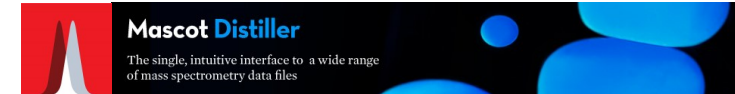


MASCOT Distiller : 機能



- rawデータからピークを判定し抽出

- decharge

[多価フラグメントピークを認識し1価相当のm/zに変換]

- キメラスペクトル作成

[複数ペプチド由来のMS/MSデータを認識]

[1つのMS/MSデータに複数のprecursor値]

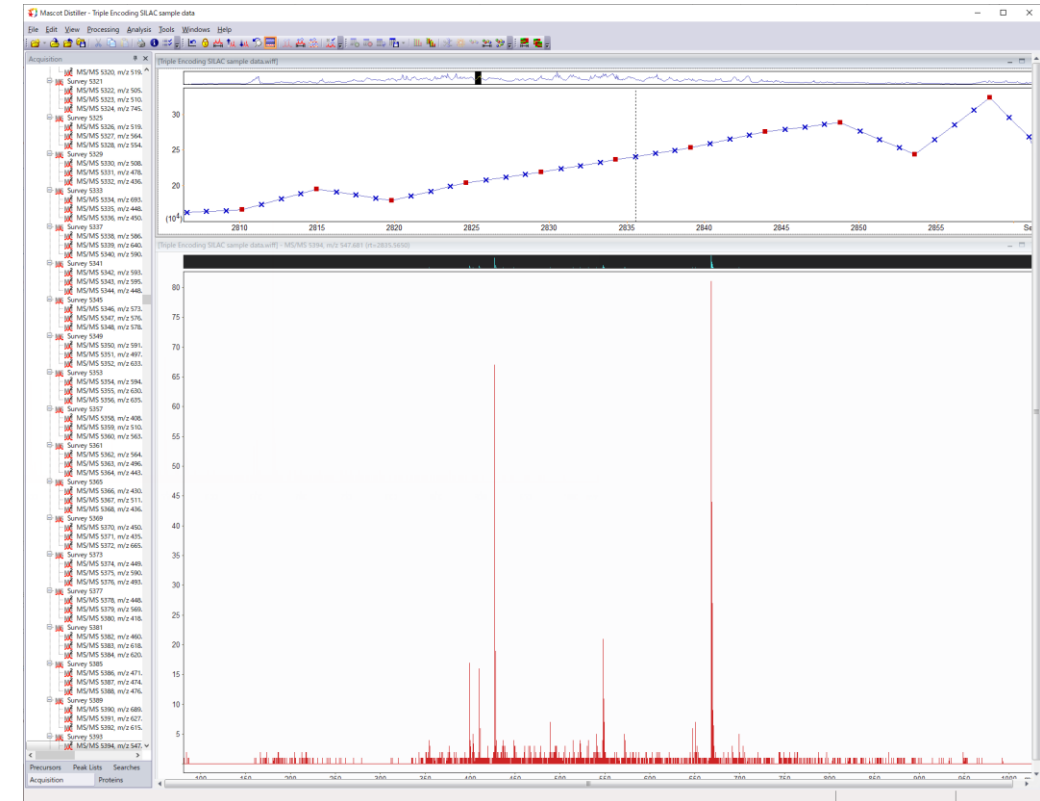
- Mascot Daemonと連動

[追加のモジュールでできるようになる事]

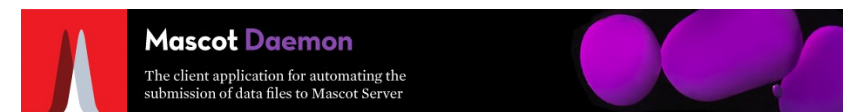
- denovo sequencing

- Distiller上で検索結果を受け取り、rawデータと検索結果を結び付ける

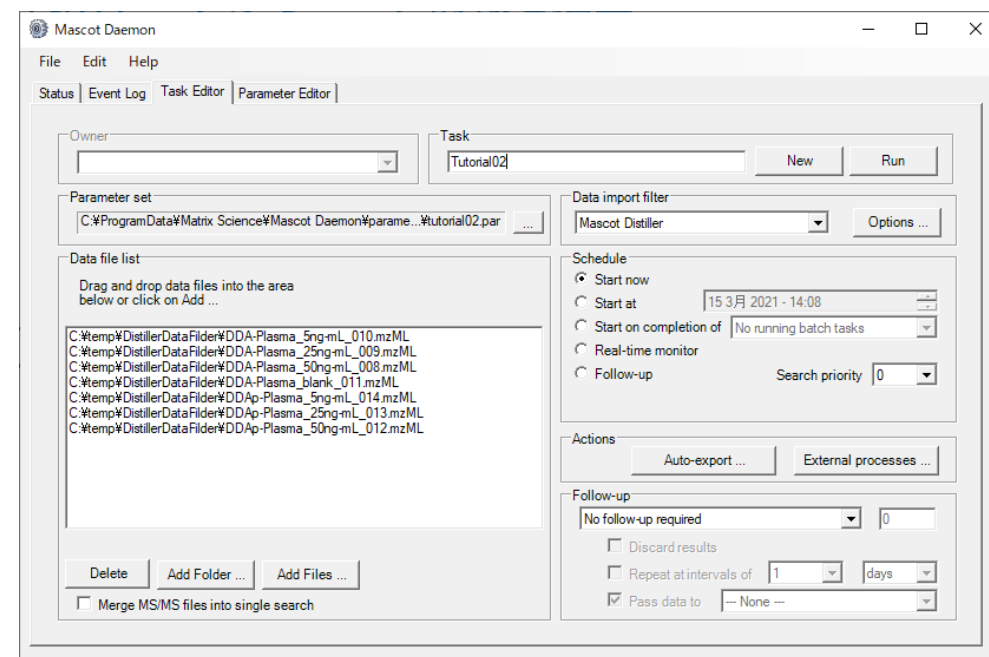
- 定量解析



MASCOT Daemon: 機能



- 複数のデータを同一検索条件で検索実施
- rawデータ変換プログラム (Distiller, ProteoWizard MSconvert) の適用
- データの結合
- CSVファイル出力
- 装置付属のソフトウェアを使わず
MASCOT検索が可能

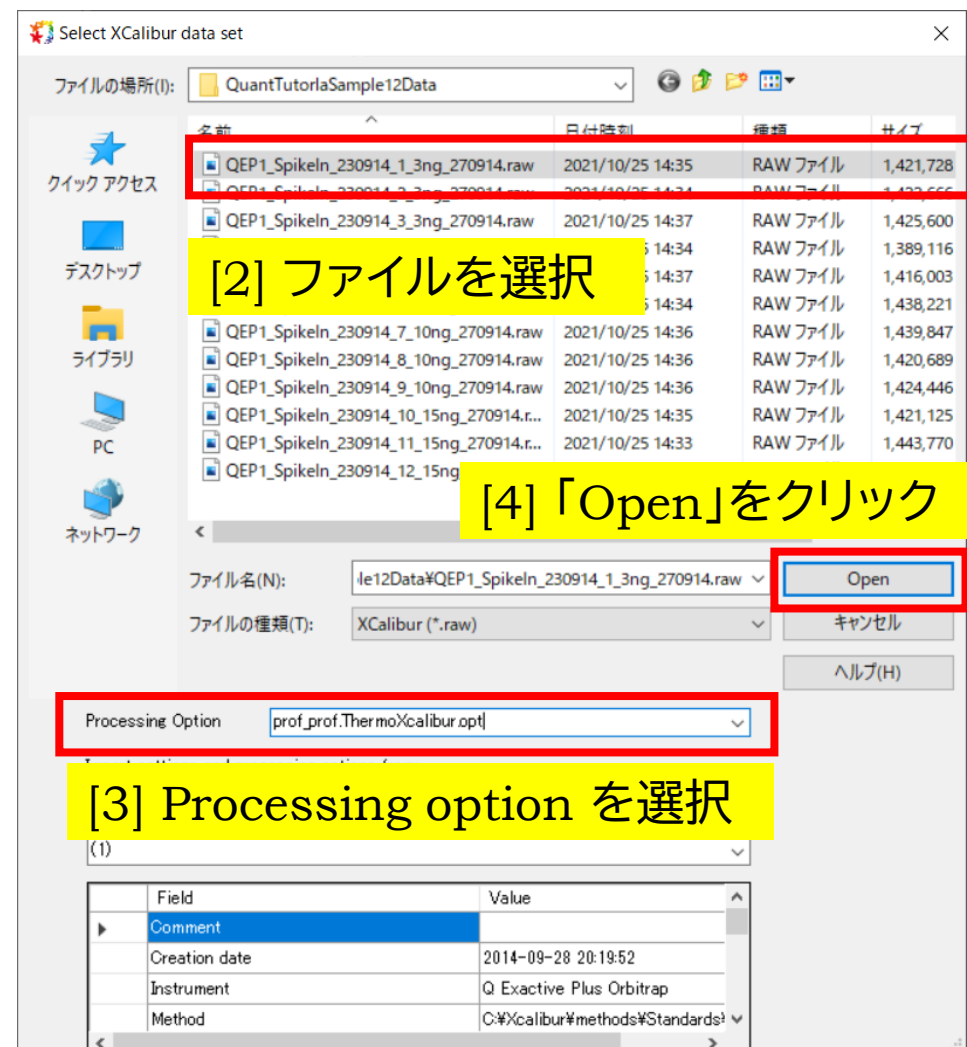
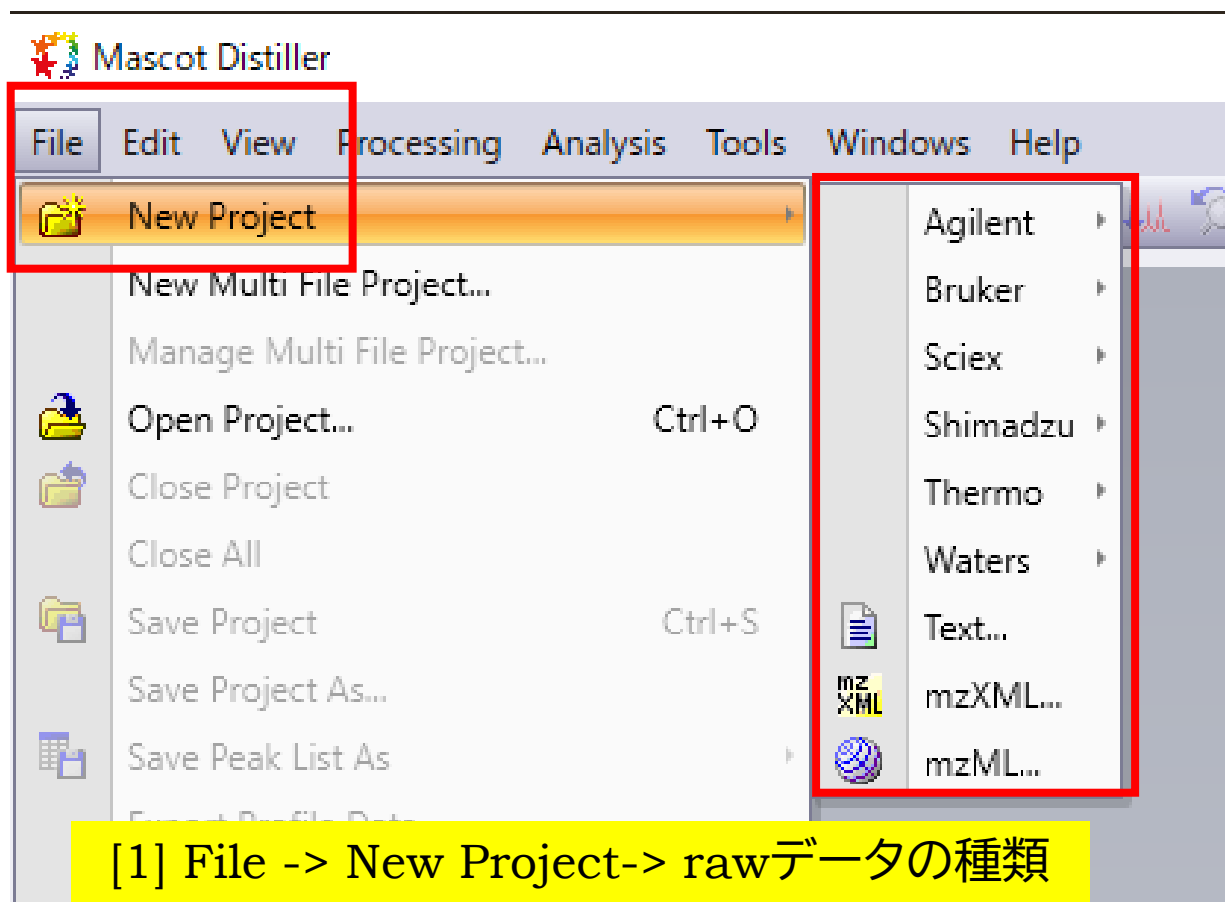
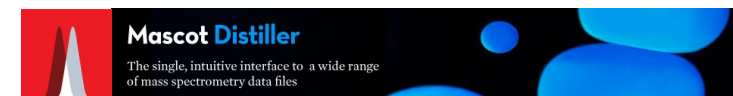


MASCOT Daemon + Distiller どんな時にお勧めか

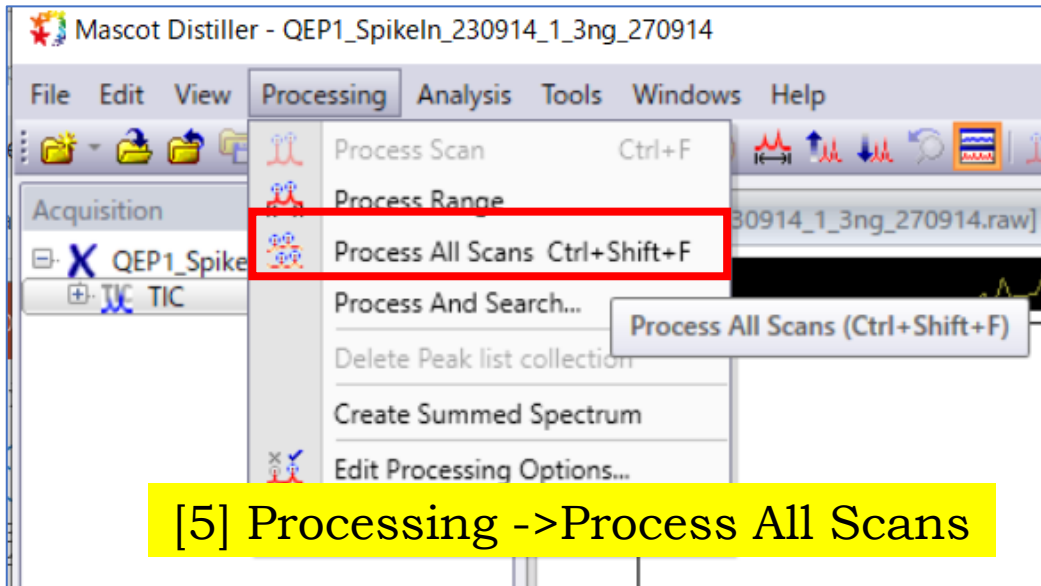


- 複数の装置のデータ解析において、ピーク抽出プログラムを揃えたい
- 他社ソフトウェア以外の解析方法でMASCOT検索したい
- decharge機能 [多価フラグメントピークを認識し1価相当のm/zに変換] を使いたい
- キメラスペクトル作成 [複数ペプチド由来のMS/MSデータを認識] 機能を使いたい

Distiller上での操作手順：raw ファイルの読み込み

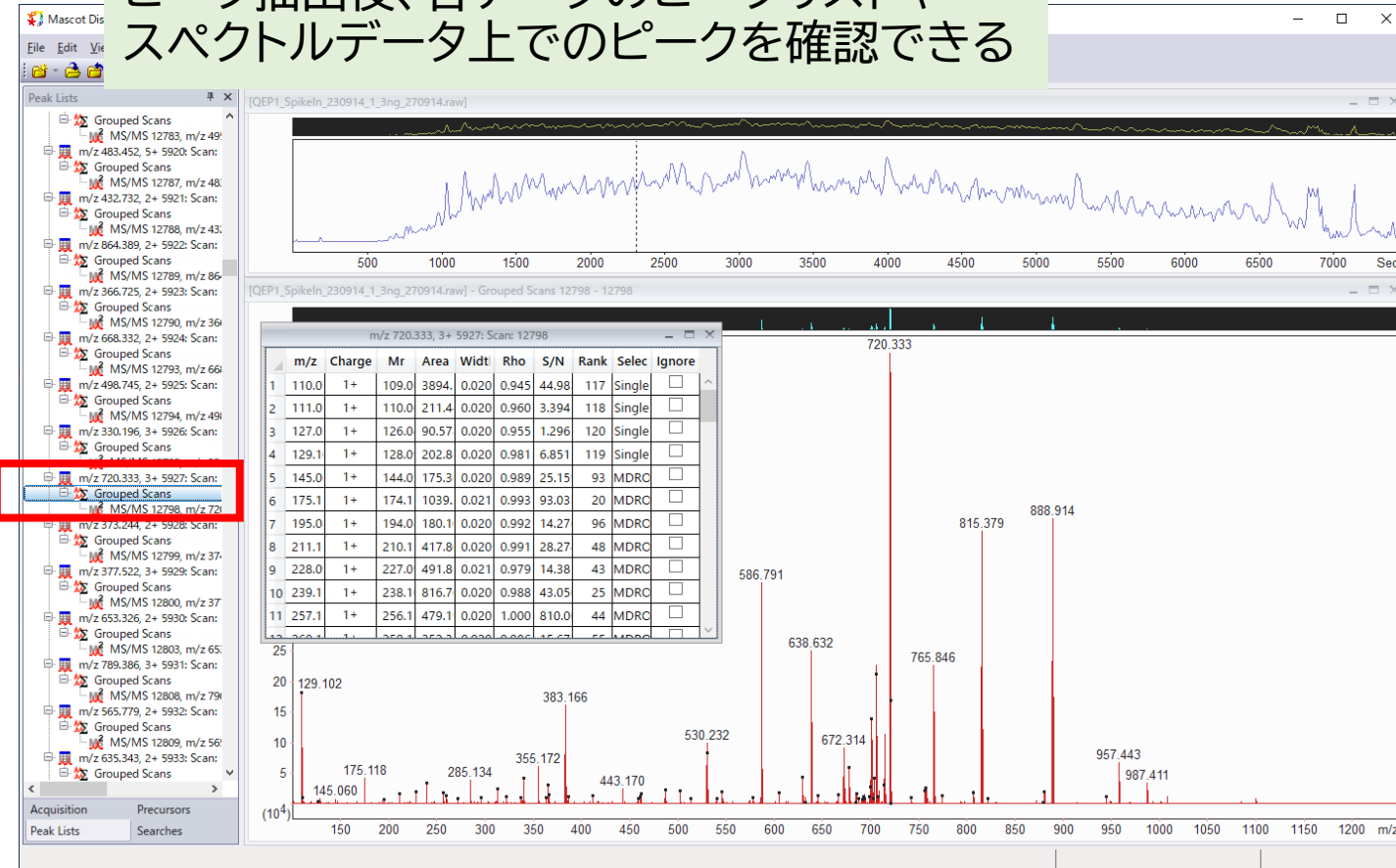


Distiller上での操作手順：ピーク抽出

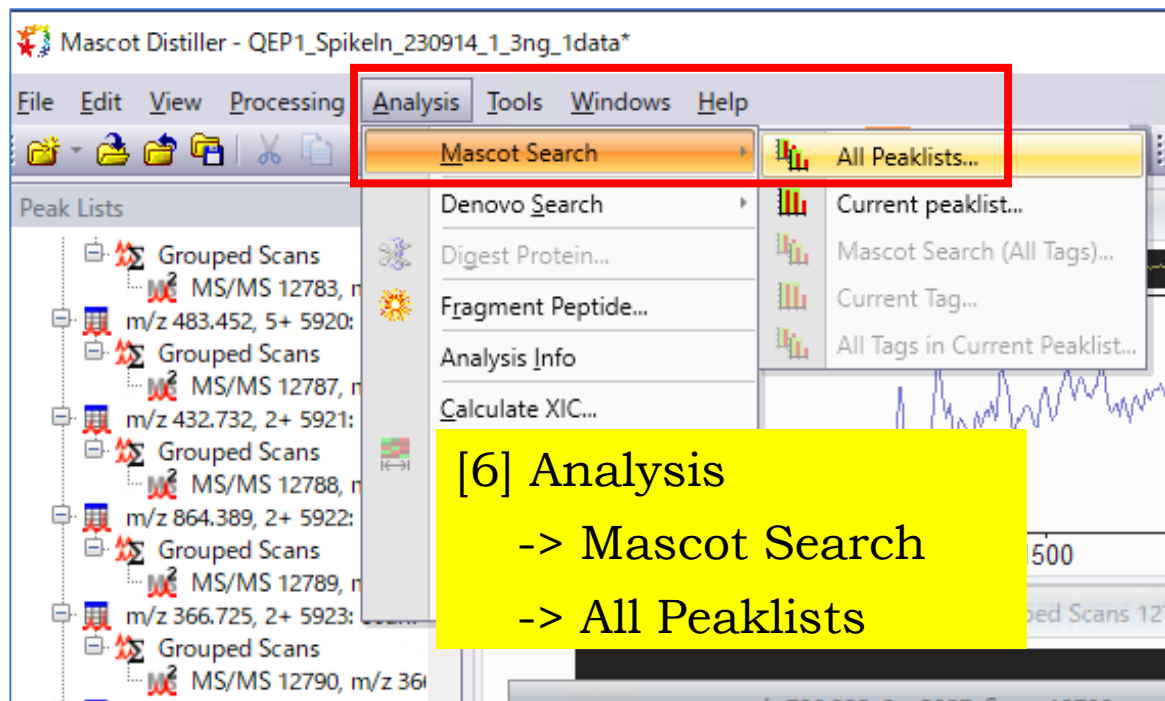
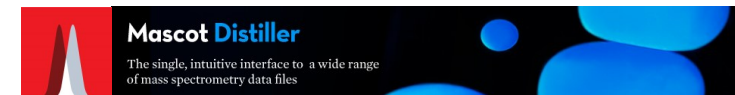


[5] Processing -> Process All Scans

ピーク抽出後、各データのピークリストや
スペクトルデータ上でのピークを確認できる



Distiller上での操作手順：MASCOT 検索



Mascot Search (localhost)

MASCOT MS/MS Ions Search

Your name: takaesu Email: []

Search title: C:\temp\replicatesDataset\QEP1_SpikeIn_230914_1_3ng_270914.raw

Database(s): SwissProt (AA) []

Amino acid (AA): AmbystomaMexicanum, Caudata, contaminants, cRAP, IPI_human, M_smeigmatis_2, M_smeigmatis_ATCC700084, Mouse, NCBIprot

Taxonomy: All entries [v]

Enzyme: Trypsin [v] Allow up to: 1 missed cleavages [v]

Quantitation: None [v]

Crosslinking: None [v]

Fixed modifications: Carbamidomethyl (C) [v]

Variable modifications: Oxidation (M) [v]

Display all modifications []

Peptide tol. ±: 0.1 Da # ¹³C: 0 MS/MS tol. ±: 0.1 Da

Peptide charge: 2+ Monoisotopic: ☒ Average ☐

Data file: []

Data format: Mascot generic [v] Precursor: [] m/z

Instrument: ESI-TRAP [v] Error tolerant: ☐

Decoy: ☒

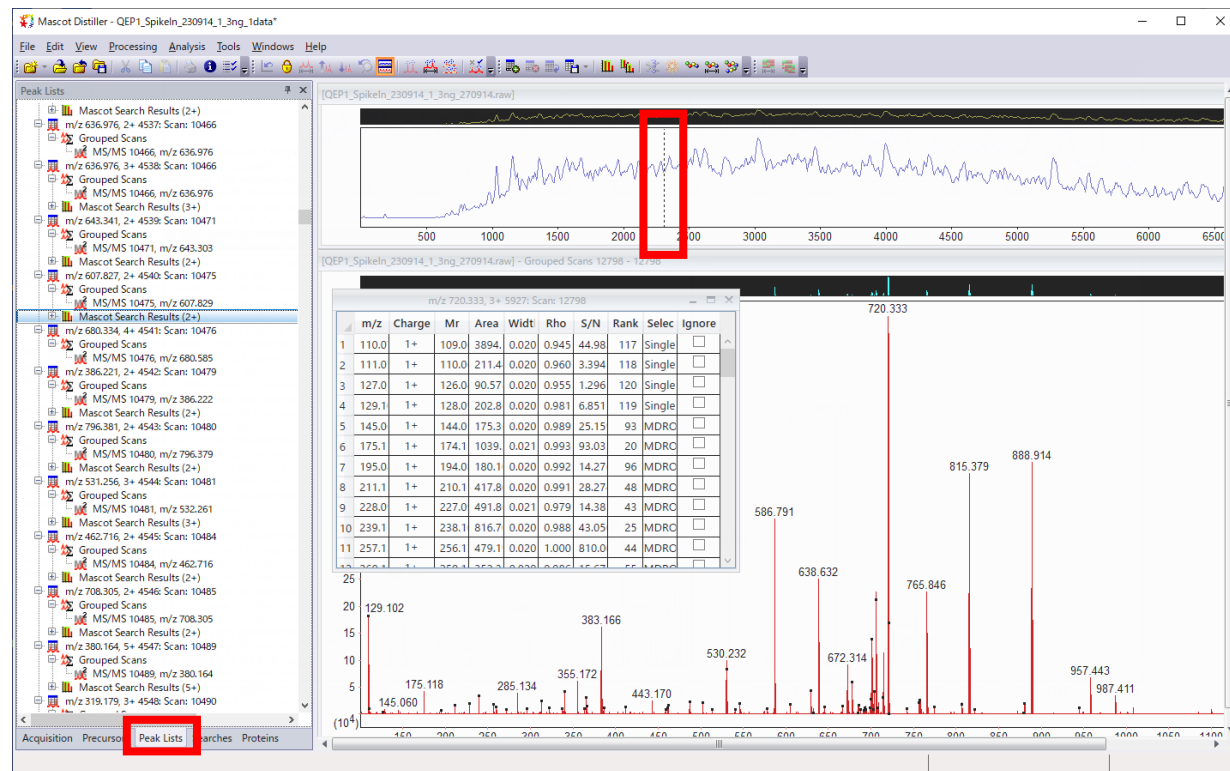
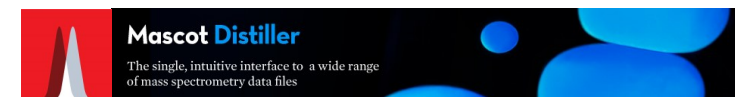
Start Search ... [] Reset Form []

Copyright © 2018 Matrix Science Ltd. All Rights Reserved.

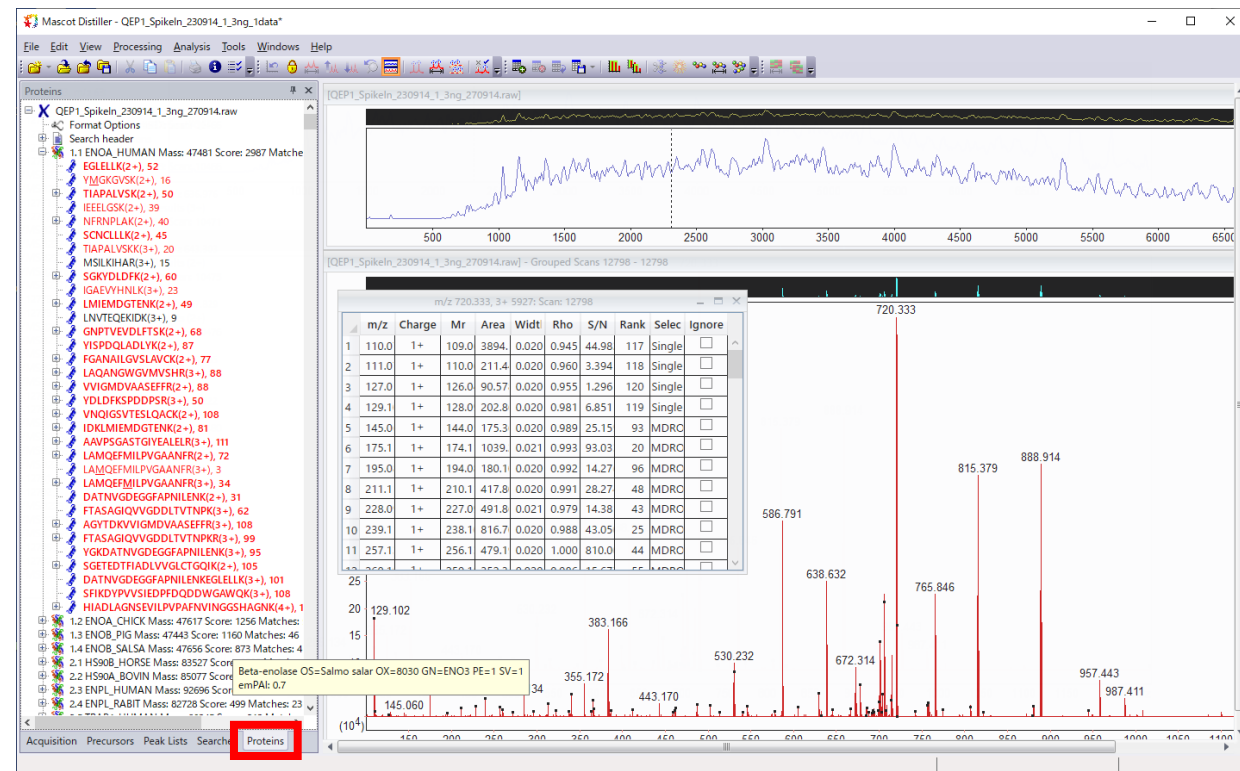
Cancel []

[7] 検索パラメーターを入力し、
”Start Search”

Distiller上での操作手順：MASCOT 検索結果受取



「Peak List」タブではScan numberとMASCOT検索結果を連動させた表示が可能



「Proteins」タブでは同定タンパク質並びにアサインペプチドの情報を確認

Daemon+Distiller の操作手順 : Parameter Editor



Mascot Daemon

File Edit Help

Status | Event Log | Task Editor | **Parameter Editor**

Parameter set

Filename: C:\ProgramData\Matrix Science\Mas...default.par [New] [Open ...] [Save] [Save As ...]

All Searches

User name: <mascot_user_full_name> User email: <mascot_user_email>

Search title: <taskname> (<parameters>), submitted from Daemon on <localhost>

Taxonomy: Homo sapiens (human) Report top: AUTO hits

Databases: SwissProt [Select Databases] Protein mass: kDa

Decoy: ☒ [Select Modifications] Enzyme: Trypsin

Fixed modifications: Carbamidomethyl (C) Max. missed cleavages: 1

Variable modifications: Oxidation (M) Monoisotopic: ☒ Average: ☐ Peptide charge: 2+ and 3+

Peptide tol. ±: 0.1 Da # 13C: 0

MS/MS

MS/MS Ions search: ☒ Data format: Mascot generic Instrument: Default

Error tolerant search: ☐ MS/MS tol. ±: 0.1 Da Quantitation: None

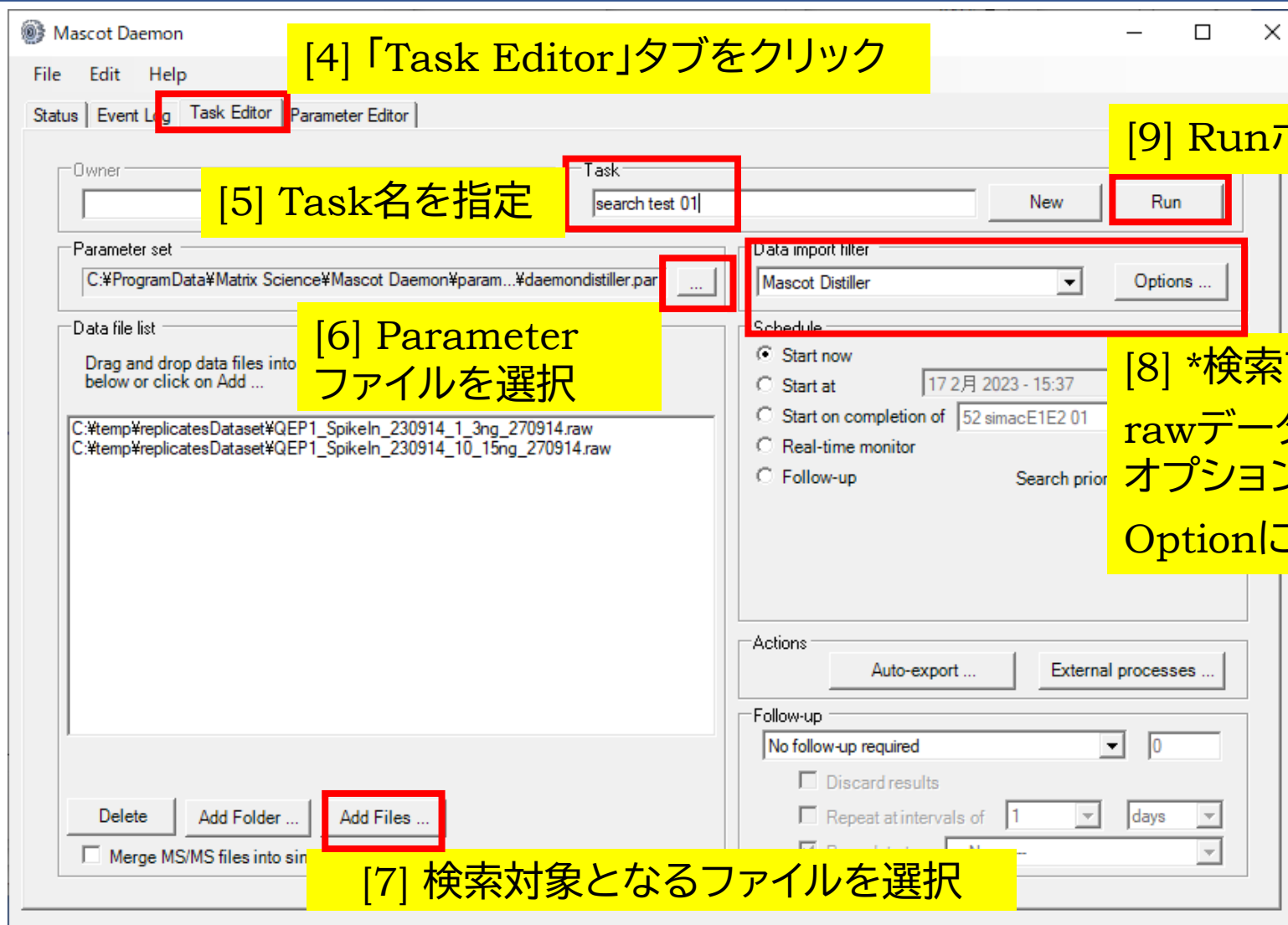
Target PSM FDR: 1% Crosslinking: None

[1] 「Parameter Editor」タブをクリック

[3] 「Save」または
「Save As」ボタンで
設定ファイルを保存

[2] 検索条件を指定

Daemon + Distiller の操作手順 : Task Editor



[4] 「Task Editor」タブをクリック

[5] Task名を指定

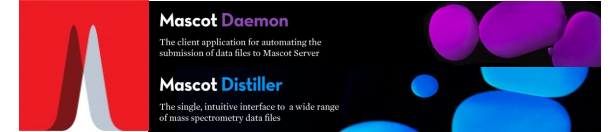
[6] Parameter
ファイルを選択

[7] 検索対象となるファイルを選択

[9] Runボタンを押して検索開始

[8] *検索ファイルがrawデータの場合
rawデータを変換するプログラムとその
オプションを指定
Optionについては次スライドで補足説明

補足説明 : Data import filterのOptionsダイアログ[MASCOT Distiller]



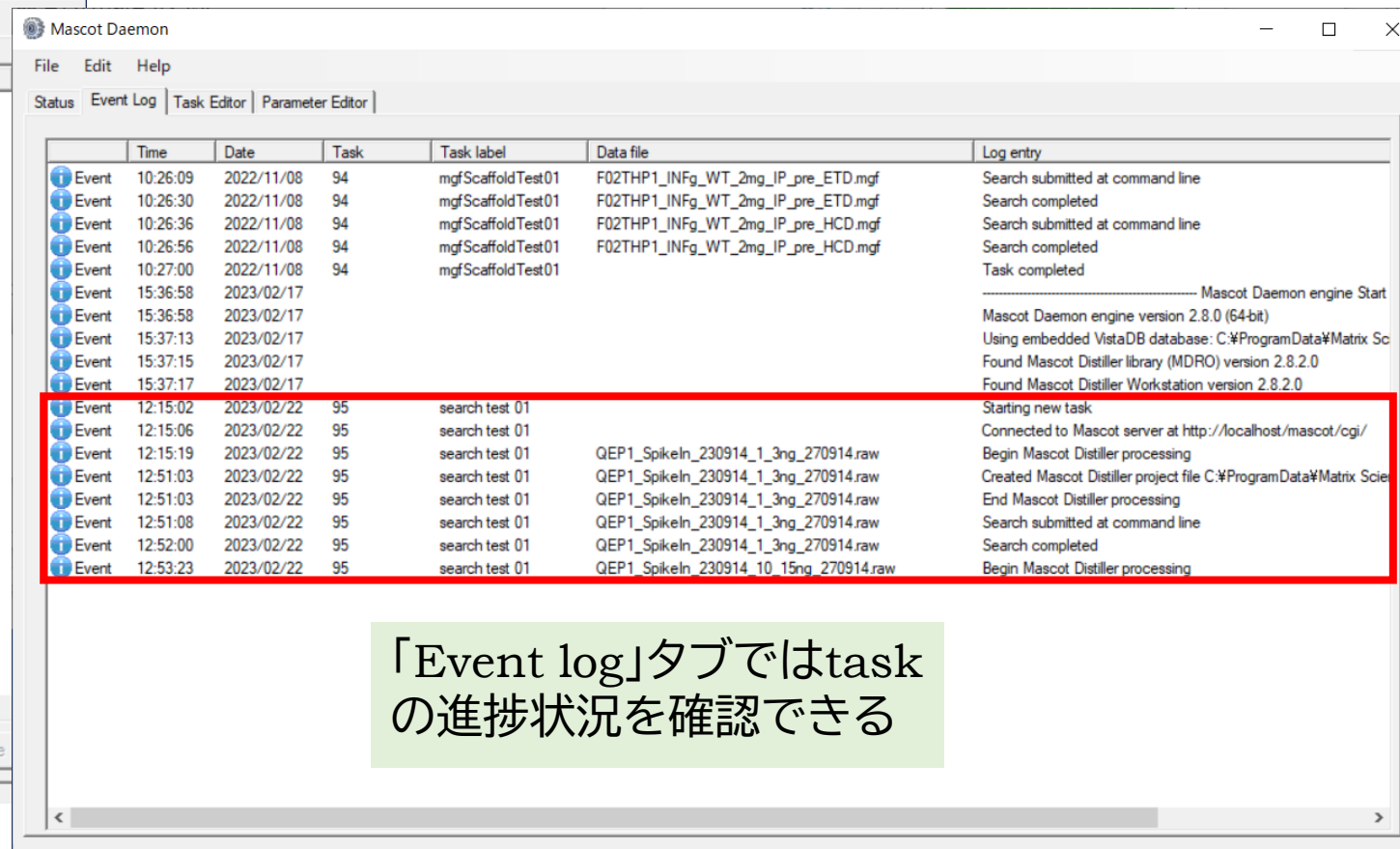
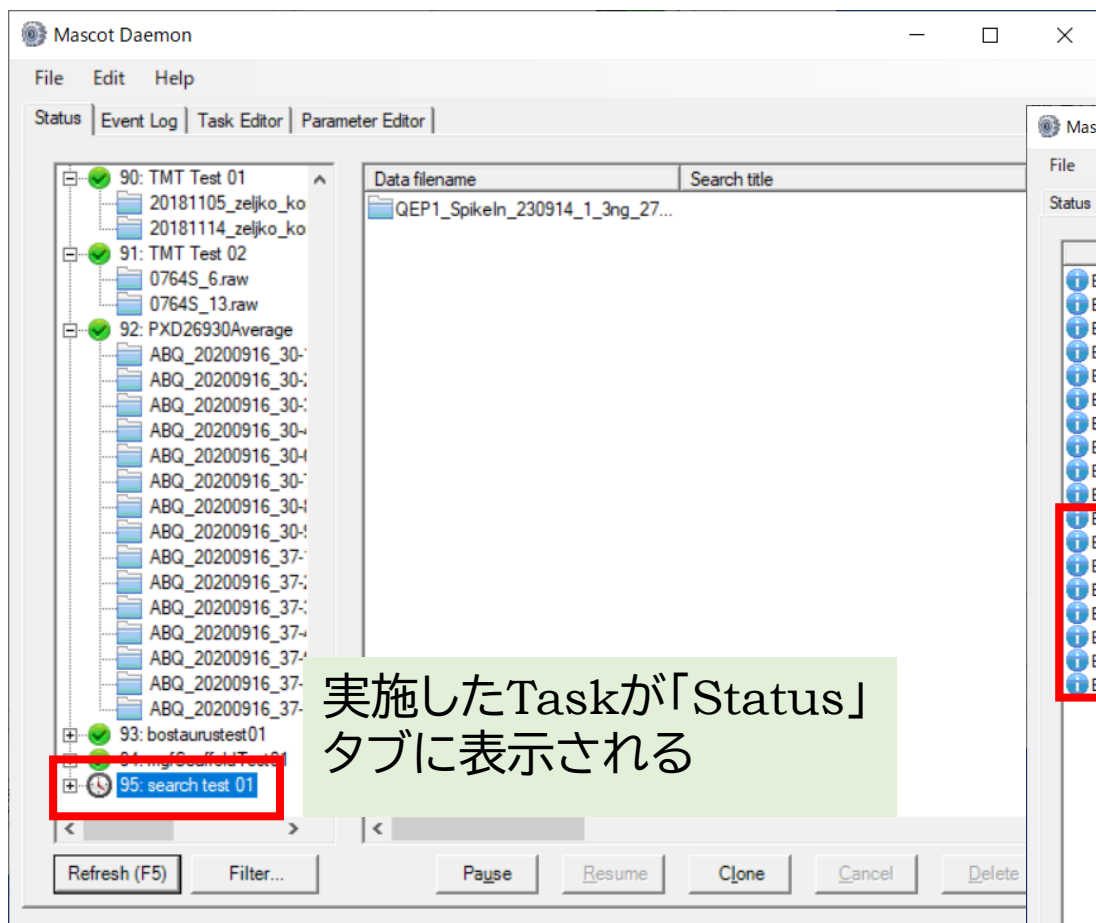
[a] RAWデータの種類を選択

[b] ピーク抽出に対する
Distillerのパラメータセット
ファイルを選択

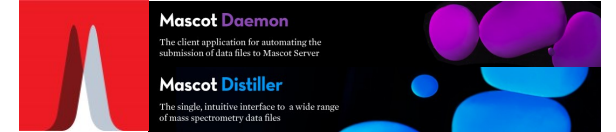
The image shows the 'Mascot Distiller data import options' dialog box. It contains various settings for data import. The 'Data File Format' dropdown is set to 'Thermo Xcalibur'. The 'Mascot Distiller Processing Options' section shows a file path 'C:\ProgramData\Matrix S...\prof_prof.ThermoXcalibur.opt'. The 'Multi-Sample Files' section has 'Separate search for each sample' selected. The 'Peak List Format' dropdown is set to 'MGF'. The 'Intensity values' section has 'Area' selected. The 'Scan Range (multi-scan files)' section has 'Start' and 'End' fields and 'Units' set to 'Minutes'. The 'Distiller Project' section has 'Save' checked. The 'Output PMF Masses as' section has 'MH+' selected. The 'Output MS/MS Fragments as' section has 'MH+' selected. The 'Quantitate Protein Hits' section has 'All' selected. The 'Scan level parameters' section has 'Output INSTRUMENT=' set to 'Default' for 'Unknown' scans. There are 'Reset', 'OK', and 'Cancel' buttons at the bottom.

[c] dechargeするときは「MH+」を選択

Daemon + Distiller の操作手順：検索待ち



Daemon + Distiller の操作手順：検索結果の確認



[11] rawデータのファイル名が記されたフォルダをクリックすると、結果のまとめが表示される

Parameter	Value
Data file	C:\temp\replicatesDataset\QEP1_SpikeIn_230914_1_3ng_270914.raw
Search Title	search test 01 (C:\ProgramData\Matrix Science\Mascot Daemon\parameters\daemondistiller.par), submitted from
Accession	ENOA_HUMAN
Protein MW	47481
Score	4385
Description	Alpha-enolase OS=Homo sapiens OX=9606 GN=ENO1 PE=1 SV=2
Database	SwissProt_2022_02.fasta
Result file URL	http://localhost/mascot/cgi/master_results_2.pl?file=../data/20230222/F001859.dat
Mascot Distiller	C:\ProgramData\Matrix Science\Mascot Daemon\MGF#95 search test 01#85c5d5d76d784f0
Cache folder	C:\ProgramData\Matrix Science\Mascot Daemon\MGF#95 search test 01
Search submitted	2023/02/22 12:51:08
Search completed	2023/02/22 12:52:03
Last event	2023/02/22 12:52:00 Search completed

[10] 検索が完了すると、task名の前のマークがとなる。

MASCOT Search Results

User :
E-mail :
Search title : search test 01 (C:\ProgramData\Matrix Science\Mascot Daemon\parameters\daemondistiller.par), submitted from Daemon on T5820
MS data file : C:\temp\replicatesDataset\QEP1_SpikeIn_230914_1_3ng_270914.raw
Database : SwissProt_2022_02 (567,483 sequences; 204,940,973 residues)
Taxonomy : Homo sapiens (human) (20,387 sequences)
Timestamp : 22 Feb 2023 at 03:51:35 GMT

Re-search ☐ All ☐ Non-significant ☐ Unassigned [\[help\]](#) Export As

Not what you expected? Try [the select summary](#).

Search parameters
Score distribution
Modification statistics for all protein families
Legend

Protein Family Summary

Format Significance threshold p< 0.05 Max. number of families AUTO [\[help\]](#)

Protein families 1-10 (out of 1550)

10 per page 1 2 3 4 5 ... 155 Next Expand all Collapse all

Accession contains Find Clear

1 1 ENOA_HUMAN 4385 Alpha-enolase OS=Homo sapiens OX=9606 GN=ENO1 PE=1 SV=2
2 ENOB_HUMAN 1652 Beta-enolase OS=Homo sapiens OX=9606 GN=ENO3 PE=1 SV=2

[12] result file URL の項目をクリックすると、結果画面が表示される