

Mascot Server ver. 2.7 新機能紹介

1. crosslinked ペプチド検索

クロスリンカー（あるいは単純な共有結合）で結合されたペプチドのペアを検索できるようになりました。

```
R. CELAAAMKR.H C1<-Xlink:Disulfide->C2 R. GCRL.-
R. GYSLGNWVCAAK.F C9<-Xlink:Disulfide->C1 R. CK.G
R. GYSLGNWVCAAK.F C9<-Xlink:Disulfide->C1 R. CK.G
R. GYSLG
R. GYSLG
R. CKGTI
K. IVSDG
K. IVSDG
```

対応するリンカーの結合パターンは以下の4種類です

- intralinks** 同一タンパク質別ペプチド間の結合
- interlinks** 2タンパク質のペプチド間の結合
- looplinks** 同一ペプチド内のアミノ酸同士の結合
- monolinks** リンカーの一方にのみ結合した状態（単純な修飾）

Edit Crosslinking Method:Disulfide bridge in Lysozyme

Name

Name **Disulfide bridge in Lysozyme** Description

検索前にクロスリンクのターゲットとなるタンパク質やリンカーの種類、並びに上記結合パターンの考慮する範囲を特定した設定を予め作成します。検索時にその設定を選択します（現在「Quantitation」検索で取られているのと同じ方式です）。

The screenshot shows the XML configuration for crosslinking with parameters like `<mxm:linkers>`, `<mxm:accessions>`, and `<mxm:parameter name="IntraLink">True</mxm:parameter>`. A dropdown menu is open, showing options: None, Disulfide bridge in Lysozyme (selected), EDC MND1_ARATH+HOP2_ARATH, and HSA Xlink:DSS.



検索結果を **xiView**
https://xiview.org/xiNET_website/index.php
 で閲覧可能な形なフォーマットでファイル出力する事ができます。

2. 1CPUあたりの対応コア数が4から6に増加（日本のみ）

1CPU ライセンス当たり使用可能なコア数が4から6に増加しました。資料「**対応コア数増加とコンピュータ載せ替えによる速度向上について**」も併せてご覧ください。

3. Protein FDR

Protein FDR を算出・表示するようになりました。protein FDR の算出は、MAYU (アルゴリズム、あるいはプログラム)によって採用されている方式に則っています。Protein FDR を同定基準として考えているケースなど (HUPO の HPP Data Interpretation Guidelines ver.3.0.0 (項目 4-c))、タンパク質同定の際に基準として protein FDR の数値が求められる事があります。

▼Sensitivity and FDR (reversed protein sequences)

	Uniprot_Human	Decoy	FDR
Protein family members	3567	17	0.48%
PSMs	above	homology	12797
			25
			0.20%

Adjust to 0.2% * ▾

Decoy results are available in [the decoy report](#).

4. 定量解析結果の CSV フォーマット出力 [Daemon]

MASCOT Daemon 上で各定量解析結果の属性定義をし、まとめ直したデータを CSV フォーマットでファイル出力できるようになりました。これまで MASCOT の定量計算はデータの階層構造化 (属性付与) との結びつきが弱く、以降の統計解析にデータを渡す上で不便な点がありました。今回のバージョンアップで繰り返し実験の組み合わせやサンプル定義が可能となっています。詳細は Daemon の HELP で「Quantitation Summary」の項目をご覧ください。

iTRAQ、4 回の繰り返し実験で 4 サンプルと試薬の組み合わせを変えたデータの定義例

ピーク→ サンプル↓	114	115	116	117
1	A*	B	C	D
2	D	A*	B	C
3	C	D	A*	B
4	B	C	D	A*

<input checked="" type="checkbox"/>	Task	Task name	Raw file path	Raw file name	Parameter set	Fasta(s)
<input checked="" type="checkbox"/>	940	Weizmann LFQ f...	\\akippy.matrixsci...	GEP1_SpikeIn_230914_1_3ng_270914.raw	weizmann-fl.par	ecoli_proteome_...
<input checked="" type="checkbox"/>	940	Weizmann LFQ f...	\\akippy.matrixsci...	GEP1_SpikeIn_230914_2_3ng_270914.raw	weizmann-fl.par	ecoli_proteome_...
<input checked="" type="checkbox"/>	940	Weizmann LFQ f...	\\akippy.matrixsci...	GEP1_SpikeIn_230914_3_3ng_270914.raw	weizmann-fl.par	ecoli_proteome_...
<input checked="" type="checkbox"/>	940	Weizmann LFQ f...	\\akippy.matrixsci...	GEP1_SpikeIn_230914_4_7-5ng_270914.raw	weizmann-fl.par	ecoli_proteome_...
<input checked="" type="checkbox"/>	940	Weizmann LFQ f...	\\akippy.matrixsci...	GEP1_SpikeIn_230914_5_7-5ng_270914.raw	weizmann-fl.par	ecoli_proteome_...
<input checked="" type="checkbox"/>	940	Weizmann LFQ f...	\\akippy.matrixsci...	GEP1_SpikeIn_230914_6_7-5ng_270914.raw	weizmann-fl.par	ecoli_proteome_...

CSV フォーマット出力が可能な定量解析は以下の解析です

- Average (label free,MSI intensity-based)
- Precursor (isotopic ラベル使用した MSI)
- Reporter (isobaric ラベル使用した MS2)

Contaminant DB: None | Average [MD] | Settings ... | Save sample map ...

5. 3価以上のフラグメントピークデータに対応

これまで検索時には考慮されず無視されていた 3 価以上のフラグメントピークを検索に利用できるようになりました。

mgf の fragment ピークのデータで、「m/z intensity」の次に電荷情報がある場合、検索エンジン側で電荷情報に基づき m/z を 1 価の時の値に換算できるようになりました。

MASCOT Distiller の Comprehensive 出力であれば、3 番目の列が電荷情報の mgf ファイルを出力可能です。

```
Begin ions
title=mgftestData3Charge
pepmass=1101.23
charge=5+
132.23 21.34 1
156.65 72.21 1
212.39 25.32 2
283.64 119.78 2
329.71 10.24 1
405.32 211.40 3
449.45 103.23 2
487.23 80.9 1
513.29 421.23 3
```

クロスリンク結合のデータも含め、多価データ解析には **MASCOT Distiller** の使用をお勧めします!

クロスリンク解析やミドルダウンなどのデータを扱う際は、大きなペプチド質量に対応するための手法を選択し、MS/MS のフラグメントピークも多価になるケースが多くなります。しかしながら MASCOTServer 側はペプチド側の理論値作成において 2 価までしか考慮しません。

対処法として mgf ファイルのフラグメントピークに電荷情報を与えるか、mgf 出力時に 1 価に換算した m/z をピークリストに記述する必要があります。**MASCOT Distiller** であればどちらの方法でも検索が可能です。

6. Error Tolerant 検索時の表示候補の改善

Error Tolerant 検索で、あまり意味のない(にも関わらず少しスコアが高くなるため表示されてしまうような)結果について、除外されるよう改善しました。

例) 元々メチオニンの酸化修飾が表示されていたが、その代わりに酸化修飾が脱落し、すぐ近くの残基にて酸化あるいは別の+16Da の別の修飾・アミノ酸置換が報告される、など

7. MGF 出力時のデータ並び順が 2 通りに設定可能

mgf ファイル出力時、これまでは MASCOT の query 番号順 (質量に換算した際の昇順)での出力でしたが、検索時の mgf の順でも出力可能になりました。出力時に選択できます。

Export search results [Help](#)

Export format: MGF Peak List

Output spectra in:

 original order (for use with mzIdentML or mzTab)

 Mascot query order

Show command line arguments Export search results

8. [Daemon] バラバラな検索を検索後にまとめて表示

これまでは Daemon 上で別々の raw データを1つにまとめてから検索する機能がありました。新たに、別々のデータで検索し完了した内容を検索後に結合して結果を表示することができるようになりました。

9. (スペクトルライブラリ検索向け) 修飾設定ファイルオプション拡張

スペクトルライブラリの中で使われている独自の修飾名称を、unimod (MASCOT で使用している修飾定義ファイル) の定義と結び付けるための別の設定ファイルを新たに用意しました。

```

library_mod_aliases - メモ帳
ファイル(F) 編集(E) 書式(O) 表示(V) ヘルプ(H)
The default list provided is supplied by NIST
AB_old_ICATd0" = "ICAT-D"
AB_old_ICATd8" = "ICAT-D:2H(8)"
Acetylation" = "Acetyl"
CAM" = "Carbamidomethyl"
Deamidation" = "Deamidated"
Dehydro" = "Dehydrated"
di-Methylation" = "Dimethyl"
dihydroxy" = "Dioxidation"
formylkynurenin" = "Dioxidation"
HMK86" = "HMK"

```

10. variable modification 検索に関する設定の拡張

ペプチド内の修飾(variable)の検索時、種類や考慮する位置の上限数を詳細に特定する際に関連する設定オプション「**MaxPepNumVarMods**」「**MaxPepNumModifiedSites**」「**MaxPepModArrangements**」が追加されました。(各パラメータの詳細は、マニュアルを参照してください)

*上限値を上げると、考慮可能な範囲が増える半面、検索に時間がかかるようになりますのでご注意ください。

11. 定量計算プログラムの内容が MASCOT Parser へ移行

Distiller 並びに MASCOT Server の**定量計算**に関するプログラム内容が **MASCOT Parser** に移行しました。ユーザーは Parser を介して同内容を自身のプログラムにて利用できるようになりました。

ご不明な点がございましたら support-jp@matrixscience.com (技術サポート)にご連絡ください。



マトリックスサイエンス株式会社
support-jp@matrixscience.com

〒110-0015 東京都台東区東上野1-6-10 ARTビル1階