

Mascot Daemon 2.7

取扱説明書



目次

1 概要	3
1.1 タスク	3
1.2 フィルタプログラム (Data Import Filters)	3
1.3 運用形態	4
1.4 他のプログラムとの連携	4
2 インストールと環境設定	5
2.1 動作環境	5
2.2 新規インストール	5
2.3 バージョンアップ	7
2.4 変換プログラム :ProteoWizard のインストール方法	8
2.5 ライセンスの使用許諾	10
2.6 アンインストール	10
3 チュートリアル	11
3.1 Mascot Daemon の起動	11
3.2 検索条件ファイルの作成	11
3.3 タスクの作成と実行	12
3.4 検索結果の表示	12
3.5 フォローアップ・モード	13
4 リファレンス	15
4.1 メニュー	15
4.2 [Preferences]ダイアログ	16
4.3 [Parameter Editor]タブ	18
4.4 [Task Editor]タブ	22
4.5 [Event Log]タブ	29
4.6 [Status]タブ	29
5 補足	31
5.1 Mascot Daemon Engine を Windows のサービスとして動かす方法	31
5.2 タスク・データベース	31
5.3 Stop Masses リスト	32

1 概要

Mascot Daemon は Mascot 検索プロセスの自動化を支援する、Mascot Server のクライアントソフトウェアです。次の動作モードをサポートしています。

(1) バッチ・モード (Batch)

複数の質量データファイルに対して逐一 Mascot 検索を実行します。検索開始日時を指定することもできます。

(2) リアルタイムモニター・モード (Real-time monitor)

指定したフォルダ(ローカルあるいはネットワーク上)を監視し、そのフォルダ内に新たに作成された質量データファイルを取得して、Mascot 検索を実行します。

(3) フォローアップ・モード (Follow-up)

検索結果のスコアあるいは期待値が、あらかじめ指定したそれらの数値に達しなかった場合、別の検索条件を使って自動的に再検索を実行します。定期的に更新される配列データベースに対して自動的に再検索を実行させることもできます。

1.1 タスク

Mascot Daemon は検索を「タスク」単位で管理します。タスクは次の6つの情報で構成されています。

(1) タスク名

(2) 検索条件 (検索条件ファイル「*.par」ファイルとして前もって作成)

(3) 質量データファイル (生の質量データファイルの場合はフィルタプログラムを指定)

(4) 検索の実行時期

(5) 再検索条件 (Follow-up の条件)

(6) 外部プログラムの起動 (検索結果の Auto-export 機能、External processes 機能のサポート)

タスクは4つの状態 (実行中: Running、中断: Paused、完了: Completed、キャンセル: Canceled) をとることができます。Paused タスクは再実行 (Resume) することができます。Paused タスクと Completed タスクはキャンセルまたは削除することができます。

1.2 フィルタプログラム (Data Import Filters)

Mascot Daemon はテキスト形式のピークリストファイルおよび生の質量データファイルをサポートしています。テキスト形式のピークリストファイル (たとえば MGF ファイル) は特別な処理をせずにそのまま Mascot Server に投入することができますが、生の質量データファイルについては、対応するフィルタプログラムを利用してピーク抽出処理を行い、Mascot Server に投入できるピークリストファイル (たとえば MGF ファイル) を作成する必要があります。Mascot Daemon は Mascot Distiller および Windows のコマンドラインで実行できるフィルタプログラムをサポートしています。

(1) Mascot Distiller : <http://www.matrixscience.com/distiller.html>

全ての質量分析計ベンダーの生の質量データファイルを処理することができます。別途ライセンスが必要です。

(2) Thermo ExtractMSn

Thermo Fisher Scientific 社が提供する Xcalibur RAW ファイル処理プログラムです。すでにプログラムの開発・保守は終了していますので、Q-Exactive などで行われている新しいバージョンの Xcalibur が出力する RAW ファイルには対応していません。

(3) AB Sciex MS Data Converter : <http://www.absciex.com/software-downloads-x2110>

AB Sciex 社が提供するプログラムです。Wiff ファイルおよび TOF/TOF データファイルを処理することができます。

(4) ProteoWizard MSConvert : <http://proteowizard.sourceforge.net/downloads.shtml>

さまざまな質量データフォーマットに対応しています (http://proteowizard.sourceforge.net/doc_users.html の Supported format をご覧ください)。

(5) フィルタプログラムの追加

Windows のコマンドラインから実行できるプログラムであれば Mascot Daemon の [Data import filter] リストに追加することができます。詳しくは Mascot Daemon のヘルプページの「Adding a new data import filter」項をご覧ください。

1.3 運用形態

ひとつの Mascot Server に対し、複数の Mascot Daemon を利用することができます。たとえば、複数の質量分析計をお持ちの場合、それぞれの質量分析計のために用意した PC に Mascot Daemon をインストールすることもできますし、研究者が所有する PC に Mascot Daemon をインストールし、研究所内にある、種類が異なる質量分析計や複数の質量分析計から出力される質量データファイルを一元的に処理することもできます。

1.4 他のプログラムとの連携

External processes 機能を使うことにより、タスク開始前後および Mascot 検索実行前後のタイミングで外部のプログラムを実行することができます。

2 インストールと環境設定

2.1 動作環境

Mascot Daemon は、

- ・ 32bit および 64bit の Windows Daemon SP3 あるいは Server 2003 SP2 以上
- ・ Microsoft .NET framework 4.0 以上
- ・ Microsoft Internet Explorer が正しく動作している（古いコンピュータのみ。Win10 最新版では必須ではない）

の動作環境を持った PC にインストールすることができます。Mascot Daemon は HTTP プロトコルを利用して Mascot Server と通信しますが、弊社がインターネット上で公開している Mascot Server (<http://www.matrixscience.com/cgi/>) とは通信できませんのでご注意ください。

2.2 新規インストール

Mascot Daemon をインストールする前に、Mascot Server が正しく動作していることを確認してください。また、Mascot Server と同じバージョンの Mascot Daemon をインストールしてください。インストール作業は数分で終了します。

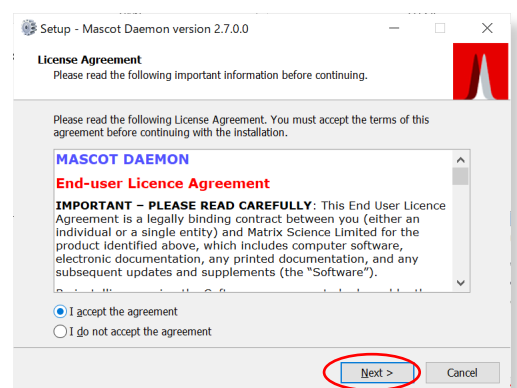
- (1) Mascot Daemon をインストールしたい PC の Web ブラウザから Mascot 検索を実行し、Mascot Server が正しく動作する事を確認してください。もし Mascot Server が正しく動作しない場合は、この問題を解決した後に、Mascot Daemon をインストールしてください。
- (2) Web ブラウザを起動し、Mascot Server の「Welcome」トップページ「<http://ホスト名/mascot/>」にアクセスしてください。
- (3) 「Welcome」トップページの中程にある「Mascot Daemon」項の[Install]リンクをクリックしてください。「Installing Mascot Daemon」ページが表示されます



- (4) 項目「3.」の[setup]リンクをクリックすると Mascot Daemon のインストーラである「daemon_setup.exe」が「C:\Users\ユーザー名\Downloads」フォルダにダウンロードされます。それを実行すると、Windows が 32bit か 64bit かを自動的に認識し、右図のような「Setup Wizard」が起動しますので、表示されるダイアログの内容に従ってインストールを進めてください。なお、Microsoft .NET framework がインストールされていない場合はその旨のメッセージが表示されますので、次に示すリンクからダウンロードしてインストールし、再度「daemon_setup.exe」を実行してください。

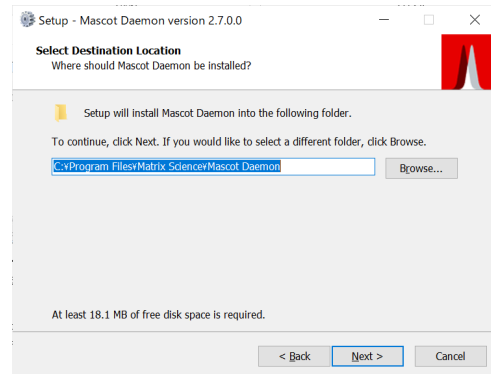
- ▶ Microsoft .NET framework 4.6 :

<https://www.microsoft.com/en-gb/download/details.aspx?id=48130>

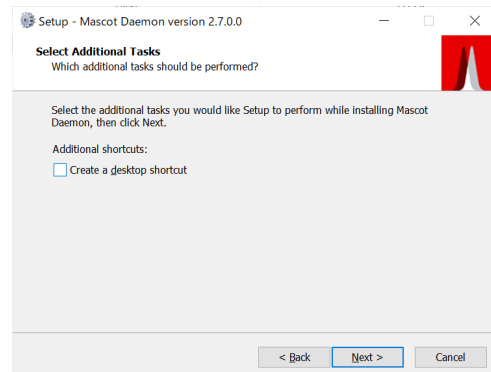


- (5) 使用許諾契約書をお読みいただき、同意の上「I accept the agreement」にチェックを入れて「Next」に進んでください。

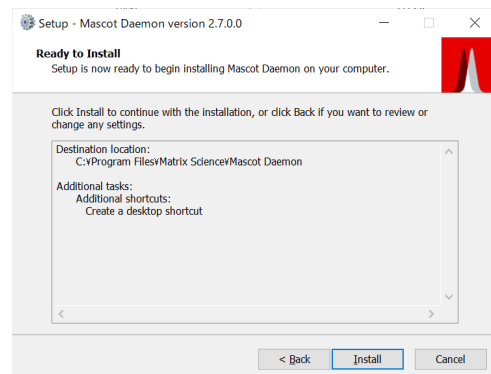
(6) Mascot Daemon をどのフォルダにインストールするか設定してください。



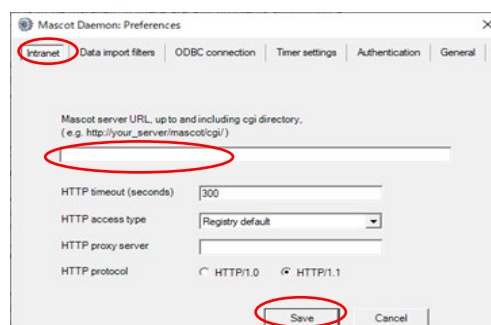
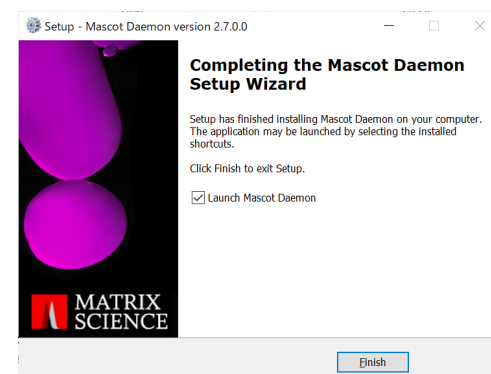
(7) デスクトップ上に Mascot Daemon のショートカットを設置するかどうか選択してください。



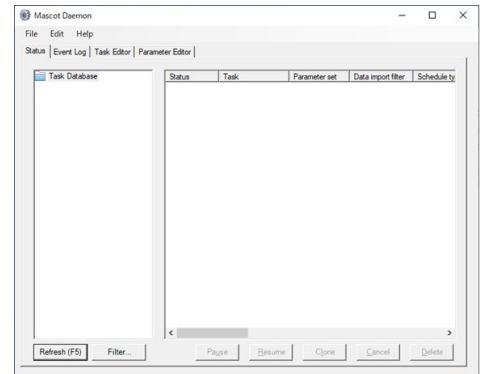
(8) インストール前に設定の確認が入ります。
問題なければ「Install」に進んでください。



(5) インストールが終了し、[Launch Mascot Daemon]にチェックが入った状態で[Finish]ボタンを押すと、Mascot Daemon は自動的に起動し、右図に示す[Preferences]ダイアログの[Intranet]タブが表示されます。自動的に起動しない場合は、[スタート]→ [Mascot Daemon]を選択し、Mascot Daemon を起動してください。[Mascot Server URL, up to and including cgi directory]入力欄に Mascot Server の URL (<http://ホスト名/mascot/cgi/>) を入力し、[Save]ボタンを押してください。Mascot Server との接続が確立されると Mascot Daemon の再起動を促されますので、Mascot Daemon を再起動してください。



- (6) Mascot Daemon を再起動すると、右図に示すウィンドウが表示されます。これで Mascot Daemon のインストール作業は終了です



2.3 バージョンアップ

Mascot Daemon と Mascot Server は対になって動作しますので、互いに同じバージョンであることが必要です。Mascot Server をアップグレードして正しく動作することを確認した後に、Mascot Daemon のアップグレード作業を行ってください。

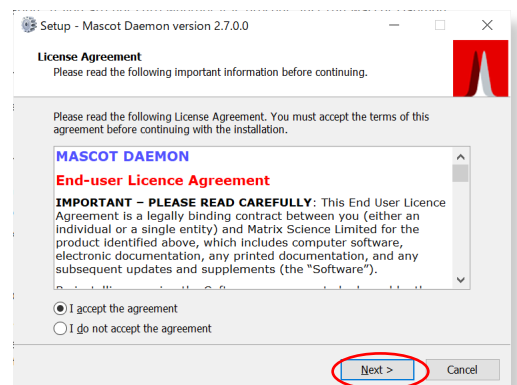
- (1) 既存の Mascot Daemon が格納されている「C:\Program Files\Matrix Science\Mascot Daemon」フォルダをバックアップしてください。
- (2) Windows の[スタート]→[コントロールパネル]→[プログラム]→[プログラムと機能]から既存の Mascot Daemon をアンインストールしてください。
- (3) Web ブラウザを起動し、Mascot Server の「Welcome」トップページ「<http://ホスト名/mascot/>」にアクセスし、ページの中程にある「Mascot Daemon」項の「Upgrade」リンクをクリックしてください。「Upgrading Mascot Daemon」ページが表示されます。

Mascot Daemon

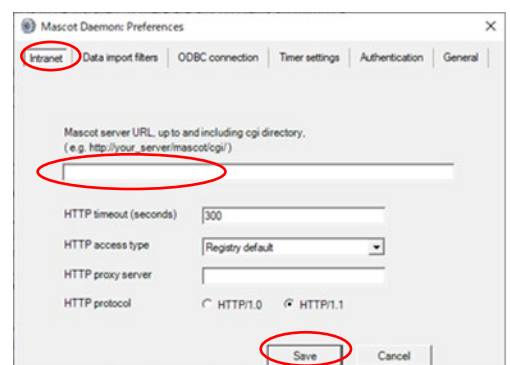
Mascot Daemon is a client application which automates the submission of data files to a Mascot server. It runs under Microsoft Windows 2000 and later.
[Install](#) | [Upgrade](#) | [troubleshoot](#)

- (4) 項目「2.」の [setup](#) リンクをクリックすると Mascot Daemon のインストーラである「daemon_setup.exe」が「C:\Users\ユーザー名\Downloads」フォルダにダウンロードされます。それを実行すると、Windows が 32bit か 64bit かを自動的認識し、右図のような「Setup Wizard」が起動しますので、表示されるダイアログの内容に従ってインストールを進めてください。なお、Microsoft .NET framework がインストールされていない場合はその旨のメッセージが表示されますので、次に示すどちらかのリンクからダウンロードしてインストールし、再度「daemon_setup.exe」を実行してください。

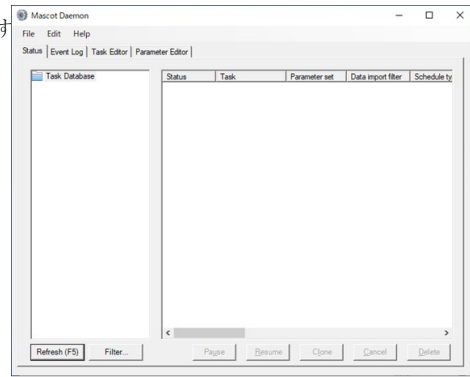
- ▶ Microsoft .NET framework 4.6 :
<https://www.microsoft.com/en-gb/download/details.aspx?id=48130>



- (5) インストールが終了して[Finish]ボタンを押すと、Mascot Daemon は自動的に起動し、右図に示す [Preferences] ダイアログの [Intranet] タブが表示されます。自動的に起動しない場合は、[スタート]→ [Mascot Daemon] を選択し、Mascot Daemon を起動してください。[Mascot Server URL, up to and including directory] 入力欄に Mascot Server の URL (<http://ホスト名/mascot/cgi/>) を入力し、[Save] ボタンを押してください。Mascot Server との接続が確立されると Mascot Daemon の再起動を促されますので、Mascot Daemon を再起動してください。



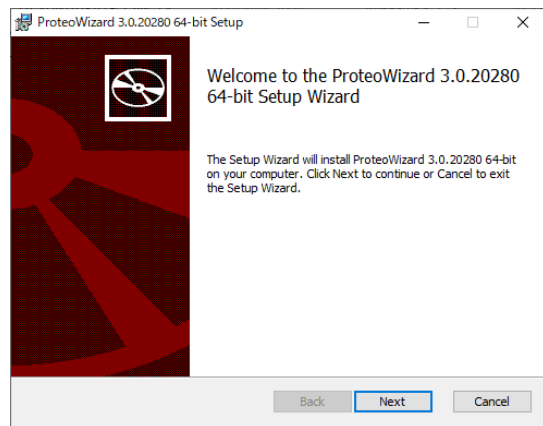
- (6) Mascot Daemon を再起動すると、右図に示すウインドウが表示されます。これで Mascot Daemon のインストール作業は終了です。



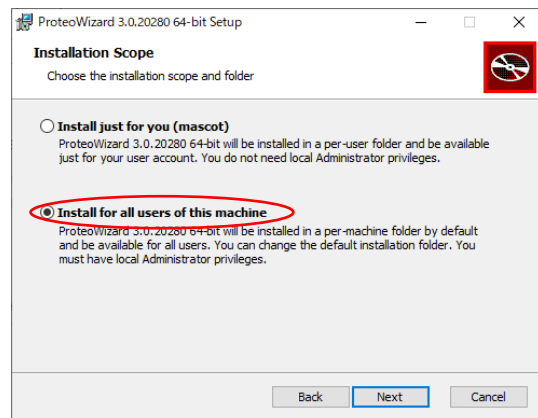
2.4 変換プログラム :ProteoWizard のインストール方法

Mascot Daemon がインストールされている PC に ProteoWizard msConvert がインストールされていると、様々なフォーマットの質量データファイルを処理することができます。

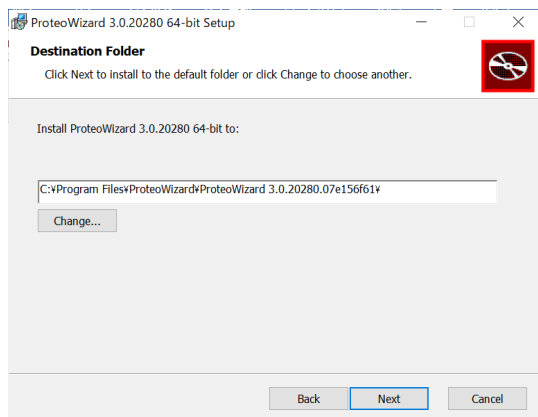
- (1) Web ブラウザを起動して、
「<http://proteowizard.sourceforge.net/download.html>」 に
アクセスし、お客さまの環境にあった Platform の ProteoWizard
をダウンロードし、実行してください。



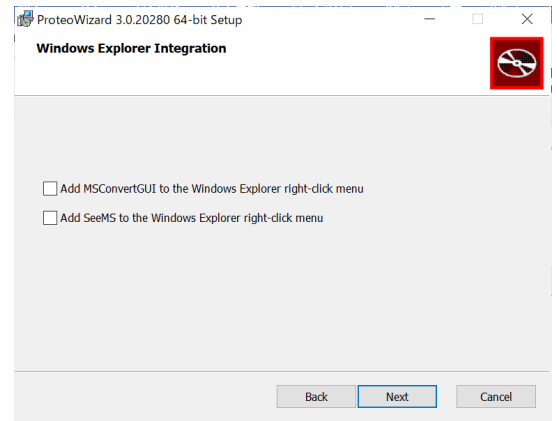
- (2) [Install for all users of this machine]を選び、[Next]を
押してください。



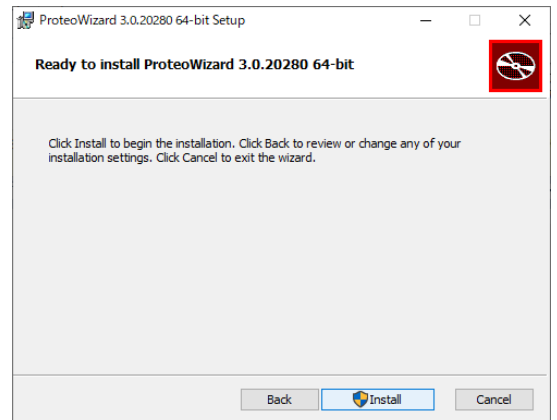
- (3) インストール先のフォルダを指定し、[Next]を押してくださ
い。



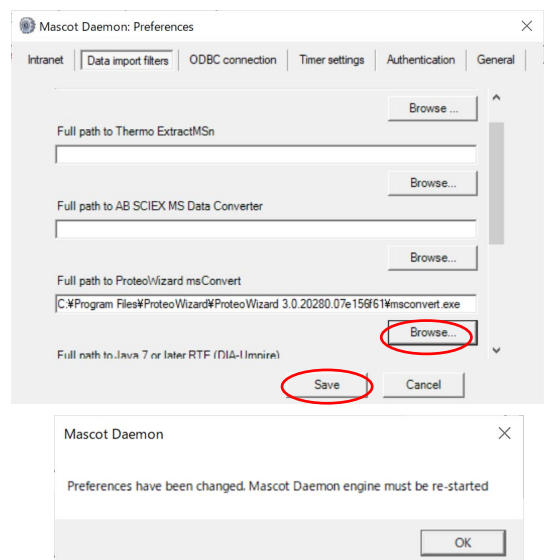
- (4) ファイルを右クリックしたときに ProteoWizard と関連付けるかの設定が出ます。必要に応じて選択し、[Next]を押してください。



- (5) [Install]を押してインストールを実行してください。完了したら[Finish]を押してください。



- (6) Mascot Daemon のメニューバー[Edit]→[Preferences]から[Data import filters]を選択し、[Full path to ProteoWizard msConvert]の項目に、インストールした ProteoWizard の msConvert.exe のフォルダパスを入力してください。[Browse]で選択することもできます。入力したら[Save]ボタンを押してください。Mascot Daemon の再起動を促されますので、Mascot Daemon を再起動してください。



2.5 ライセンスの使用許諾

Mascot Daemon は Mascot Server にバンドルされたソフトウェアです。Mascot Server ライセンスをお持ちのお客様は、お客様が所有している任意の PC に Mascot Daemon をインストールすることができます。

2.6 アンインストール

- (1) [スタート]→[コントロールパネル]→[プログラム]→[プログラムと機能]を選択してください。現在インストールされているプログラムがリスト表示されます。
- (2) リストから[Mascot Daemon version 2.7.*]を選択して右クリックし、[アンインストール]を選択してください。

3 チュートリアル

Mascot Daemon を利用した Mascot 検索の流れは、Web ブラウザを利用した Mascot 検索の流れと基本的に同じです。すなわち、

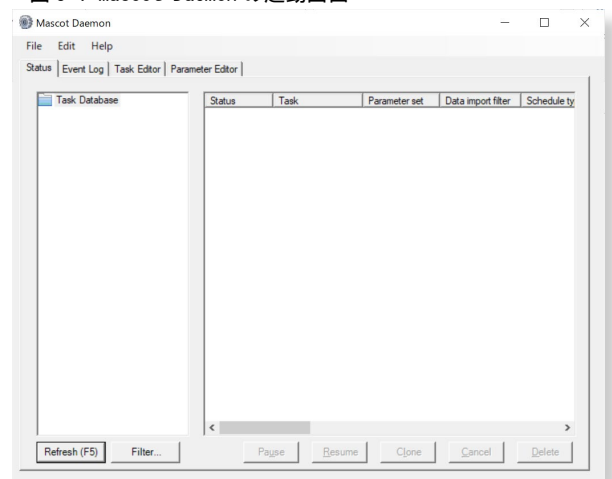
- (1) 検索条件を設定し、
- (2) 質量データファイルを指定して Mascot 検索を実行し、
- (3) 必要に応じて Mascot 検索の進捗状況を確認し、
- (4) 検索終了後に検索結果を閲覧する。

という流れになります。ここでは、「C:\ProgramData\Matrix Science\Mascot Daemon\data」フォルダにある MS/MS の質量データファイルを使って Mascot Daemon の使い方を説明していきます。

3.1 Mascot Daemon の起動

[スタート]→[Mascot Daemon]を選択してください。スタートアップ画面が表示された後に Mascot Daemon が起動し、図 3-1 に示すウィンドウが表示されます。Mascot Daemon のウィンドウは4つのタブ([Parameter Editor]、[Task Editor]、[Event Log]、[Status])と3つのメニュー([File]、[Edit]、[Help])から構成されています。

図 3-1 Mascot Daemon の起動画面



3.2 検索条件ファイルの作成

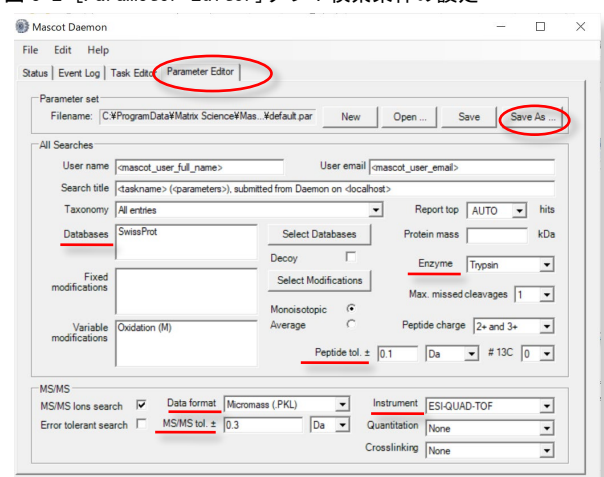
一番右にある [Parameter Editor] タブをクリックしてください。図 3-2 のように、Web ブラウザに表示される検索条件設定画面と同じような画面に切り替わります。ここで検索条件を設定し、検索条件ファイル(拡張子「.par」を持ったテキストファイル)として保存します。

図 3-2 を参照しながら検索条件として次の内容を設定し、[Save As ...] ボタンを使って、「tour1.par」というファイル名で保存してください。

- [Database] → 「SwissProt」を選択
- [Enzyme] → 「Trypsin」を選択
- [Peptide tol. ±] → 「0.1」を入力、「Da」を選択
- [Data format] → 「Micromass (.PKL)」を選択
- [MS/MS tol. ±] → 「0.3」を入力、「Da」を選択
- [Instrument] → 「ESI-QUAD-TOF」を選択

なお、Mascot Daemon を起動すると、デフォルトの検索条件として default.par ファイルが読み込まれると同時に、[Preferences] ダイアログの [Intranet] タブで指定された Mascot Server に接続します。

図 3-2 [Parameter Editor] タブ：検索条件の設定



3.3 タスクの作成と実行

Mascot Daemon では、検索の単位をタスクとして定義します。タスクは次の6つの項目で構成されています。(1)～(4)は必須設定項目、(5)および(6)はオプション設定項目です。

- (1) タスク名
- (2) 検索条件（「*.par」ファイルとして作成）
- (3) 質量データファイル（生の質量データファイルの場合はそれに対応するフィルタプログラム）
- (4) 検索の実行時期
- (5) 再検索条件（Follow-up の条件）
- (6) 外部プログラムの起動

ここでは、「3.2 検索条件ファイルの作成」で作成した検索条件ファイル「tour1.par」と、質量データファイル

「C:\ProgramData\Matrix Science\Mascot Daemon\data\01260005.pk1」を使って「Simple test search」タスクを作成し、実行します。右から2番目の[Task Editor]タブをクリックし、図3-3を参照しながら、次の内容を持つタスクを定義してください。

- ① [Task] → タスク名として「Simple test search」を入力
- ② [Parameter set] → [...]ボタンから「tour1.par」を読み込む
- ③ [Data file list] → [Add Files]ボタンから質量データファイル「01260005.pk1」を読み込む

[Run]ボタンを押してタスクを実行すると、図3-4に示す[Status]タブに切り替わります。実行されたタスクが新しいタスクとして認識されるまではタスク名の前に砂時計が表示されます。検索が開始されると時計マークが表示され、Status欄にはrunningが表示されます。

3.4 検索結果の表示

検索が終了すると、図3-4の[Status]タブの内容は図3-5のようになります。タスク名の前には検索が終了したことを示す緑のチェックマーク(✓)が表示されます。チェックマーク左の+マーク（タスクノードと呼びます）をクリックすると、フォルダアイコンとデータファイル名[01260005.pk1]が表示されます。[01260005.pk1]をクリックすると、右側ウインドウに検索結果の概要が表示されます。閾値スコアよりも大きなスコアを持つ複数のタンパク質がヒットした場合は、最もスコアが高いタンパク質の情報とプロテインスコアが表示されます。閾値を超えるタンパク質がヒットしなかった場合は[Accession]欄に<no result>と表示されます。

[Result file URL]欄に表示されているURLはMascot Server上に保存された検索結果ファイルが指定されており、そこをクリッ

図3-3 タスクの作成と実行

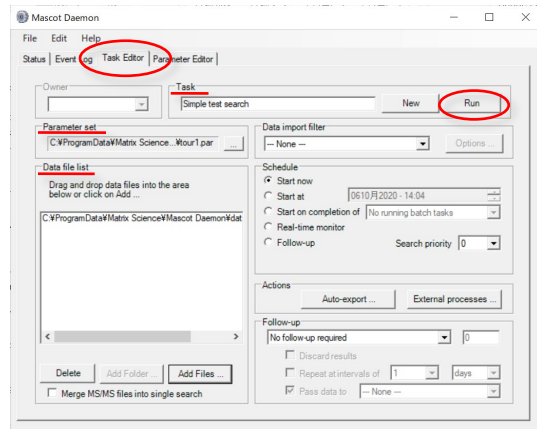


図3-4 [Status]タブと検索中を示す時計マークのタスク

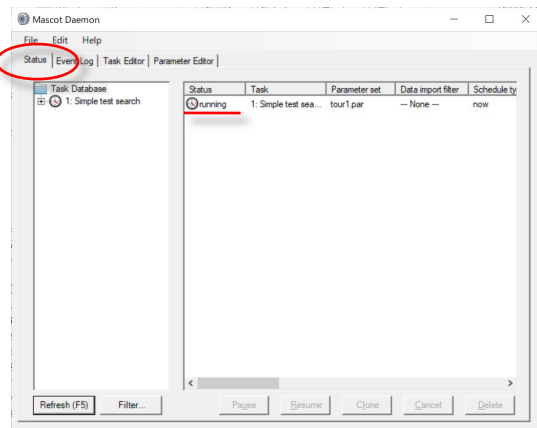
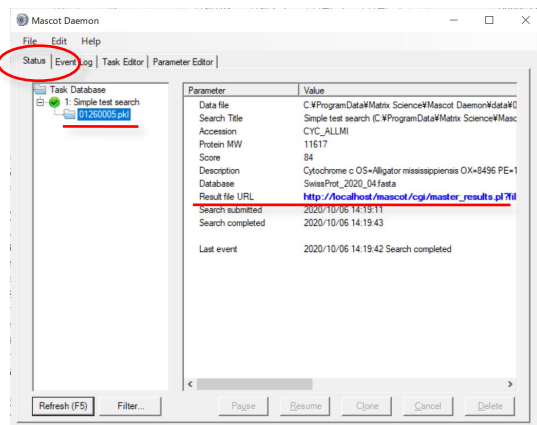


図3-5 [Status]タブと検索結果の概要表示



くすると Web ブラウザが起動し、対応する検索結果ページが表示されます。なお、[Data import filter]として Mascot Distiller を利用した場合は、[Result file URL]欄の下に [Mascot Distiller]欄が追加され、Mascot Distiller のプロジェクトファイル名が表示されます。そこをクリックすると Mascot Distiller が起動し、ピーク抽出処理等の処理結果が表示されます。

[Status]タブの中では、タスクの状態を示すために、図 3-6 に示すアイコンが使われます。

リアルタイムモニター・モードでは、常に新しい質量データ

ファイルを待ち受ける (アイドルング) 状態にありますので、タスクは完結せず、常に砂時計アイコンが表示されます。

動作中のタスクは中断させることができます。また、完結したタスクと中断したタスクは削除することができます。タスク名をクリックして選択すると [Status] タブ下方にあるボタンがアクティブになりますので、処理したい内容に対応するボタン ([Pause]、[Resume]、[Clone]、[Cancel]、[Delete]) を押してください。[Clone] ボタンを押すと、そのタスクが「Copy of タスク名」として複製され、[Task Editor] タブに表示されます。[Status] タブの [Delete] ボタンを使ってタスクを削除しても、それに対応する Mascot Server 上の検索結果ファイル (C:\inetpub\mascot\data\yyyyymmdd\Fxxxxx.dat) は削除されません。Mascot Daemon の Task database ファイル (C:\ProgramData\Matrix Science\Mascot Daemon\taskdb.vdb5) からそのタスクと関連情報エントリが削除されるだけです。検索結果は Mascot Server 上に残り、Mascot search log ページからいつでも参照することができます。なお、タスク名を右クリックしても上記と同じ内容の操作を行うことができます。

[Event Log] タブには、タスクの進捗状況やエラーメッセージなどが表示されます。このログは「C:\ProgramData\Matrix Science\Mascot Daemon\Mascot_Daemon_Event_Log.csv」ファイルに記録されています。

3.5 フォローアップ・モード

例えば、

「トリプシンで消化した試料から得られた MS/MS の質量データを Human 由来のタンパク質に対して検索を行い、有意なヒットが得られなかった (スコアが閾値よりも小さいあるいは期待値が 0.05 よりも大きい) 時は、すべての切断特性をもった消化酵素である [None] を使って再検索を実行する」

というような、再検索を伴う条件付き検索を行いたい場合は、フォローアップ・モードが有効です。

最初に 2 つの検索条件を定義します。ひとつは通常のタスク用、もうひとつはフォローアップ・タスク用です。[Parameter Editor] タブを開き、通常のタスク用として、図 3-7 に示すような検索条件 ([Enzyme] は「Trypsin」、[Data format] は「Sequest(.DTA)」など) を設定し、[Save As] ボタンで「tour2.par」として保存してください。同様に、フォローアップ・タスク用として、図 3-7 の [Enzyme] を (「Trypsin」から) 「None」にして、[Save As] ボタンで「tour3.par」として保存してください。

次に、フォローアップ・タスクを定義・実行した後、通常のタスクを定義・実行します。[Task Editor] タブを開き、まず最初に、図 3-8 のようにフォローアップ・タスクを定義します。[Task] で「No enzyme follower」を入力し、[Parameter set] の [...] ボタンから「tour3.par」ファイルを読み込み、[Schedule] フレームの [Follow-up] を選択した後、[Run] ボタンを押して「No enzyme

図 3-6 タスクの状態を示すアイコンの意味







-  時計アイコン：動作中(検索中)のタスク
-  鎖アイコン：Follow-up タスク
-  砂時計アイコン：タスクの中断処理中
-  チェックアイコン：完結したタスク
-  バツンアイコン：キャンセルされたタスク
-  中断アイコン：中断したタスク

図 3-7 tour2.par の検索条件

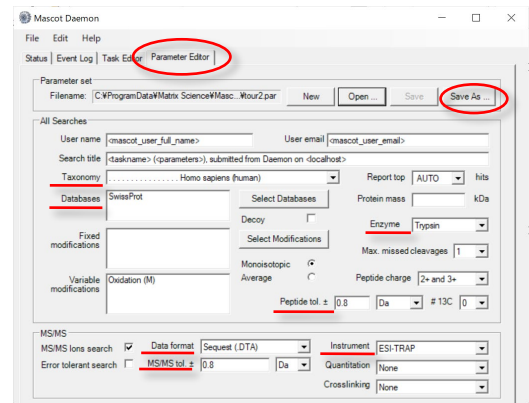
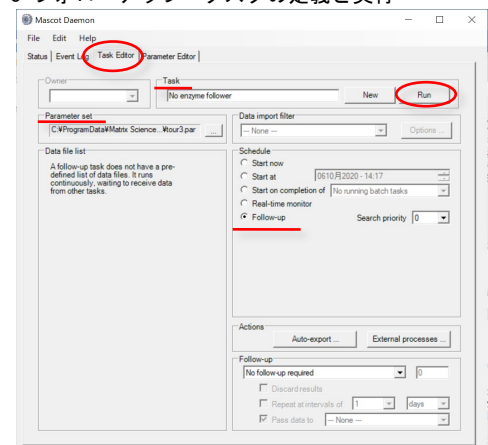


図 3-8 フォローアップ・タスクの定義と実行



follower」タスクを実行してください。自動的に[Status]タブに切り替わりますので、左側ウィンドウのツリーに「No enzyme follower」のフォローアップ・タスクが追加されていることを確認してください。タスク名の左側にはこのタスクがフォローアップ・タスクであることを示す鎖アイコンが表示されます。

[Task Editor]タブに戻り、図 3-9 のように「Trypsin first pass search」タスクを定義してください。検索条件ファイルとして「tour2.par」を、質量データファイルとして「C:\Program Files\Matrix Science\Mascot Daemon\data」フォルダにある 2 つの DTA ファイルを読み込んでください。

LCQ_Digest03.0486.0492.2.dta
LCQ_Digest03.0921.0924.2.dta

フォローアップの条件は、「If probability that match is random > 1 in」を選択し、期待値が 0.05 (1/20) になるように「20」を入力してください。[Pass data to]はすでに実行して待機状態になっている「No enzyme follower」タスクを選択してください。

[Run]ボタンを押して「Trypsin first pass search」タスクを実行すると、まず「tour2.par」の検索条件で検索が実行され、期待値が 0.05 よりも大きい(スコアが閾値よりも小さい)、有意ではない検索結果が得られた場合は、その質量データファイルはアイドルリング状態で待機している「No enzyme follower」タスクに渡され、「tour3.par」の検索条件で再検索されます。検索が終了すると、[Status]タブにはこれらの検索結果が図 3-10 のようなツリー構造で表示されます(タスク番号が 2 と 3)。

「LCQ_Digest03.0486.0492.2.dta」に対する検索に関しては期待値が 0.05 よりも小さい有意なタンパク質がヒットしているため、「No enzyme follower」タスクを利用した再検索は実行されなかったのに対し、「LCQ_Digest03.0921.0924.2.dta」に対する検索に関しては 0.05 よりも大きな値が得られたため、「No enzyme follower」タスクを使用して再検索が実行されています。この検索結果から、「LCQ_Digest03.0921.0924.2.dta」データファイルに対応するペプチドはトリプシン消化によって得られたペプチド (Tryptic peptide) ではなかったことがわかります(検索結果は図 3-11 のようになります)。

このように、フォローアップ・モードは、同じ質量データファイルに対して異なる検索条件で再検索したい場合に威力を発揮します。なお、[Status]タブの「LCQ_Digest03.0921.0924.2.dta」アイコンを「No Enzyme follower」タスクのアイコンにドラッグ & ドロップすることにより、「No Enzyme follower」タスクを実行することもできます。

Mascot Daemon では様々なタイプのフォローアップ・タスクを定義することができます。たとえば、UniProt 配列データベースに対して検索を実行して有意にヒットしなかった質量データファイルについて、後日更新された UniProt 配列データベースに対して、指定した時間間隔(分、時、日、週、月)で再検索するためのフォローアップ・タスクを定義することもできます。

図 3-9 通常のタスクの定義と実行

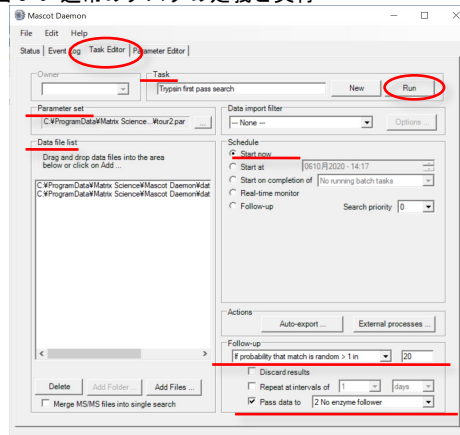


図 3-10 フォローアップ・タスクの実行結果

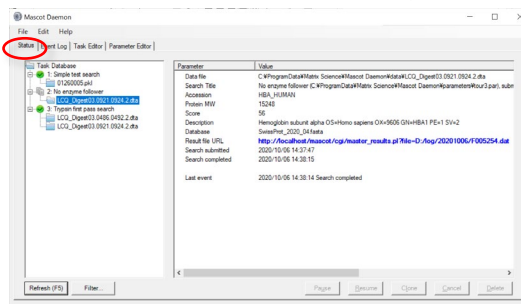


図 3-11 フォローアップ・タスクの検索結果ページ



4 リファレンス

4.1 メニュー

(1) [File]メニュー

次の[Exit]以外のコマンドは[Parameter Editor]タブを開いているときに有効です。また、[Parameter Editor]タブにも同じ機能のボタンが配置されています。

[New ...]

検索条件の設定をデフォルトに戻します。

[Open ...]

検索条件ファイルの読み込みダイアログを表示します。

[Save]

読み込まれている検索条件ファイルに現在の検索条件を上書き保存します。

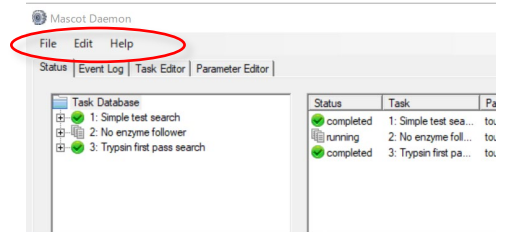
[Save As ...]

検索条件ファイル名を指定して現在の検索条件を保存します。

[Exit]

Mascot Daemon GUI を終了します。この操作では Mascot Daemon Engine プログラムは停止しません。Mascot Daemon Engine プログラムを終了したい場合は、Windows のタスクトレイにある歯車アイコンを右クリックして[Exit]を選択してください。

図 4-1 メニュー



(2) [Edit]メニュー

[Cut]から[Clear]までのコマンドは[Parameter Editor]タブあるいは[Task Editor]タブを開いているときに有効です。

[Cut]

選択したテキストをクリップボードにコピーした後に削除します。

[Copy]

選択したテキストをクリップボードにコピーします。

[Paste]

クリップボードのテキストをカーソル位置に挿入します。または選択したテキストを置き換えます。

[Clear]

選択したテキストを削除します。

[Preferences]

[Preferences]ダイアログを表示します。

[ODBC Information ...]

現在使用しているタスク・データベース ODBC connection の詳細を示すダイアログを表示します。

[Refresh]

[Status]タブの表示内容を更新します。

(3) [Help]メニュー

[Mascot Daemon Help ...]

オンラインヘルプを表示します。

[Register Mascot Distiller]

Mascot Distiller の Mascot Daemon 接続モジュール・ライセンスを登録する際に使用します。登録には弊社が発行したシ

リアル番号が必要になります。

[About ...]

Mascot Daemon のバージョンをチェックすることができます。

4.2 [Preferences] ダイアログ

[Preferences] ダイアログの中で使われる値はグローバルな設定値として Windows OS のレジストリに保存されるため、値を変更した場合は Mascot Daemon (GUI および Engine) を再起動する必要があります。

(1) [Intranet] タブ

Mascot Daemon と接続する Mascot Server の URL を入力してください。指定した Mascot Server に接続できない場合は warning メッセージが表示されます。なお、弊社がインターネット上で公開している Mascot Server の URL は使えません。

Web サーバがユーザ名とパスワードを要求する設定になっている場合は、これらの情報を [Authentication] タブの [Web Server Authentication] 欄に入力してください。

Mascot Daemon と Mascot Server を接続するための 4 つの HTTP 関連の設定値は、通常デフォルト値で問題ありません。[HTTP access type] として [Proxy server] を選択した場合は [HTTP proxy server] 欄に HTTP プロキシサーバの URL を入力してください。

[HTTP timeout (seconds)] の値は、設定ファイルなどの小さなファイルを転送する際に使われます。大きなサイズの質量データファイルのアップロードや検索結果レポートのダウンロードに対する timeout 設定は Mascot Daemon のプログラム内に書き込まれています。

Mascot Daemon と Mascot Server 間に認証が必要な Proxy server が存在する場合は「HTTP/1.0」を選択してください。

(2) [Data import filters] タブ

[Root folder for files cached by data import filters] 入力欄にはタスクに関係するファイル (ピークリストファイル、Mascot Distiller のプロジェクトファイル、検索結果の CSV 出力ファイルなど) を格納するフォルダパスを指定してください。

「Thermo ExtractMSn」、「AB SCIEX MS Data Converter」、「ProteoWizard msConvert」の 3 つのフィルタプログラムを標準でサポートしていますので、これらのフィルタプログラムをインストールした後に、それぞれの入力欄に実行プログラムのファイルパスを指定してください。[Task Editor] の [Data import filter] ドロップダウンメニューにそれらが表示され、選択することができるようになります。

DIA-Umpire、RawConverter (Scripps)、pXtract は、raw データを通常の変換とは異なる特殊な前処理 (DIA→DDA 変換など) を行うプログラムです。他の通常の変換プログラム同様、必要に応じてプログラムのファイルパスを指定してください。

Windows のコマンドライン実行形式プログラムであれば、フィルタプログラムとして [Data import filter] タブに追加する事ができます。詳しくは Mascot Daemon のメニューバー [Help]→[In Depth]→[Data Import Filter]→[Add a new filter] をご覧ください。

図 4-2 [Intranet] タブ

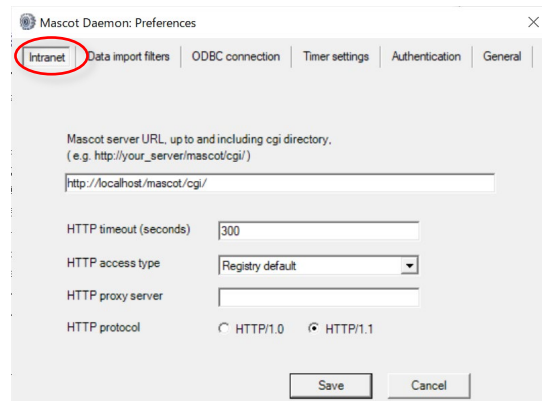
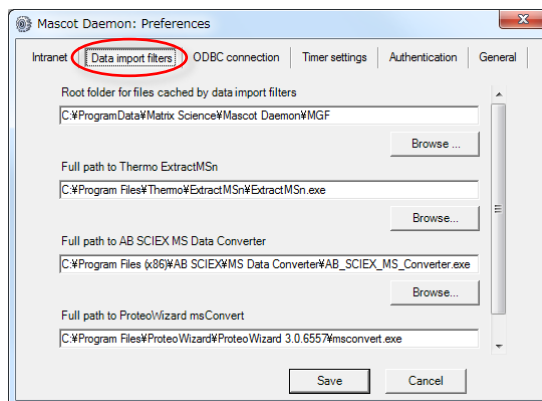


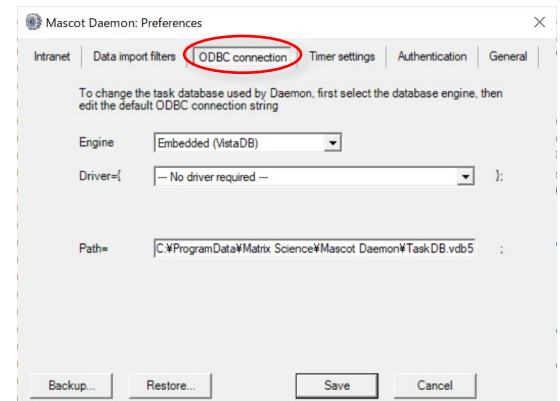
図 4-3 [Data import filters] タブ



(3) [ODBC connection]タブ

Mascot Daemon と Task database ファイルをどのように接続するかを定義します。Database engine、ODBC ドライバー、Task database ファイルパスの組み合わせになりますが、詳しい構成方法に関しては Mascot Daemon のメニューバー [Help] → [Getting Started] → [Database Engines] をご覧ください。

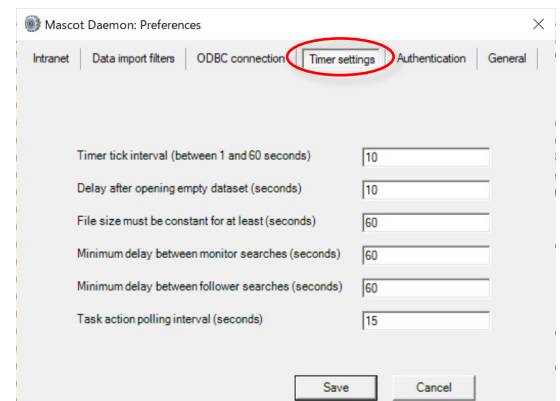
図 4-4 [ODBC connection]タブ



(4) [Timer settings]タブ

Mascot Daemon の応答時間を変更することができますが、設定値によっては Mascot Daemon によって PC のリソースが消費され、PC の操作性が低下することがありますので注意してください。

図 4-5 [Timer settings]タブ



[Timer tick interval]

タスクは独自のタイマーを持っており、ここで設定した時間間隔毎にタスクの進捗状況をチェックします。この動作は PC のリソースを消費するため、短い時間は設定しないでください。設定範囲は 1~60、推奨値は 10 です。

[Delay after opening empty dataset]

フィルタプログラムからの出力が無くなってからの時間を指定します。動作に問題がなければ 0 を指定することもできます。設定範囲は 0~3600、推奨値は 10 です。

[File size must be constant for at least]

リアルタイムモニター・モードにおいて、質量データファイルの作成プロセスが完了したかどうかのチェック間隔時間を指定します。推奨値は 60 です(10 以下の値は設定しないでください。逆に、60 でエラーが発生する場合はこの値を大きくしてください)。

[Minimum delay between monitor searches]

リアルタイムモニター・モードにおいて、指定した質量データファイルの存在チェック間隔時間を指定します。推奨値は 60 ですが、ファイル群の存在場所(ローカルディスクあるいはネットワーク上のディスク)やワイルドカードにマッチするファイル数によって最適値は異なります。ローカルディスク上に存在する少数のファイルに対しては 10 程度の値で問題ありません。

[Minimum delay between follower searches]

フォローアップ・モードにおいて、質量データファイルの存在チェック間隔時間を指定します。推奨値は 60 です(動作に問題がなければ 60 未満の値を設定することができます)。

[Take action polling interval]

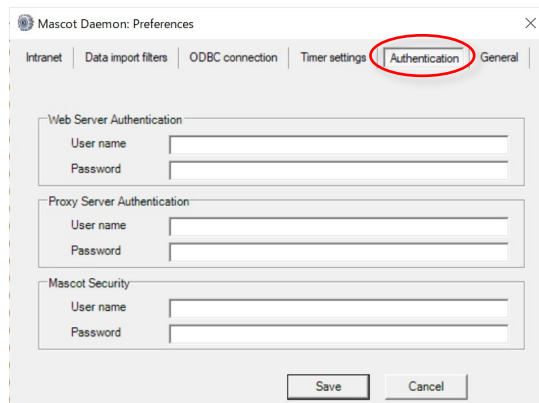
Mascot Daemon Service プログラムがタスク・データベース(TaskDB.mdb)をチェックする時間間隔です。推奨時間は 15 秒です(10 以下には設定しないでください)。

(5) [Authentication] タブ

Mascot Server のセキュリティ設定が有効になっており、ユーザ名とパスワードでログインする必要がある場合は [Mascot Security] フレームにその内容を入力してください。他のユーザ名でも検索することができるユーザ権限を設定している場合は、[Task Editor] タブの [Owner] フレームがアクティブになり、ドロップダウンリストから許可されたユーザ名を選択することができます。

Web サーバがユーザ名とパスワードを要求するように設定されている場合は [Web Server Authentication] フレームにその内容を入力してください。同様に、プロキシサーバがユーザ名とパスワードを要求するように設定されている場合は [Proxy Server Authentication] フレームにその内容を入力してください。

図 4-6 [Authentication] タブ

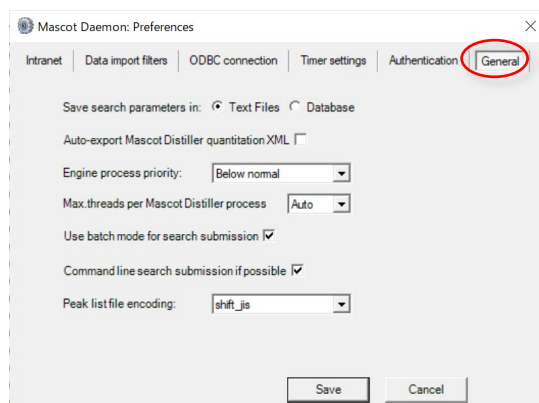


(6) [General] タブ

検索パラメータをテキストファイルとして保存するか、Task database に格納するかを選択することができます。

Mascot Distiller は CPU リソースのすべてを使ってピーク抽出処理や定量計算を実行するため、Mascot Daemon の反応が鈍くなりますので、「Below normal」または「Low」を選択して Mascot Distiller の CPU リソース使用優先度合いを下げるすることができます。

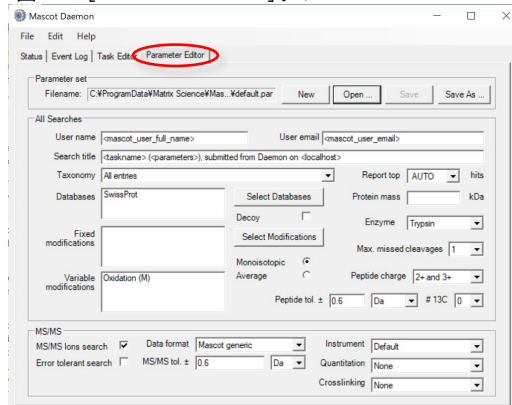
図 4-7 [General] タブ



4.3 [Parameter Editor] タブ

検索条件を設定し、設定した内容を検索条件ファイル (*.par) として保存します。作成した検索条件ファイルは [Task Editor] タブの [Parameter set] フレームで使用します。Mascot Daemon を起動すると自動的に default.par ファイルが読み込まれ、その内容が検索条件として反映されます。

図 4-8 [Parameter Editor] タブ



(1) [Parameter set] フレーム

[Filename]

現在読み込まれている検索条件ファイル名が表示されます。

[New] ボタン

表示されている検索条件を破棄し、新たに検索条件を設定したい場合に押してください。

[Open ...] ボタン

すでに保存してある検索条件ファイルを読み出したい場合に押してください。

[Save] ボタン

表示されている検索条件を default.par ファイルとして保存したい場合に押してください。

[Save As ...] ボタン

表示されている検索条件を新しいファイル名で保存したい場合に押ししてください。

(2) [All Searches] フレーム

PMF 検索および MIS 検索に共通する検索条件を指定します。

[User name]、[User email]

ユーザ名、電子メールアドレスを入力してください。Mascot セキュリティーが有効になっている場合は次のタグを使用することができます。なお、タグを構成する文字は大文字小文字を区別します。

< mascot_user_name > : ユーザ名に置き換えます。

< mascot_user_full_name > : ユーザのフルネームに置き換えます。

< mascot_user_email > : ユーザの電子メールアドレスに置き換えます。

[Search title]

ここで入力した内容は検索結果ページの [Search title] 行に表示されます。また、次のタグを使用することができます。< mascot_user_* > (*=id, name, full_name, email) は Mascot セキュリティーが有効になっている場合に機能します (Mascot セキュリティーが無効の場合は、検索結果ページの対応する行はブランクになります)。なお、タグを構成する文字は大文字小文字を区別します。

- ① < taskname > : タスク名に置き換えます。
- ② < parameters > : 検索条件ファイル名に置き換えます。
- ③ < localhost > : PC のホスト名に置き換えます。
- ④ < localuser > : Windows ログインユーザ名に置き換えます。
- ⑤ < datafilename > : 質量データファイル名に置き換えます。
- ⑥ < datafilepath > : 質量データファイルパス名に置き換えます。
- ⑦ < cachedpeaklist > : フィルタプログラムが作成するピークリストファイルパス名に置き換えます (存在する場合)。
- ⑧ < samplenumber > : サンプル番号に置き換えます (存在する場合)。
- ⑨ < mascot_user_id > : ユーザ ID に置き換えます。
- ⑩ < mascot_user_name > : ユーザ名に置き換えます。
- ⑪ < mascot_user_full_name > : ユーザのフルネームに置き換えます。
- ⑫ < mascot_user_email > : ユーザの電子メールアドレスに置き換えます。

[Taxonomy]

検索対象としたい生物種を選択してください。

[Report Top]

検索結果ページに表示させたいヒットしたタンパク質数を選択してください。

AUTO を選択した場合は、有意なスコアを持つタンパク質が表示されます (「Protein Summary Report」の表示モードでは、有意なスコアを持つタンパク質と、閾値スコアを超えない閾値スコアに最も近いタンパク質を表示しますので、有意なスコアを持つタンパク質が得られない検索結果においては、最も高いスコアを持つタンパク質を表示します)。

[Database]

検索対象としたい配列データベースを選択してください。[Ctl] キーを押しながら複数の配列データベースを選択することができます。

[Enzyme]

タンパク質を消化するために使用した消化酵素を指定してください。

「None」を選択した場合は、全ての「部分アミノ酸配列 (sub-sequence)」に対して (すなわち、全ての切断特性を考慮して) 検索を実行しますので、検索対象となるペプチドの数は「Trypsin」の場合と比較して数桁多くなるため、検索時間は増加し、閾値スコアは相対的に高くなります。HMC ペプチドのような、消化酵素由来ではない生体内ペプチドに対して検索したい場合は「None」を選択してください。

「Trypsin」などの消化酵素を指定した検索で有意なタンパク質がヒットしないときは、「None」を選択する前に「semiTrypsin」を選択して再検索するほうが効率的です。「semiTrypsin」は「Trypsin」と「None」の中間的な切断特性

を持っており、KおよびRのC末端で切断し(KおよびRの次にPが存在する場合は切断しません)、N末端側は任意に切断します。C末端、N末端で任意に切断されていると考えられる場合は「None」を選択してください。

注意: CNBrを選択した場合は、Variable modifications リストから「Met->Hsl(Homoserine lactone)」あるいは「Met->Hse(Homoserin)」を選択してください。

[Max. Missed Cleavages]

ペプチドの未切断サイト数を選択してください。

酵素消化によって得られたペプチド混合物の中に未消化サイトを持つペプチドが存在する場合は、そのサイト数(実験条件にもよりますが、通常は「1」あるいは「2」程度)を選択してください。タンパク質が完全に酵素消化され、試料中に不完全に消化されたペプチド断片は存在しないと断言できる場合は「0」を選択してください。検索対象となるペプチド数がより少なくなるため、閾値スコアは相対的に小さくなります。明確な理由なしに大きな値を選択するのは避けてください。値が大きくなるほど検索対象となるペプチド数は増加し(したがって検索時間も増加し)、閾値スコアは相対的に高くなります。

[Select Modifications]

[Select Modifications]ボタンを押すと図4-9に示すダイアログが表示されます。左側の修飾リストから目的の修飾を選択し、[Fix Modifications]欄あるいは[Variable Modifications]欄の左横にある[>]ボタンを使って移動してください。[<]ボタンで元に戻すことができます。

Mascot Server は、化学修飾に対応する「Fixed modifications」と翻訳後修飾あるいは偶発的な修飾に対応する「Variable modifications」とを区別しています。

[Fixed modifications]として指定されたアミノ酸残基またはアミノ酸末端は、すべてその修飾を受けたものとして検索が実行されます。たとえば、「Carboxymethyl (C)」を選択した場合は、システインの質量(103 Da)は修飾を受けた質量である161 Da(103+1+59)として検索が実行されます。アミノ酸残基またはアミノ酸末端は、その修飾を受けた時の質量で固定されますので、検索時間の増加はありません。

一方、[Variable modifications]として指定されたアミノ酸残基またはアミノ酸末端は、その修飾を受ける場合と受けない場合の2通りを考慮した検索が実行されます。たとえば、「Oxidation (M)」を選択した場合、もしペプチドの中に3つのメチオニンが存在するときは、0、1、2、3個の酸化メチオニン残基の存在を考慮し、質量データに最もよく一致する検索結果を表示します。[Variable modifications]を加味した検索はタンパク質同定においては非常に強力な手法ですが、選択する修飾の数に比例して検索対象となるペプチドの数が幾何級数的に増加し(検索時間も級数的に増大し)、閾値スコアは相対的に高くなるため、有意な同定結果が得にくくなります。一般的に、試料に含まれるペプチドのうち一部のペプチドが翻訳後修飾を受けていると考えられますので、第1段階の検索では、[Variable modifications]の選択数をゼロまたは最小限にとどめて、まず試料に含まれると思われる有意なタンパク質を同定し、第2段階の検索で、同定したタンパク質に対して構造解析を行うという検索プロセスがより効率的です。

なお、デフォルトの状態では代表的な修飾がリストに表示されています。Mascot Server に設定されている全ての修飾を表示させたい場合は[Show all modifications]をチェックしてください。

[Decoy database]

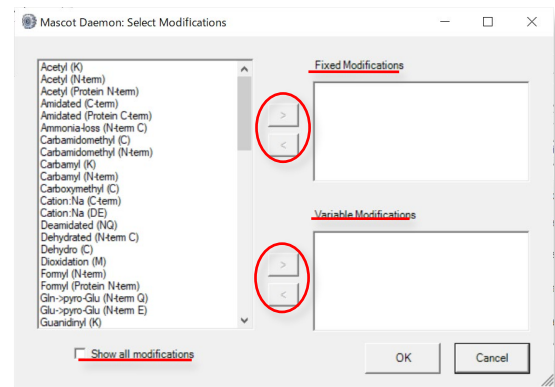
Decoy データベースに対する検索を自動実行させたい場合はチェックしてください。主にFDR(False Discovery Rate)を確認したいときに使用します。詳しくは次のページをご覧ください。

http://www.matrixscience.com/help/decoy_help.html

[Protein Mass]

指定した質量以下の連続したアミノ酸配列に対して検索を実行します。入力欄が空欄の場合はこの機能は無効です。たとえば、10,000 Daを指定した場合は、10,000 Daの「長さ」を持つウィンドウが配列データベース上を移動するイメージになります。従いまして、検索対象は、分子量1万以下のタンパク質エントリと、分子量が1万以上のタンパク質エントリ

図 4-9 [Select Modifications] ダイアログ



リに対しては質量値が1万以下の連続した部分アミノ酸配列となります。

[Peptide Charge]

通常は使用しません。質量データにプリカーサイオンの電荷情報が含まれない場合は対応する電荷を選択してください。

[Monoisotopic / Average]

質量データがモノアイソトピック (^{12}C) の場合は[Monoisotopic]を、平均値の場合は[Average]を選択してください。

[Peptide tol. ±]

ペプチド分子またはイオンの質量誤差を指定してください。次の単位をサポートしています。

- ① %
- ② mmu (milli-mass units, 0.001Da)
- ③ ppm
- ④ Da

[#13C]

抽出されたピークがモノアイソトピック (^{12}C) ではなく「 ^{13}C 」あるいは「 $^{13}\text{C}_2$ 」が含まれる場合にはリストから1または2を選択してください。質量誤差は、

$$\text{質量誤差} > | \text{実験値} - \text{理論値} - 1 \text{ または } 2 |$$

で計算されます。

(3) [MS/MS] フレーム

MIS 検索の検索条件を指定します。

[MS/MS Ions Search]

チェックすると MIS 検索が有効になります。

[Data format]

質量データファイルのファイルフォーマットを指定してください。次のファイルフォーマットをサポートしています。

- ① Mascot generic (.MGF)
- ② Finnigan (.ASC)
- ③ Micromass (.PKL)
- ④ Sequest (.DTA)
- ⑤ mzData (.XML)
- ⑥ mzML (.mzML)

[Quantitation]

定量解析手法を選択してください。

[Error tolerant search]

Error Tolerant 検索を自動実行させたい場合はチェックしてください。なお、次の制限がありますので注意してください。

- ① 消化酵素を指定しなければいけない。
- ② 「Variable modification」の指定数は2個まで(設定ファイル「mascot.dat」中で変更することができます)。
- ③ Decoy 検索との併用はできない。
- ④ Quantitation 検索との併用はできない。

[MS/MS tol. ±]

プロダクトイオンの質量誤差を指定してください。次の単位をサポートしています。

- ① mmu (milli-mass units, 0.001Da)
- ② Da

[Instrument]

質量分析計のタイプを選択してください。質量分析計のタイプに対応するプロダクトイオンの種類(イオンシリーズ)に

については次のページをご覧ください。

http://www.matrixscience.com/help/search_field_help.html#INSTRUMENT

[Crosslinking]

クロスリンクの解析手法を選択してください。定量解析手法同様、使用時には予め Mascot Server 上で設定を作成してパッケージ化しておく必要があります。

4.4 [Task Editor] タブ

タスクを作成し、Mascot 検索を実行します。[Task] フレームの入力欄(デフォルトは「Untitled」)に文字列を入力してタスク名を設定してください。それぞれのタスクにはタスク ID (通し番号) が付けられます。タスク名は[Status]タブおよび[Event Log]タブ内でタスク ID とともに表示されます。タスクには次の3種類の動作モードがあり、それぞれ[Data file list]フレームのレイアウトが異なります(図 4-10 はバッチ・モードのフレームレイアウトです)。

バッチ・モード (batch)

指定した(1つまたは複数の)質量データファイルをひとつずつ、順番に Mascot 検索を実行します。Mascot 検索開始日時を指定することもできます。

リアルタイムモニター・モード (Real-time monitor)

指定したフォルダ(ローカルあるいはネットワーク上)を監視し、そのフォルダに新たに作成された質量データファイルを取得し、Mascot 検索を実行します。すなわち、質量分析計のデータ処理ソフトウェアが作成した質量データは、Mascot Daemon を介して自動的に Mascot Server に投入されますので、タンパク質同定にかかわる質量データ処理プロセスを自動化することができます。

フォローアップ・モード (Follow-up)

検索結果のスコアあるいは期待値が、あらかじめ指定した条件に達しなかった場合、別の検索条件で再検索を実行します。

(1) [Owner] フレーム

Mascot セキュリティーが有効になっており、他のユーザ名でも検索することができるユーザ権限を設定している場合にアクティブになります。ドロップダウンリストからユーザ名を選択してください。

(2) [Task] フレーム

入力欄(デフォルト値は「Untitled」)にタスク名を入力してください。ここで入力したタスク名は[Status]タブ、[Event Log]タブ、検索結果ページの[Search title]行に表示されます。[Status]タブ内に表示されているタスクの「Clone」を作成した場合は、タスク名の前に「Copy of」が加えられます。[New]ボタンは設定内容をデフォルトに戻します。[Run]ボタンを押すとタスクが実行されます。

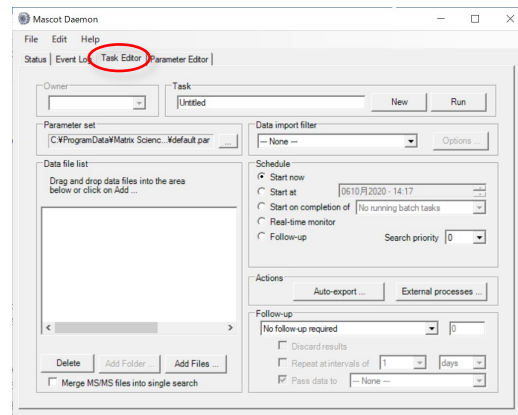
(3) [Parameter set] フレーム

[...]ボタンを押して、[Parameter Editor]タブで作成・保存された検索条件ファイル(*.par)を読み込んでください。検索条件ファイルが保存されるデフォルトのフォルダは「C:\ProgramData\Matrix Science\Mascot Daemon\parameters」です。

(4) [Data import filter] フレーム

質量データファイルが質量分析計ベンダー独自のバイナリ形式(拡張子が .raw や .wiff など)の場合は、対応するフィルタプログラムを使って質量ピーク抽出処理を行った後に Mascot 検索を実行する必要があります。ドロップダウンリストから質量データファイルに対応するフィルタプログラムを選択し、その右にある[Options ...]ボタンを押してください。ピーク抽出などの処理条件を設定するためのダイアログが表示されますので、処理条件を設定した後、[OK]ボタンを押してください。[Run]ボタンを押すと、質量データファイルはフィルタプログラムでピーク抽出処理され、作成されたピークリストが

図 4-10 [Task Editor] タブ



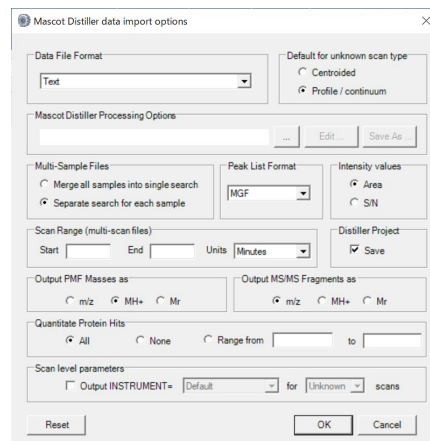
Mascot Server に投入されます。デフォルトでは次のフィルタプログラムをサポートしています。

① Mascot Distiller

Mascot Daemon がインストールされている PC に Mascot Distiller がインストールされている場合に表示されます。全ての質量分析計ベンダーの質量データファイルを処理することができます。

「Mascot Distiller」を選択した後、[Options ...] ボタンを押すと図 4-11 に示すダイアログが表示されますので、[Data File Format] フレームから質量データファイルのファイルフォーマットを選択し、[...] ボタンから適切な処理条件ファイル (Processing Options ファイル: *.opt) を読み込んでください。[Multi-Sample Files] フレームは AB | MDS Sciex の Analyst .WIFF ファイル用の設定項目です。WIFF ファイルが複数のサンプルデータから構成されている場合の検索方法 (統合か個別か) を指定することができます。[Scan Range (multi-scan files)] フレームでは、データ処理の範囲を LC の保持時間や質量分析計のスキャン番号で指定することができます。[Output MS/MS Fragment as] フレームでは、出力データとしてのプロダクトイオンの電荷を指定することができます。Mascot Server はプロダクトイオンの電荷を 1 価あるいは 2 価と仮定して検索しますので、3 価以上のプロダクトイオンが存在する場合は「MH+」を選択し、多荷のプロダクトイオンの m/z 値を 1 価の質量に変換して出力するようにしてください。[Distiller Project File] フレームの [Save] をチェックすることにより、Mascot Distiller の処理内容をプロジェクトファイル (*.rov) として自動的に保存します。定量計算を行った場合は、計算対象となるタンパク質の範囲 ([Range] の場合はヒット番号) を指定してください。

図 4-11 Mascot Distiller



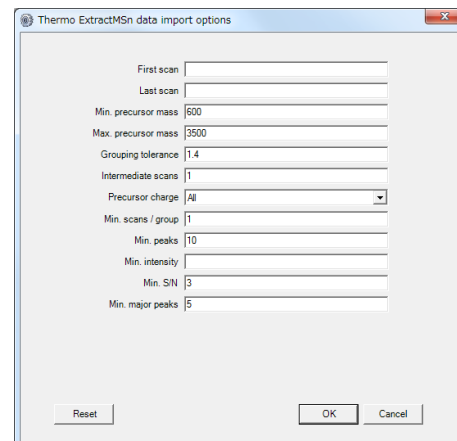
② Thermo ExtractMSn

Mascot Daemon がインストールされている PC に ExtractMSn とその関連ファイルがインストールされており、メニューバー [Edit] → [Preferences] → [Data import filters] タブの [Full path to Thermo ExtractMSn] 入力欄にそのファイルパスが指定されている場合に表示されます。Xcalibur RAW ファイルを処理 (プリカーサ毎の DTA ファイルを作成し、それらをひとつにまとめて MGF ファイルを作成) することができます。

[Data import filter] から「Thermo ExtractMSn」を選択した後、[Options ...] ボタンを押すと図 4-12 に示すダイアログが表示されますので、適切な処理条件を設定し、[OK] ボタンを押してください。詳しくは Mascot Daemon のメニューバー [Help] → [Mascot Daemon Help] → [In Depth] → [Data Import Filters] → [Thermo ExtractMSn] の項をご覧ください。また併せて次のページもご覧ください。

http://www.matrixscience.com/help/instruments_xcalibur.html

図 4-12 Thermo ExtractMSn



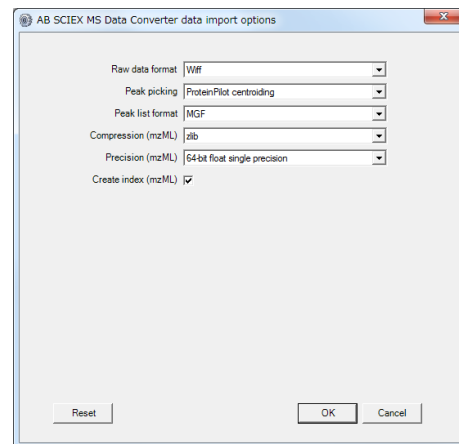
③ AB SCIEX MS Data Converter

Mascot Daemon がインストールされている PC に AB SCIEX MS Data Converter がインストールされおり、メニューバー [Edit] → [Preferences] → [Data import filters] タブの [Full path to AB SCIEX MS Data Converter] 入力欄にそのファイルパスが指定されている場合に表示されます。Wiff および TOF/TOF データを処理することができます。

[Data import filter] から「AB SCIEX MS Data Converter」を選択した後、[Options ...] ボタンを押すと図 4-13 に示すダイアログが表示されますので、適切な処理条件を設定し、[OK] ボタンを押してください。詳しくは Mascot Daemon のメニューバー [Help] → [Mascot Daemoon Help] → [In Depth] → [Data Import Filters] → [AB Sciex MS Data Converter] の項をご覧ください。また併せて次のページもご覧ください。

http://www.matrixscience.com/help/instruments_analyst.html#Converter

図 4-13 AB SCIEX MS Data Converter



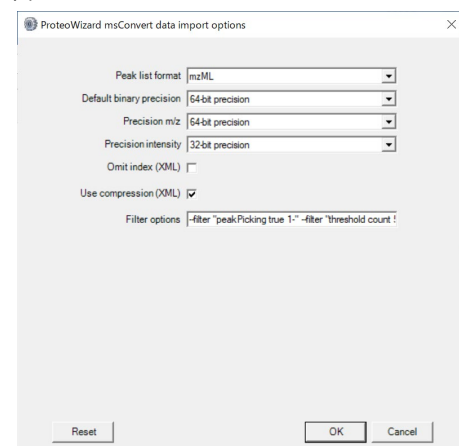
④ ProteoWizard msConvert

Mascot Daemon がインストールされている PC に ProteoWizard msConvert がインストールされおり、メニューバー [Edit] → [Preferences] → [Data import filters] タブの [Full path to ProteoWizard msConvert] 入力欄にそのファイルパスが指定されている場合に表示されます。様々なフォーマットの質量データファイルを処理することができます。

http://proteowizard.sourceforge.net/doc_users.html

[Data import filter] から「ProteoWizard msConvert」を選択した後、[Options ...] ボタンを押すと図 4-14 に示すダイアログが表示されますので、適切な処理条件を設定し、[OK] ボタンを押してください。入力する質量データファイルのフォーマットは自動で認識され、「MGF」あるいは「mzML」のフォーマットで出力されます。詳しくは Mascot Daemon のメニューバー [Help] → [Mascot Daemoon Help] → [In Depth] → [Data Import Filters] → [ProteoWizard msConvert] の項をご覧ください。

図 4-14 ProteoWizard msConvert



(5) [Data file list] フレーム

タスクの種類(動作モード)により、フレームレイアウトが異なります。

① バッチ・モード

[Schedule]フレームの[Start now]または[Start at]または[Start on completion of]が選択されている場合の動作モードです。ひとつまたは複数の質量データファイルに対して、逐次的に Mascot 検索を実行します。[Start on completion of]では、指定した検索中ないし予定されているバッチ・モードの検索が終わった後に Mascot 検索を実行します。質量データファイルは[Add Files ...]ボタンを押して表示されるダイアログから指定してください。[Data import filter]でフィルタプログラムを選択した場合は[Add Folder ...]ボタンも有効になり、「Masslynx」、「Bruker XMASS/XTOF」、「Bruker Esquire」、「Agilent LC/MSD Trap」などのフォルダ単位の質量データを指定することができます。また、Windows のファイルブラウザ上で選択したファイル群またはフォルダ群を[Data file list]ウインドウにドラッグ&ドロップすることもできます。

[Data file list]ウインドウに読み込んだ質量データファイルまたはフォルダを削除する場合は、削除したいファイルまたはフォルダを選択し、[Delete]ボタンを押してください。

[Merge MS/MS files into single search]をチェックすると、[Data file list]ウインドウにある全ての質量データファイルを結合してひとつにし、Mascot 検索を実行します(XML 形式のデータファイルは統合できません)。[Data import filter]でフィルタプログラムが指定されているときは、フィルタプログラムによって処理された質量データファイルが「C:\ProgramData\Matrix Science\Mascot Daemon\MGF\task名\mascot_daemon_merge.mgf」ファイルとして統合されます。なお、フィルタプログラムとして「Mascot Distiller」を指定したときは、[Status]タブには Mascot Distiller Project ファイルのリンクは表示されませんが、各質量データファイルに対するプロジェクトファイルは「C:\ProgramData\Matrix Science\Mascot Daemon\MGF\task名」フォルダに保存されています。

フィルタプログラムとして「AB SCIEX MS Data Converter」を指定したときは、[Add Folder ...]ボタンではなく[Job Run ...]ボタンになります。[Job Run ...]ボタンを押すとテキストを入力するためのダイアログが表示されますので、「4800ProteinPilot Getting Started GuideiTRAQ Reagents - 8Plex 8 Protein Mix#3#1#2」のような Pseudoパスを入力してください。

② リアルタイムモニター・モード

[Schedule]フレームで[Real-time monitor]が選択されている場合の動作モードです。リアルタイムモニター・モードでは、ワイルドカードを含むフォルダパスやファイルパスを使って質量データファイルを指定します。[New files only]をチェックすると、タスクを実行した時点ですでに存在した質量データファイルは無視されます。[Include sub-folders]をチェックすると、[Specify path to root folder]欄で指定したフォルダおよびそのサブフォルダに存在する質量データファイルに対して検索を実行します。

なお、ワイルドカードにより指定されるファイル数は非常に多くなる場合がありますので、もしタスクを実行した後に指定内容の間違いに気づいた場合はそのタスクを強制終了してください([Status]タブに移動し、対応するタスク名を右クリックし、[Pause]を選択した後に[Delete]を選択してください)。

ワイルドカード(「*」: 任意個の文字 および「?」: 1 個の文字)の使用例を示します。[Specify path to root folder]欄で「D:\Data*P*Q*200311??」のように指定した場合、

D:\Data\Proteins\QStar\20031102

D:\Data\Peptides\QTrap\20031103

図 4-15 [Start now/at/on completion of]モードのフレーム

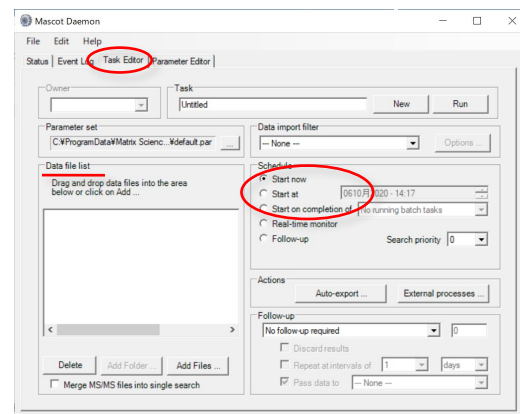
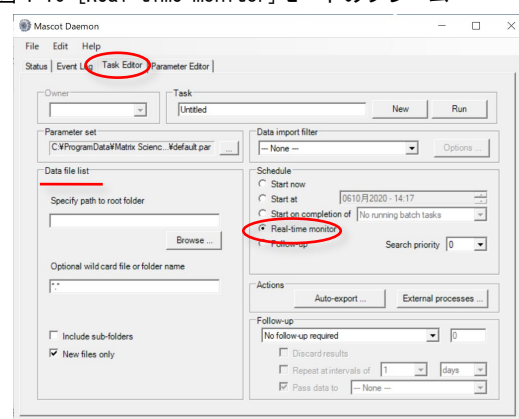


図 4-16 [Real-time monitor]モードのフレーム



などのフォルダパスが対象となりますので、[Optional wild card file or name]欄で「*.wiff」を指定することにより、これらの指定内容に一致する次のような質量データファイルが検索対象となります。

D:\¥Data¥Proteins¥QStar¥20031102¥Trypsin234.wiff

質量データファイルを含むフォルダを対象としたい場合、たとえば、

D:\¥Data¥Proteins¥QToF¥Default.pro¥Data¥Trypsin234.raw

フォルダの場合は、[Specify path to root folder]欄で「D:\¥Data¥Proteins¥QToF¥*.pro¥Data」を、[Optional wild card file or name]欄で「*.raw」のように指定することができます。しかし、[Specify path to root folder]欄で「D:\¥Data¥Proteins¥QToF¥*.pro¥Data¥*」を指定し、[Optional wild card file or name]欄を空欄にした場合は、対象となるフォルダ階層が深すぎるため(すなわち「D:\¥Data¥Proteins¥QToF¥*.pro¥Data¥**¥*」を指定することになり)、動作しません。

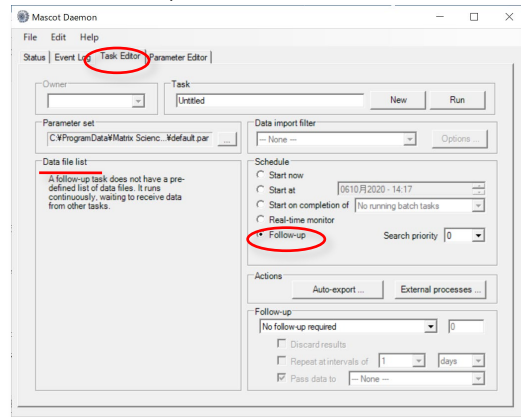
[Include sub-folders]をチェックした場合は、[Specify path to root folder]欄で指定したフォルダ及びそのサブフォルダに存在する質量データファイルが検索対象となりますが、検索対象がフォルダの場合は動作しません。

なお、「AB SCIEX MS Data Converter」を使って Oracle データベースから取得した TOF/TOF データに対しては、動作しません。

③ フォローアップ・モード

[Schedule]フレームで[Follow-up]が選択されている場合の動作モードです。フォローアップ・モードで作成・実行されたタスクは「アイドル状態」で待機し、他のタスクで指定されたフォローアップ条件に合致した結果として回されてきた質量データファイルに対して Mascot 検索を実行しますので、[Data file list]フレームは使いません。複数のフォローアップ・タスクを組み合わせ、より複雑な検索処理プロセスを作成することができます。

図 4-17 [Follow-up]の[Data file list]フレーム



(6) [Schedule]フレーム

タスクの種類(動作モード)を指定します。

[Start now]と[Start at]と[Start on completion of]はバッチ・モードに対応します。

[Real-time monitor]はリアルタイムモニター・モードに対応します。

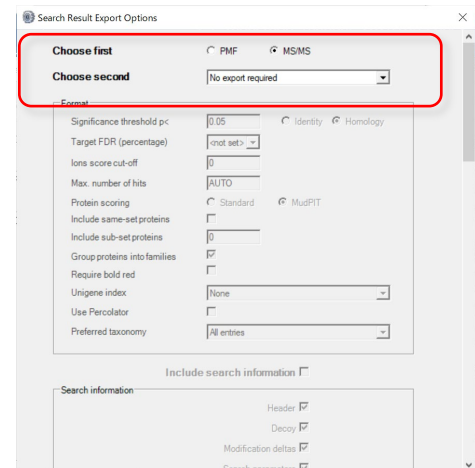
[Follow-up]はフォローアップ・モードに対応します。

[Search priority]は実行したタスクの優先順位を指定します。[0]から[-20]の値を指定することができ、数値が小さいほど優先順位が低くなります。

(7) [Actions]フレーム

[Auto-export]ボタンを押すと、図 4-18 に示すダイアログが表示されますので、[Choose first]で検索モード (PMF または MS/MS) を、[Choose second]で出力フォーマットを選択し、[Format]フレームで出力したい項目をチェックした後、ページの最後にある[OK]ボタンを押してください。Mascot 検索が終了した後に、指定された出力フォーマットで検索結果の内容が「C:\ProgramData\Matrix Science\Mascot Daemon\MGF\タスク名」フォルダにファイル出力されます。なお、出力項目は Mascot 検索が実行される前に設定されていますので、Mascot 検索結果がその出力項目を含まない場合はエラーが返されることがあります。Mascot 検索の条件や内容を考慮して出力項目を選択してください。

図 4-18 Auto-export の詳細設定



[External processes] ボタンを押すと [Mascot Daemon External processes]ダイアログが表示されます。動作させたい外部プログラムを、

- ① タスクの開始前 (Before starting task)
- ② 検索の実行前 (Before each search)
- ③ 検索終了時 (After each search)
- ④ タスクの終了時 (After completing task)

の各ポイントで指定し、実行させることができます。なお、ここで設定した内容はタスクの構成情報として、タスク毎に記録されます。

[Wait for completion]をチェックした場合は、外部プログラムが終了するのを待つこととなりますが、もし外部プログラムが正常終了せずに固まった状態 (hung) になった場合は、タスクはそれに引きずられ先に進みません。もし、外部プログラムがエラーを出力して停止した場合は、そのエラーは Event Log 欄に出力され、Task は次のステップへと進行します。

[Halt on error]をチェックした場合は、外部プログラムがエラーを出力して停止した時点でタスクは途中終了します。

なお、External processes 機能は Mascot Daemon Engine プログラムが管理しています。もし、Mascot Daemon Engine プログラムを Windows のサービスプログラムとして動作させていて、外部プログラムがデスクトップ・アプリケーションの場合は、Mascot Daemon Engine サービスプログラムがこの外部プログラムを実行できるように設定してください。

External processes では次のタグを使用することができます。〈resulturl〉タグのように、処理が終了するまで値を持たないものがあります。また、タグは大文字小文字を区別します。

- 〈taskname〉: タスク名
- 〈parameters〉: 検索条件ファイルパス
- 〈localhost〉: コンピュータ名
- 〈localuser〉: ログオンユーザ名
- 〈datafilename〉: 質量データファイル名
- 〈datafilepath〉: 質量データファイルパス
- 〈cachedpeaklist〉: 「Data import filter」プログラムが作成したピークリストファイルパス
- 〈samplenumber〉: サンプル番号
- 〈mascot_user_id〉: Mascot セキュリティユーザ ID
- 〈mascot_user_name〉: Mascot セキュリティユーザ名
- 〈mascot_user_full_name〉: Mascot セキュリティユーザフルネーム
- 〈mascot_user_email〉: Mascot セキュリティユーザメールアドレス
- 〈resulturl〉: 検索結果ページ URL
- 〈resultfilename〉: 検索結果ファイル名
- 〈resultfilepath〉: 検索結果ファイルパス

External processes の設定例を示します。図 4-19 の上段に示した設定の下でタスクを実行すると、タスクが開始される前に、net コマンドを使って PC のログインユーザである「<localuser>」に「タスク名 is starting」のメッセージを送り (PC のディスプレイ上にはこのメッセージを含むダイアログが表示されます)、Mascot 検索が終了した時点で検索結果ページを読み込んだブラウザが起動し、タスクが終了した時点で「<localuser>」に「タスク名 has finished」のメッセージを送ります。なお、Web ブラウザはデスクトップ・アプリケーションですので、Mascot Daemon Engine プログラムがサービスプログラムとして動作している場合は、デスクトップ・アプリケーションを実行できるように設定してください。

図 4-19 の下段は「Microsoft Windows Script」を使用した例です。上段の例と同様に、タスクを実行すると、タスクの開始時及び終了時に net コマンドを使って PC のログインユーザである「usami」にメッセージ(「タスク名 is starting」と「タスク名 has finished」)を送りますが、同時に「C:\%temp%\links.txt」ファイルが作成され、各々の Mascot 検索に対する検索結果ページの URL が一行ずつ追加されていきます。ここで使用した simple.vbs スクリプトは次のような内容を持っています。また、ここで使用したスクリプトはデスクトップ・アプリケーションではありません。

<スクリプトファイル名 : simple.vbs>

Option Explicit

'Result file name and result URL are passed as command line arguments

Dim objArgs, ResultFileName, ResultURL

Set objArgs = WScript.Arguments

ResultFileName = objArgs(0)

ResultURL = objArgs(1)

'Format result URL as hyperlink and append to links file

Dim fso, MyFile, ForAppending

ForAppending = 8

Set fso = CreateObject("Scripting.FileSystemObject")

Set MyFile = fso.OpenTextFile("c:\%temp%\links.txt", ForAppending, True)

MyFile.WriteLine "" & ResultFileName & ""

(8) [Follow-up] フレーム

再検索を実行するための条件を設定します。

再検索条件として[If score less than]を選択してスコアの値を、[If probability that match in random > 1]を選択して期待値の値(0.05を指定したい場合は20を入力)を設定します。検索結果のスコアが指定値を下回った場合(検索結果の期待値がその値を上回った場合)に、その質量データファイルは[Repeat at intervals of]で指定した時間間隔で再検索されるか、あるいは[Pass data to]で指定した(あらかじめ実行してある)フォローアップ・タスクに渡され、その検索条件に従って再検索されます。

フォローアップ機能は様々な目的に利用することができます。

(例 1) 設定したスコアまたは期待値に達しなかった質量データファイルに対し、指定した時間間隔で再検索させるよ

図 4-19 [External processes]の設定例

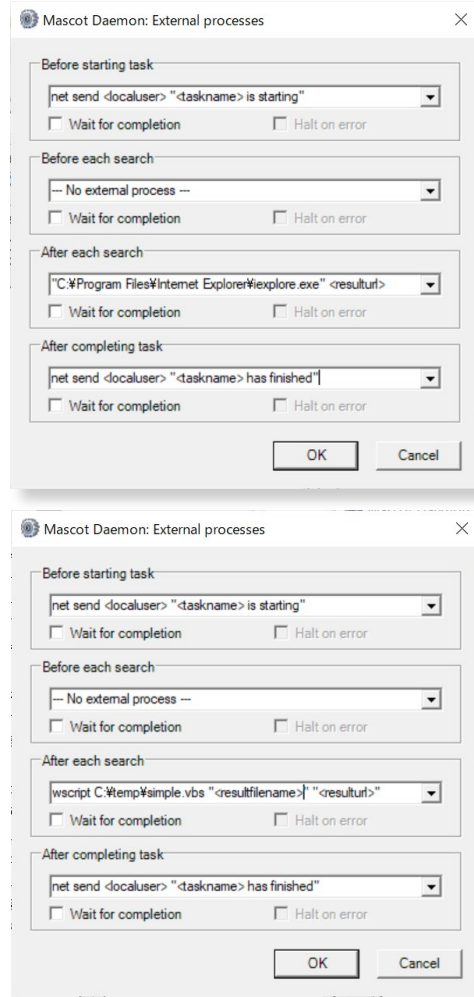
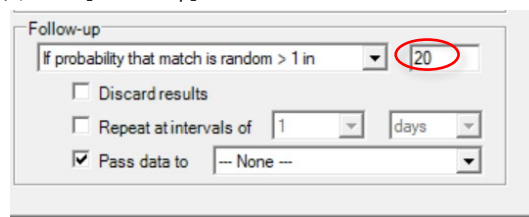


図 4-20 [Follow-up] フレーム



うにすることができます。再検索は設定条件を満たさなくなるまで無期限に続けられます。データベースが定期的に更新される場合などに有効です。

(例2) ひとつの質量データファイルに対して、異なる複数の配列データベースを検索させることができます。たとえば、最初に NCBIInr データベースを検索させ、設定したスコアあるいは期待値に達しなかった場合は dbEST データベースを再検索させることができます。

[Discard results] をチェックすると、[Status] タブの検索結果ツリーには各々の検索結果は追加されなくなりますが、設定したスコアあるいは期待値に達しなかった検索の場合は、[Event Log] タブにその内容を伝えるメッセージ (たとえば「Search results discarded (score is less than 61 specified threshold)」) が表示されます。

[Repeat at interval of] をチェックすると、設定したスコアあるいは期待値に達しなかった質量データファイルは指定した間隔(分、時間、日、週、月)で再検索されます。

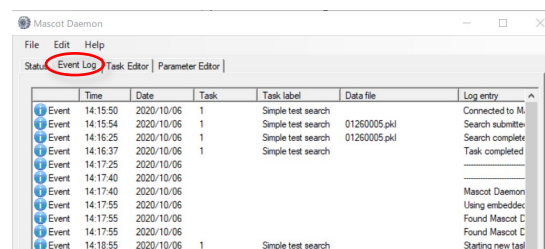
[Pass data to] をチェックすると、設定したスコアあるいは期待値に達しなかった質量データファイルはリストから選択したフォローアップ・タスクに渡され、再検索されます (フォローアップ・タスクはあらかじめ実行し、「アイドリング状態」にしておく必要があります)。

4.5 [Event Log] タブ

[Event Log] タブには Mascot Daemon が実行したイベントに関するログ情報が表示されます。warning や error に関するメッセージもここに表示されます。表示されるログ情報は Mascot Daemon が起動した時点から始まります。過去のログはカンマで区切られた CSV ファイルの形式で次のファイルに記録されます。なお、Mascot Daemon Service プログラムの出力メッセージは Windows Event Log に記録されることもありますので、必要に応じて確認してください。

C:\ProgramData\Matrix Science\Mascot Daemon\Mascot_Daemon_Event_Log.csv

図 4-21 [Event Log] タブ

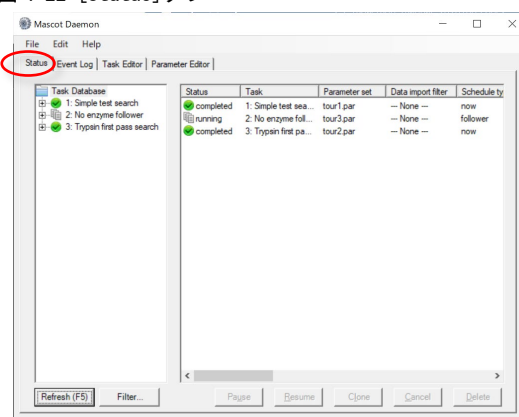


4.6 [Status] タブ







[Status] タブでは、[Task Database]、[タスク名]、[質量データファイル名] の関係をツリー構造で表示するとともに、タスクの状態や検索結果の概要を確認することができます。

左側ウィンドウの最上位に位置する [Task Database] を選択すると、右側ウィンドウにはそれに含まれるタスクに付随する情報が一覧表示されます。左側ウィンドウの [タスク名] を選択すると、右側ウィンドウにはそれに含まれる検索概要 (質量データファイル名や検索結果 URL など) がリスト表示されます。左側ウィンドウの [質量データファイル名] を選択すると、右側ウィンドウにはその検索の概要が表示されます。なお、右側ウィンドウの最上位にあるタイトルカラムをクリックすると、表示されているリストの並びを昇順・降順に切り替えることができます。また、タイトルカラムの幅は境界線をマウスでドラッグすることにより変更することができます。

図 4-22 [Status] タブ



タスクの状態は、タスク名の左側にあるアイコンで確認することができます。各アイコンは次の意味を持っています。

-  : Running task (タスク実行中のアイコン)
-  : Follow-up task (フォローアップ・タスクのアイコン)
-  : Trying to pause a running task (タスクを一時停止させる際の待ちアイコン)
-  : Completed task (タスク完了のアイコン)
-  : Cancelled task (キャンセルされたタスクのアイコン)
-  : Paused task (一時停止したタスクのアイコン)

タスクは一時停止(Pause)、再検索(Resume)、複製(Clone)、削除>Delete)することができます。タスク名を右クリックし、表示されたリストから実行したい操作を選択してください(あるいは、タスク名をクリックし、下方に配置されているボタンを押してください)。

[Clone]を選択することにより、そのタスク情報は[Task Editor]タブに「Copy of タスク名」として複製されますので、類似の条件を持った新しいタスクを作成するときに便利です。

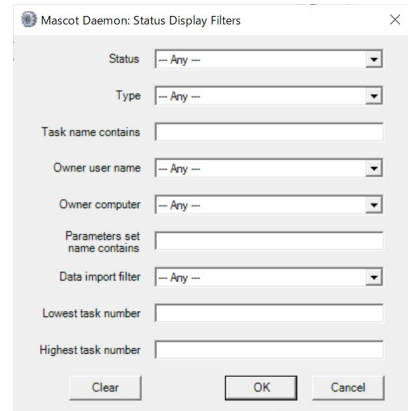
[Delete]を選択してタスク全体を削除できますが、タスクにぶら下がっている個々の[質量データファイル名]を削除することはできません。また、タスクを削除すると Mascot Daemon が管理するタスク・データベースファイルからその情報が削除されますが、Mascot Server が管理する結果ファイルが削除されることはありません。

[質量データファイル名]をドラッグして、**[フォローアップ・タスク名]**にドロップすると、そのフォローアップ・タスクの条件で再検索を実行することができます。

[Status]タブの画面は[Task action polling interval (seconds)]の設定値([Edit]→[Preferences]→[Timer settings]タブ)に従ってリフレッシュされます。リフレッシュする毎にタスク・データベースファイルを読み込み、PCのリソースを消費しますので、この設定値は小さくせずに、必要に応じて[Refresh (F5)]ボタンを押してください。

ひとつのタスク・データベースファイルは異なる PC にインストールされた複数の Mascot Daemon で共有することができます。それぞれのタスクはそのタスクを作成した Mascot Daemon が所有者になり、タスクの一時停止(Pause)、再検索(Resume)、削除>Delete)を行うことができますが、複製(Clone)は全てのクライアントに許可されています。ステータスツリーに多くのタスクがある場合、特定のタスクを見つけるのが難しい場合があります。**[Filter...]** ボタンをクリックするとダイアログが表示され、様々な条件で表示をフィルタリングすることができます。ドロップダウンリストは、「--- Any ---」以外に設定されている場合にアクティブになります、エディットボックスの場合は空でなく何か文字が記されている場合にアクティブになります。アクティブなフィルタをすべて満たすタスクがない場合、ツリーは空になります。これは単に表示上のフィルタであることに注意してください。実行中のタスクはすべて実行され続けます。すべてのフィルターをクリアするには **クリア** ボタンをクリックします。ダイアログを閉じたときにフィルターが有効になっている場合は、ボタンのラベルが太字イタリック体で表示されます。

図 4-23 [Filter...]



5 補足

5.1 Mascot Daemon Engine を Windows のサービスとして動かす方法

Mascot Daemon のメニューバー[Help]→[Mascot Daemon Help]→[In Depth] →[Running Daemon as a service]の項をご覧ください。

5.2 タスク・データベース

(1) VistaDB

VistaDB エンジン は Mascot Daemon に組み込まれていますので、Mascot Daemon をインストールすれば何の設定も必要なくそのまま利用することができます。他の Database エンジンを使う特別な理由がないようでしたら VistaDB をお使いください。

① Task database の作成

VistaDB の Task database ファイル「taskdb.vd5」は Mascot Daemon をインストールすると次のように自動的に作成されます。

```
C:\ProgramData\Matrix Science\Mascot Daemon\taskdb.vdb5
```

もし、このファイルが壊れて使えなくなった場合は、次のフォルダに空の taskdb.vd5 がありますので、それをコピーしてお使いください。

```
C:\ProgramData\Matrix Science\Mascot Daemon\VistaDB
```

② Task database の編集

Task database のテーブル構造は変更することはできませんが、テーブルの値は変更することができます。たとえば、Mascot Server を新しい PC に移動した場合、もし PC のホスト名が変われば Mascot Server の URL も変わりますので、Mascot Daemon の[Result file URL]行に表示されている検索結果 URL リンクはすべてリンク切れになります。ユーティリティプログラム「C:\Program Files\Matrix Science\Mascot Daemon\DBASampleTool.exe」を使って Task database ファイルの[Mascot_Daemon_Results]テーブルの値に含まれるホスト名を変更してください。

1. Mascot Daemon を終了してください。また、タスクトレイにある Mascot Daemon Engine も右クリックして[Exit]してください。
2. 「taskdb.vd5」ファイルをバックアップしてください。
3. 「C:\Program Files\Matrix Science\Mascot Daemon\DBASampleTool.exe」をダブルクリックしてください。「VistaDB Table Editor」が起動します。
4. メニューバー[File]→[Open Database]から「C:\ProgramData\Matrix Science\Mascot Daemon\taskdb.vdb5」を開いてください。
5. 左側のエクスプローラーから[Table]→[Mascot_Daemon_Results]→[Data]の順に選択してください。
6. 右側ウィンドウを右の方にスクロールして[result_url]の列を探し、そこに記述されているホスト名を確認してください。

図 4-23 VistaDB Table Editor : ホスト名の確認

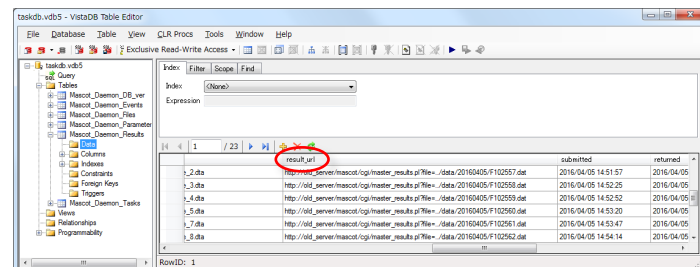
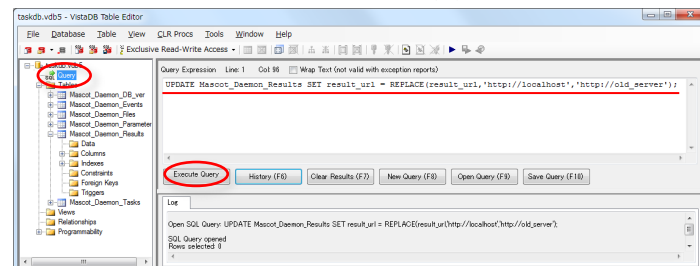


図 4-24 VistaDB Table Editor : ホスト名の変更



7. 左側イクスプローラーの[Query]を選択してください。
8. 右側ウィンドウの[Query Expression]入力欄にSQLクエリー実行文を入力してください。たとえば、
「old_server」というホスト名を「new_server」に変更する場合は次の実行文になります。

```
UPDATE Mascot_Daemon_Results SET result_url =
      REPLACE(result_url, 'http://old_server', 'http://new_server');
```
9. [Execute Query]ボタンを押してください。
10. ホスト名が正しく変更されたことを確認してください。
11. メニューバー[File]→[Close Database]を選択してください。
12. 「VistaDB Table Editor」を終了してください。

(2) Access

Mascot Daemon のメニューバー[Help]→[Mascot Daemoon Help]→[Getting Started] →[Database Engines]→[Access]の項をご覧ください。

(3) PostgreSQL

Mascot Daemon のメニューバー[Help]→[Mascot Daemoon Help]→[Getting Started] →[Database Engines]→[PostgreSQL]の項をご覧ください。

(4) SQL Server

Mascot Daemon のメニューバー[Help]→[Mascot Daemoon Help]→[Getting Started] →[Database Engines]→[SQL Server]の項をご覧ください。

(5) mySQL

Mascot Daemon のメニューバー[Help]→[Mascot Daemoon Help]→[Getting Started] →[Database Engines]→[mySQL]の項をご覧ください。

(6) Oracle

Mascot Daemon のメニューバー[Help]→[Mascot Daemoon Help]→[Getting Started] →[Database Engines]→[Oracle]の項をご覧ください。

5.3 Stop Mass リスト

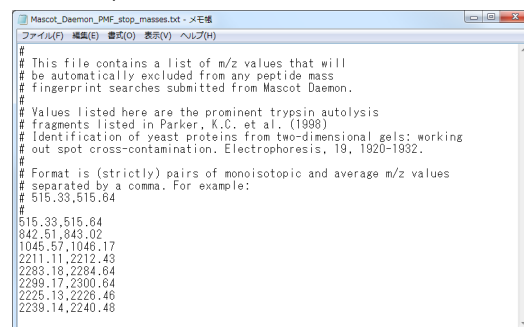
PMF 検索の際に、あらかじめ指定した質量が質量データの中に存在する場合、その値を無視する「Stop Mass 機能」を利用することができます。「Stop Mass 機能」を有効にするためには、次のファイルをひとつ上の階層のMascot Daemon フォルダにコピーしてください。

C:\ProgramData\Matrix Science\Mascot Daemon\

stop_masses\Mascot_Daemon_PMF_stop_masses.txt

Stop Mass の指定方法は、モノアイソトピック m/z と平均 m/z をカンマ (,) で区切り、一行に記述します。図 5-5 に示す記述例をご覧ください。

図 5-5 Stop Mass リスト



Mascot Daemon 2.7 取扱説明書

2020年10月 第1版

© 2020 マトリックスサイエンス株式会社



マトリックスサイエンス株式会社

電子メール : support-jp@matrixscience.com

電話 : 03-5807-7895 ファクシミリ:03-5807-7896

住所 : 〒110-0015 東京都台東区東上野 1-6-10 ARTビル1階