
| Xlink:DMP | 122.084398 | 122.1677 | H(10) C(7) N(2) | Copy | Delete | Print |
| GPIanchor | 123.008530 | 123.0477 | H(6) C(2) N O(3) P | Copy | Delete | Print |
| Phenylisocyanate:2H(5) | 124.068498 | 124.1515 | 2H(5) C(7) N O | Copy | Delete | Print |
| Nethylmaleimide | 125.047679 | 125.1253 | H(7) C(6) N O(2) | Copy | Delete | Print |

[Specify] タブをクリックします。

Edit Modification :GlyGly

Name

Title: GlyGly

Fullname: ubiquitinylation residue

Delta Specificity Ignore Masses Misc References

Delta

Monoisotopic: 114.042927

Average: 114.1026

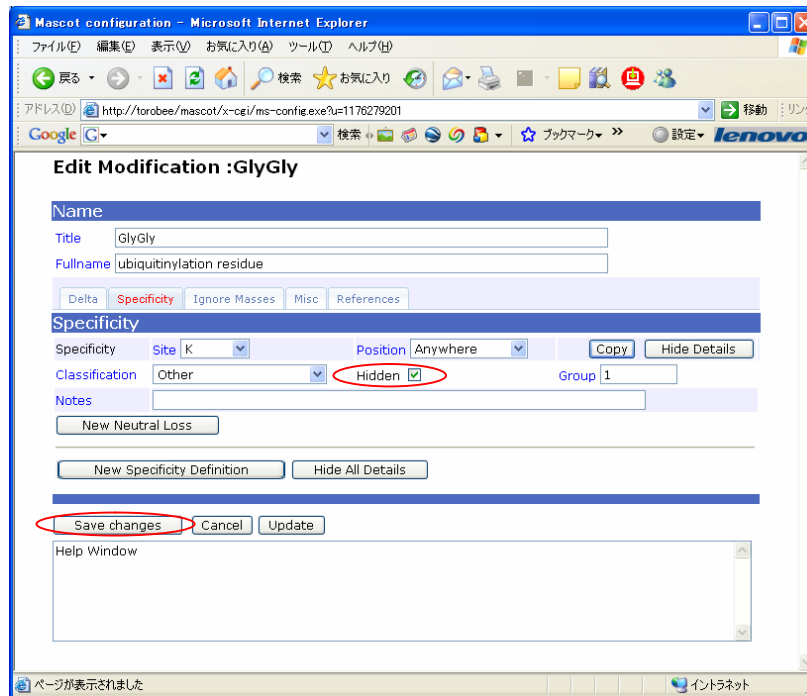
Composition: H(6) C(4) N(2) O(2)

Symbols: 13C 1 Add

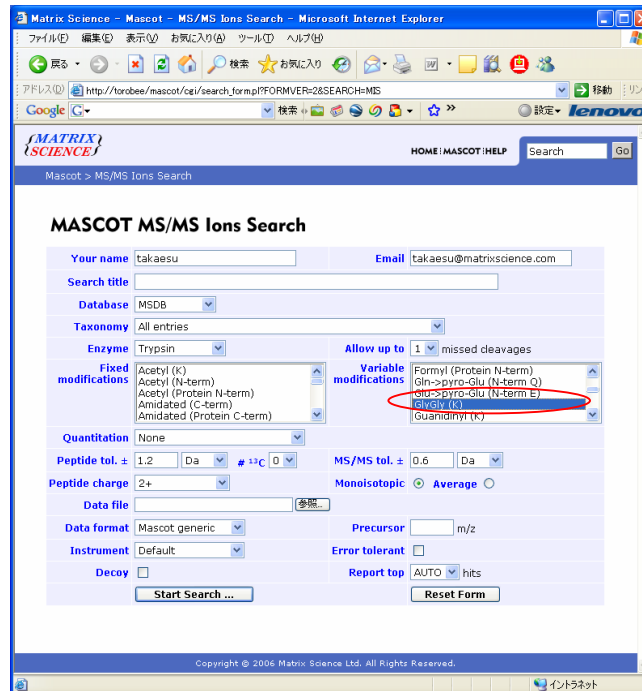
Save changes Cancel Update

Help Window

[Hidden] 項目にチェックが入っているか確認し、入っている場合はチェックをはずして、 [Save changes] ボタンを押します。



以後、検索時に選べるようになります。



4 . 新規項目の追加

新規項目の追加方法は以下の通りです。各項目の詳細は、実際に画面を開いて Help Window を参照してください。

Editor 画面にて、[Add new modification] を選びます。

Mascot Configuration: Modifications

| Title | Monoisotopic | Average | Composition | | | |
|--------------|--------------|----------|-----------------------------|------|--------|-------|
| 15dB-biotin | 626.386577 | 626.8927 | H(54) C(35) N(4) O(4) S | Copy | Delete | Print |
| 2HPG | 282.052824 | 282.2476 | H(10) C(16) O(5) | Copy | Delete | Print |
| 4-ONE | 154.099380 | 154.2063 | H(14) C(9) O(2) | Copy | Delete | Print |
| a-type-ion | -29.002740 | -29.0180 | H(-1) C(-1) O(-1) | Copy | Delete | Print |
| AccQTag | 170.048013 | 170.1674 | H(6) C(10) N(2) O | Copy | Delete | Print |
| Acetyl | 42.010565 | 42.0367 | H(2) C(2) O | Copy | Delete | Print |
| Acetyl:2H(3) | 45.029395 | 45.0552 | H(-1) 2H(3) C(2) O | Copy | Delete | Print |
| ADP-Ribosyl | 541.061110 | 541.3005 | H(21) C(15) N(5) O(13) P(2) | Copy | Delete | Print |
| AEBBS | 183.035399 | 183.2276 | H(9) C(8) N O(2) S | Copy | Delete | Print |
| AEC-MAEC | 59.019355 | 59.1334 | H(5) C(2) N O(-1) S | Copy | Delete | Print |
| Ala->Asp | 43.989829 | 44.0095 | C O(2) | Copy | Delete | Print |
| Ala->Glu | 58.005479 | 58.0361 | H(2) C(2) O(2) | Copy | Delete | Print |
| Ala->Gly | -14.015650 | -14.0266 | H(-2) C(-1) | Copy | Delete | Print |
| Ala->Pro | 26.015650 | 26.0373 | H(2) C(2) | Copy | Delete | Print |
| Ala->Ser | 15.994915 | 15.9994 | O | Copy | Delete | Print |
| Ala->Thr | 30.010565 | 30.0260 | H(2) C O | Copy | Delete | Print |
| Ala->Val | 28.031300 | 28.0532 | H(4) C(2) | Copy | Delete | Print |
| Amidated | -0.984016 | -0.9848 | H N O(-1) | Copy | Delete | Print |
| Amidine | 41.026549 | 41.0519 | H(3) C(2) N | Copy | Delete | Print |
| Amidino | 42.021798 | 42.0400 | H(2) C N(2) | Copy | Delete | Print |

Page 1 of 26 Go to page 15 to Am Page size 20

[Add new modification](#) [Main menu](#)

15-deoxy-delta 12,14-Prostaglandin J2-biotinimide

[Delta] タブにて、修飾の名称 (Title)、Fullname、化学式 (Composition) を入力します。

* 入力例の図 (下図) として、Phospho の設定内容を示しています。

The screenshot shows a web browser window titled "Mascot configuration - Microsoft Internet Explorer". The address bar shows the URL: <http://torobee/mascot/x-cgi/ms-config.exe?u=1176290653>. The page content is titled "Edit Modification :Phospho".

The "Name" section contains the following fields:

- Title: Phospho
- Fullname: Phosphorylation

Below the name fields are tabs: Delta (selected), Specificity, Ignore Masses, Misc, and References.

The "Delta" section contains the following fields:

- Monoisotopic: 79.966331
- Average: 79.9799
- Composition: H O(3) P
- Below the composition field, there are dropdown menus for "Symbols" (set to 13C) and "1" (set to 1), followed by an "Add" button.

At the bottom of the form are three buttons: "Save changes", "Cancel", and "Update".

Below the buttons is a "Help Window" which is currently empty.

[設定における注意事項]

Composition の入力には、すぐ下に表示されている Symbols とその原子の個数を選んで、"Add" ボタンを押して入力してください。直接文字の入力しないでください。

[Specify] タブにて、修飾されるアミノ酸残基、残基の位置(N-term,Cterm,Protein N/C-term)、表示時のグループ分け、ニュートラルロス、を指定します。

*例として Phospho の設定内容を示しています。

[設定における注意事項]

例のように残基を複数登録したい場合、[New Specify Definition] ボタンを押してください。

例で使用している phospho は、検索パラメータ画面において

- Phospho (ST)
- Phospho (Y)

と分かれています。(ST)のように、1つの指定で複数残基を合わせて検索したい場合は Group 項目を同じ数字にして、逆に分けたい場合には Group 項目を異なる数値にします。次ページ図の例では、ST が group 1, Yは group 2, Tは group 4 (但し Hidden) となっています。

前ページ図の例のように、Neutral Loss の設定をしたい場合は、各残基の設定の下にあるボタン [New Neutral Loss] を押してください。

The screenshot displays the Mascot configuration interface with the following details:

- Modification 1:** Site Y, Position Anywhere, Classification Post-translational, Hidden , Group 2. Notes: Usually don't see beta elimination of phosphate.
- Modification 2:** Site H, Position Anywhere, Classification Post-translational, Hidden , Group 4. Notes: Rare.
- Modification 3:** Site T, Position Anywhere, Classification Post-translational, Hidden , Group 1. Notes: (empty).
- Modification 4:** Site S, Position Anywhere, Classification Post-translational, Hidden , Group 1. Notes: (empty).

Buttons for 'New Neutral Loss' are present under each modification. The 'New Specificity Definition' button is located at the bottom of the page.

[Ignore Masses] タブにて、修飾に付随して発生するペプチド以外のピークを省く設定を行います。 * 例として ICAT 試薬の設定内容を示しています。

The screenshot shows the 'Mascot configuration' web interface in Microsoft Internet Explorer. The browser address bar shows the URL: <http://torobee/mascot/x-cgi/ms-config.exe?u=1176290653>. The page title is 'Edit Modification :ICAT-D'. The 'Ignore Masses' tab is selected, showing a list of six ignore masses. Each entry includes a 'Delete' button, a 'Composition' field, and a 'Symbols' field with '13C' and '1' selected, and an 'Add' button. At the bottom, there are 'Save changes', 'Cancel', and 'Update' buttons, and a 'Help Window' section.

| Ignore Mass | Monoisotopic | Average | Buttons |
|---------------|--------------|----------|---------|
| Ignore Mass 1 | 227.085423 | 227.3033 | Delete |
| Ignore Mass 2 | 284.143273 | 284.3977 | Delete |
| Ignore Mass 3 | 328.169488 | 328.4502 | Delete |
| Ignore Mass 4 | 403.237901 | 403.5599 | Delete |
| Ignore Mass 5 | 477.220537 | 477.6616 | Delete |
| Ignore Mass 6 | 501.220537 | 501.6830 | Delete |

[Misc] タブでは Unimod での登録日や修飾に関する詳細な記述を記入しますが、ユーザーによる Mascot での登録時には必須項目ではありません。

The screenshot shows the 'Edit Modification :Phospho' page in Microsoft Internet Explorer. The 'Misc' tab is selected, displaying the following information:

- Name:** Title: Phospho, Fullname: Phosphorylation
- Misc:** Creation Date: 2002-08-19 19:17:11, Last modified: 2006-10-16 12:11:24, User: unimod
- Notes:** Protein which is posttranslationally modified by the attachment of at least one phosphate group usually on serine, threonine or tyrosine residues, but also on aspartic acid or histidine residues.

Buttons for 'Save changes', 'Cancel', and 'Update' are visible at the bottom of the form.

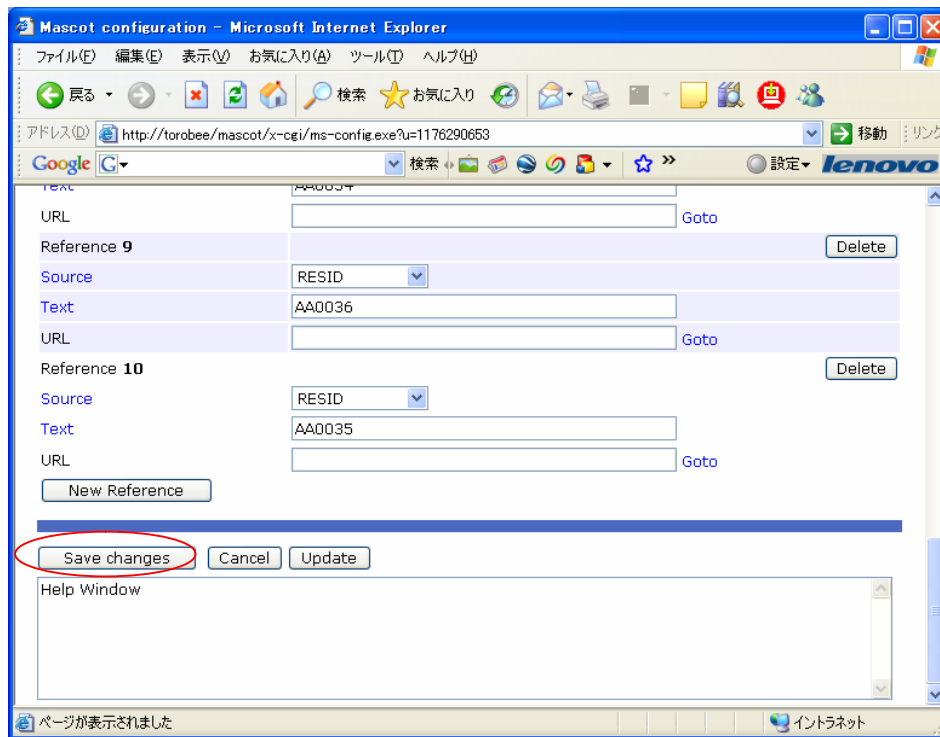
[References] タブでは登録項目に関する論文情報や、他の修飾情報サイトでの登録 ID などの情報を記入しますが、ユーザーによる Mascot での登録時には必須項目ではありません。

The screenshot shows the 'Edit Modification :Phospho' page in Microsoft Internet Explorer, with the 'References' tab selected. It displays a list of six references:

| Reference ID | Source | Text | URL |
|--------------|-----------|-----------|---|
| Reference 1 | Misc. URL | IonSource | http://www.ionsource.com/Card/phos/phos.htm |
| Reference 2 | RESID | AA0037 | |
| Reference 3 | RESID | AA0033 | |
| Reference 4 | RESID | AA0038 | |
| Reference 5 | RESID | AA0039 | |
| Reference 6 | | | |

Each reference entry includes a 'Delete' button and a 'Goto' link for the URL field.

すべて登録が終わったら、画面下部の [Save changes] ボタンを押します。



以後、追加した項目を検索画面で指定することができます。

以上です。

ご不明な点がございましたら、弊社技術サポートまでお問い合わせください。

技術サポート

電子メール : support-jp@matrixscience.com
電 話 : 03-5807-7897
ファックス : 03-5807-7896