糖鎖・糖タンパク質解析ソフト「GlyfinTMS」

ユーザーマニュアル

IT 化支援ラボ株式会社 2012 年 8 月

目次

1. はじ	こめに	. 1
1.1.	解析の流れ	. 1
1.2.	読込み可能なファイル形式	.2
1.3.	mzXML形式へのコンバーターがあれば読込み可能なファイル形式	.2
1.4.	基本動作環境	.2
2. イン	イストール	.3
2.1.	インストール手順	.3
2.2.	アンインストール手順	. 5
3. 起重	カと終了	. 6
3.1.	プログラムの起動	. 6
3.2.	プログラムの終了	. 6
4. ライ	'センス認証	. 7
5. 画面	ā構成	.8
5.1.	全体	.8
5.2.	ファイルビュー	.8
5.3.	グラフビュー	.8
6. デー	-夕の読込	.9
6.1.	メニューからファイルを指定して読み込む	.9
6.2.	ファイルをドラッグ&ドロップして読み込む	.9
6.3.	MALDI-TOF/MSデータを読み込む	10
7. 解材	f(糖・アミノ酸の自動検出)	11
7.1.	パラメータの設定~解析の実行	11
7.2.	解析結果の確認1	13
7.3.	パラメータを変更して再解析する1	14
7.4.	解析名の変更1	14
7.5.	実行した解析パラメータをデフォルト値として保存する	15
7.6.	解析結果の削除1	15
7.7.	パラメータの確認1	16
7.8.	スキャン数・検出数の確認	16
7.9.	ファイルのClose	16
8. グラ	ラフの操作1	L7
8.1.	ツールバー	L7
8.2.	表示領域(X軸・Y軸)の拡大1	18
8.3.	Relative Abundance (Y軸) の拡大・縮小	18

8.4. 表	長示を初期状態に戻す	18
9. アサイ	インする(糖・アミノ酸の手動検出)	19
10. アサ	⁺ イン情報の削除	19
11. 糖·	・アミノ酸のFix(採用)	20
12. 保有	テ・ ファイル出力	21
12.1.	解析結果の保存	21
12.2.	別名で保存	21
12.3.	HTML形式で保存(Export)	22
12.3.1	L. HTML形式へのExport手順	22
12.3.2	2. HTML形式でExportした解析結果の表示	23
12.3.3	3. HTML形式でExportした解析結果の操作	24
12.3.4	I. HTML形式でExportした解析結果へのアサイン	25
12.4.	クロマトグラム中のピーク情報の保存	26
12.5.	クロマトグラム画像出力	27
13. その	つ他の右クリックメニュー	
13.1.	BPCグラフでの右クリックメニュー	
13.1.1	. ピークの差分表示	28
13.1.2	2. 陰イオンモード/陽イオンモードの切り替え	29
13.1.3	3. ピーク検索	30
13.2.	MSのグラフでの右クリック→メニュー	31
13.2.1	. ピークの差分表示	31
13.2.2	2. 自動検出された糖鎖を表示する数	32
14. シフ	ペテムプロパティ設定	33
14.1.	同定関数のデフォルト値の設定	34
14.2.	同定関数の単糖の設定	35
14.3.	手動アサインで使用するアミノ酸の設定	36
14.4.	検出したピークの色の設定	38
14.5.	検出する糖鎖の配列から除外する配列の設定	
14.6.	各社データに対応するConverterの設定	41
14.7.	その他の設定	43
15. メニ	ニューとツールバー	
15.1.	File(F) $\neq = = = -$	44
15.2.	Analysis (A) $\neq = = = =$	45
15.3.	$Preference(P) \lor = \$	45
15.4.	$\operatorname{Help}(H) \lor = \lrcorner -$	

1. はじめに

糖鎖・糖タンパク質解析ソフト「GlyfinTMS」は、質量分析装置から出力されたデータフ アイルを読み込み、クロマトグラムを表示、糖鎖・糖タンパク質の検出・同定を行うソフ トウェアです。

糖鎖の構造は単糖の配列、結合様式、鎖の長さ・分岐様式などの多様性から非常に複雑な 構造であり、質量分析より得られる情報から糖鎖の構造を予測するためには、膨大な労力 と専門的な知識を要します。本ソフトウェアでは、その労力軽減を図るべく、質量分析装 置より得られたデータから、明らかに糖鎖由来では無いものを除外し、糖鎖構造候補と思 われるデータを研究者に示唆します。

1.1. 解析の流れ



1.2. 読込み可能なファイル形式

拡張子	説明
*.mzXML	mzXML 形式のファイル。但し MSconvert 利用時には Command-Line Tools
	にて以下のオプションで変換を行ってください。
	「msconvert 入力ファイルmzXML32 -o 出力ディレクトリ」
	(このオプション以外での動作は確認できていません)
	mzXML 形式のファイルが複数格納されたフォルダの読込も可能。
	※対象は Waters/Micromass 社製品、Bruker Daltonics 社製品のアウトプッ
	トデータです。
*.gly	GlyfinTMS で解析を行った結果ファイル。

※MSconvert は http://proteowizard.sourceforge.net/user_installation.shtml を参考に入 手してください。

1.3. mzXML形式へのコンバーターがあれば読込み可能なファイル形式

※GlyfinTMS、コンバーター、分析機メーカ提供の解析ソフトが全て同じ PC にセットア ップされている必要があります。また、コンバーターはコンバーター規定のフォルダ (readme 等に記載されているフォルダ)にセットアップされている必要があります。

拡張子	コンバーター名	ファイルの説明
*.raw	ReadW	Thermo Fisher Scientific 社の Xcalibur のアウトプットデー
		タ。
	massWolf	Waters 社の Waters MassLynx ソフトウェアのアウトプット
		データ。
*.wiff	mzWiff	AB SCIEX 社の Analyst-QS、Analyst のアウトプットデータ。

※コンバーターをご利用の際には事前に試用版でお試しください。

※コンバーターは<u>http://sourceforge.net/projects/sashimi/files/</u>から入手できます。

1.4. 基本動作環境

OS	WindowsXP, Windows Vist、Windows7			
Memory	8GB 以上(インプットデータや解析パラメータの設定により 8GB 以上			
	のメモリを推奨します。事前に試用版でお試しください。)			
Library	Microsoft .net framework 3.5			
ブラウザ	IE 8、Firefox 11			
	※Export した HTML ファイルが正しく動作する確認がとれているブラ			
	ウザです。			

- 2. インストール
- 2.1. インストール手順
- ① Microsoft .net framework (3.5) が未インストールの場合はインストールします。

【Microsoft .net framework の確認方法】

「スタート」・「ファイル名を指定して実行」の名前欄に「regedit」と入力しOKボタン

をクリックします。

レジストリエディターが開きますので画面左側のフォルダを次のように辿ります。

HKEY_LOCAL_MACHINE

└SOFTWARE

└Microsoft

└NET Framework Setup

└NDP

NDP の下に「v3.5」のフォルダがあれば問題ありません。

- ② GlyfinTMS インストール CD 中のセットアッププログラム setup.exe を起動します。
- ③ インストール開始の確認が表示されます。「Next」を押してください。



④ インストール先を選択できます。変更の必要が無ければそのまま「Next」を押してください。

	📅 Setup - Glyfin 📃 🗆 🗶
	Select Destination Location Where should Glylin be installed?
	Setup will install Glyfin into the following folder.
	To continue, click Next. If you would like to select a different folder, click Browse.
	C#Program Files#Glyfin Browse
	At least 1.4 MB of free disk space is required.
л Б	プタナホ西ホキナナ 赤西 心西は毎けわけ

⑤ スタートメニューに表示するプログラムグループ名を変更できます。変更の必要が無ければ

そのまま「Next」を押します。

🕼 Setup - Glyfin	
Select Start Menu Folder Where should Setup place the program's shortcuts?	
Setup will create the program's shortcuts in the following Start Menu folde	er.
To continue, click Next. If you would like to select a different folder, click Browse.	
Glyfin Brows	:e
< Back	Cancel

⑥ デスクトップにショートカットを作成するか指定します(作成する場合はチェッタをのN)。変更の必要が無ければそのまま「Next」を押します。

		🔂 Setup - Glyfin	_ 🗆 🗡
		Select Additional Tasks Which additional tasks should be performed?	
		Select the additional tasks you would like Setup to perform while installing Glyfin, the click Next.	en
		Additional icons:	
		< Back	Cancel
\bigcirc	確認表示が出ますので問題が無ければ「In	stall」を押してください。	
		🚰 Setup - Glyfin	_ 🗆 🗙
		Ready to Install Setup is now ready to begin installing Glyfin on your computer.	
		Click Install to continue with the installation, or click Back if you want to review or change any settings.	
		Destination location: C.¥Program Files¥Glyfin	-
		Start Menu folder: Glyfin	
		् य	T
		< Back Install	Cancel
8	インストール完了画面が表示されたら「F	ïnish」を押してください。インストール後日	自動で

GlyfinTMS を起動する場合はチェックを ON の状態にします。



2.2. アンインストール手順

Windows の「スタート」・「全てのプログラム」・「GlyfinTMS」・「Uninstall GlyfinTMS」 を選択してください。



3. 起動と終了

3.1. プログラムの起動

スタートメニューの GlyfinTMS 又はデスクトップにある GlyfinTMS のアイコンをクリッ クして起動します。解析結果の保存ファイル(*.gly)をダブルクリックしても GlyfinTMS を起動することができます。

※インストール後初回の起動時には次のような警告が表示されます。

Welco	ome to (GlyfinTM	5!	1.3				×
	Pl "R (G cc	ease spe leAdW.ex GlyfinTMS onverter	cify .RAW (e") S can only path.)	file -> .mz read .mzXI	XML co ML files	nverter pa unless you	th. (It may b specify	e
							(к
🕂 Pi	ropertie	25				/		X
Fu	unction eject Se	Mass Da quences	ata Amino Converter) Mass Dat General	a Ident	tification Ty	pe	
		Tool		Path		FileType		1
		ReAdW massWo	lf	ReAdW massWolf		RAW	-	
		mzWiff		mzWiff		wiff		
	BRUI	KER		500 544				
		cuton		Restor	e Defau	Its	Apply	
			0	K [Cance			

OK を押すとコンバーターを指定する画 面が表示されますので必要に応じてプロ グラムファイルの Path 等を設定してくだ さい。変換プログラムを使用しない場合は そのまま OK を押してください (変換プロ グラムを使用しない場合は、予め変換され ている mzXML形式のファイル以外読み込む 事ができません。)。

3.2. プログラムの終了

メニューの「File→Exit」を選択又はウィンドウ右上の「閉じる」ボタンをクリックしま す。この時、解析結果のデータを保存していない場合は保存を行うかどうかの確認ダイア ログが表示されます。

4. ライセンス認証

ライセンス認証をしない場合、解析の実行など一通りの機能は利用できますが、結果を保存することができません。ライセンス認証の手順は次の通りです。

- ① メニューから「Preference \rightarrow System Properties」を選択します。
- ② Properties ダイアログが表示されますので「License」タブを選びます。
- ③ 「Copy to Clipboard」を押し、MAC Address をコピーします。

M Properties
Function Mass Data Amino Mass Data Identification Type Reject Sequences Converter General License
License Management
MAC Address : 24-77-03-02-A1-D4 Copy to Clipboard 3
License Key : Paste Clipboard 5
Activate 6
7
OK Cancel

- ④ コピーした MAC Address をメール本文へ貼り付け、販売元(info@itsl.jp) ヘライセン スキー発行依頼を行なってください。
- ⑤ 販売元からメールで返送されたライセンスキーをコピーし、上記画面の「Paste Clipboard」ボタンで貼り付けます。
- ⑥ 「Activate」ボタンを押します。「Activation completed correctly.」と表示されます。
 もしもエラーが表示される場合は販売元へご連絡をください。
- ⑦ 「OK」ボタンを押します。

5. 画面構成

5.1. 全体



※BPC : Base Peak chromatogram

5.2. ファイルビュー



5.3. グラフビュー

ファイルビューで選択した解析名のクロマトグラムを表示します。

クロマトグラムは1段目に MS1 の BPC を表示し、2段目以降に MS1~MS4 のスキャン で得られたものを表示します。

6. データの読込

GlyfinTMS でファイルを読み込む方法は2つあります。

- (1) GlyfinTMS のメニューからファイルを指定する方法
- (2) ファイルを GlyfinTMS のアイコン又はウィンドウにドラッグ&ドロップする方法

6.1. メニューからファイルを指定して読み込む

- ① GlyfinTMSのメニューで「File→Open」を選択します。
- ② ファイル選択ダイアログで読み込むファイルを選択します。



③ 「開く」を押すと読み込んだデータがグラフ表示されます。



6.2. ファイルをドラッグ&ドロップして読み込む

GlyfinTMS の画面上(どこでも可)に読み込ませたいデータファイルをドラッグ&ドロ ップしてください。

6.3. MALDI-TOF/MSデータを読み込む

① メニューの「File→Open MALDI-TOF/MS Data(M)」を選択します。

File(F)		Analysis(A)	Preference(P)	Н
	O	en(O)		
	O	en MALDI-TOF	/MS Data(M)	
Γ	Cl	ose(C)		
	Sa	ve(S)		
	Sa	ve As(A)		
	Ex	port(E)	I	
	Ex	it(X)		

- ② フォルダを選択するダイアログで MALDI-TOF/MS のデータフォルダ (RAW データが、 複数の mzXML に変換・保存されているフォルダ)を選択します。
- ③ 「OK」を押すと読み込んだデータがグラフ表示されます。

※MALDI-TOF/MS の mzXML ファイルには BPC (又は TIC) のデータが含まれていませんので GlyfinTMS の BPC グラフには自動で仮のピーク値が付与されます。 7. 解析(糖・アミノ酸の自動検出)

7.1. パラメータの設定~解析の実行

- ① FileView でデータ名(2 階層目)を選択します。
- ② 右クリックから「Add Analysis」を選択します。

FileView
■- 080424RNase_Pronase25_GCC3ul01 ■- 080424RNase_Pronase25_GCC3 Add Analysis
142

③ 解析パラメータ設定画面(Analysis Parameter 画面)が開きますので解析で使用する 糖鎖同定アルゴリズムのパラメータを設定してください。

litering		Туре	Mass	major/minor	•
Function1	•	Hex	162.2	major	•
Parameter		HexNAc	203	major	•
width 2.3 maximum candidate peaks 2		Bac	228	minor	•
		Pent	132	minor	•
lentification		DHex	146.16	minor	•
antication		NeuNAc	291.28	minor	•
Function 1	*				•
Parameter					
number of peaks 5 < 90		Reject Sequence	s		•
range of m/z 645	•		^00XXX[0]{1]\$		
tolerance 1.2			^OXOXX\$		
minimum length			^OXOXX[OX]\$		
www.hen.ef.identified.ee.hen			^OXXO\$		Ε
			^OXXOXO\$		
difference of m/z 645			^OXXX\$		
rate of major 50 %			~xx[x0]+xx\$		
intervity (0			~xxxo\$		
charge			`XXXOOX\$		_
☑ 1+ ☑ 2+			O(OXX){2,}		_
maximum mumber of minor			0+XX0+XX		_
maximum number of minor 3			000X{3,}\$		_
result top 5			00X{3,}\$		-

<パラメータの内容>

項目名	説明	デフォルト値
width	ピークを抽出する m/z の範囲	2.3
maximum candidate peaks	width の範囲内に含める最大ピーク数	2

number of peaks	抽出されたピークの個数がパラメータの範	$5 \sim 90$
	囲内であれば、そのスキャンを解析対象と	
	する。	
range of m/z	抽出ピークの m/z の最大と最小の差がパラ	645
	メータ値以上であれば、そのスキャンを解	
	析対象とする。	
tolerance	登録してある単糖の m/z 値との±誤差許容	1.2
	範囲。	
minimum length	検出する糖鎖の構成単糖の最低連結数。	4
number of identified peaks	糖鎖検出に用いるピーク総数の許容範囲。	$5 \sim \! 45$
difference of m/z	検出された糖鎖に用いているピークの m/z	645
	の最大と最小の差。	
rate of major	検出された糖鎖中のメジャー単糖の割合。	50%
intensity	パラメータ値以上の強度のピークが、検出	40
	された糖鎖中に1つ以上含まれること。	
charge	検出時に対象とする糖の価数。	1+ and 2+
maximum number of minor	検出された糖鎖中に許容するマイナー単糖	3
	の最大数。	
result top	検出された糖鎖を表示する数。	5

※ 表示する糖鎖は、検出した1つの糖鎖に使用しているピークの intensity 値の和を 取って、その値が大きいものから順番に result top で指定した数だけ出力。

<同定に使用する単糖の設定>

項目	説明	デフォルト値
Туре	糖のタイプ	なし
Mass	1 価の糖の m/z 値	なし
major/minor	major/minor の選択	major

<同定した配列から除く配列のリスト>

項目	説明
Reject Sequences	major な糖を"O"、minor な糖を"X"で、表わし、解析時に除外す
	る糖鎖配列のパターンを正規表現で記述します。詳細は「システム
	プロパティ設定」の章をご覧ください。

④ 設定後「OK」ボタンをクリックすると、解析(同定)処理が行われます。

7.2. 解析結果の確認

解析完了後、ツールバーの「>>」をクリックすると自動仮同定されたスキャン番号までジャンプします(「>>」を押すたびに次へ移動します)。



解析により自動仮同定された糖・アミノ酸は次のように表示されます。



7.3. パラメータを変更して再解析する

- ①対象の解析を選択します。
- ② メニューの「Analysis→Analysis」を選択します。

File(F)	Analysis(A)	Preferen	
🞽 🔒	Analysis	(A)	
FileView			
⊟- 110609_GCC3ul01 gly È- 080424RNase_Pronase25_GCC3 È <mark>analysis1</mark>			

③解析パラメータ設定画面が開きます。以降は通常の解析と同様です。

【注意】再解析すると対象の解析に手動でアサイン、FIX した同定情報は消えてしまいま す。解析結果や手動でアサイン、FIX した情報を残して新しい解析を行いたい場合 は FileView のデータ名(上から2階層目)を右クリックし「Add Analysis」を選 択してください。



7.4. 解析名の変更

FileView で解析名を選択し、右クリックから"Rename"を選択すると、解析名が編集可能になります。

	()
i 💕 🛃 🕨 🞯	
FileView	· · · ·
en 080424RNase_Pronase in 080424RNase_Pro in analysis	25_GCC3ul0 ase25_GCC3 Rename Set Default Delete Show Parameters

7.5. 実行した解析パラメータをデフォルト値として保存する

FileView で解析名を右クリックし、"Set Default"を選択してください。

F	File(F)	Analysis(A)	Preference(P)	Hel
i 💕 (0		
FileV	/iew			
⊡ 08	0424RNas 080424F <mark>anal</mark>	se_Pronase25_G Nase_Pronase2 /sis1 Rer Set Del Sho	CC3ul0 5_GCC3 ame Default ete	

尚、再びインストール時のデフォルト値に戻したい場合はメニューの「Preference」→ 「System Properties」で Properties ダイアログを開き、各タブにある「Restore Defaults」 ボタンをクリックし、最後に「OK」で保存してください。

7.6. 解析結果の削除

FileView で解析名を右クリックし、"Delete"を選択してください。



7.7. パラメータの確認

FileView で解析名を選択し右クリックし"Show Parameters"を選択してください。



7.8. スキャン数・検出数の確認



前項の"Show Parameters"で表示される画 面を下にするロールすると、「スキャン数」「検 出数」「検出されたスキャン No.」を確認できま す。

7.9. ファイルのClose



FileView でファイル名を選択し、delete キーを押下 するとそのファイルが閉じます。

8. グラフの操作

8.1. ツールバー

GLYFINTMS - [GraphView [0804	424RNase_Pronase25_GCC3ul01.gly : analysis2]] ッールバー
🖷 File(F) Analysis(A) Prefe	rence(P) Help(H)
i 🖻 🔒 🕨 🞯	
FileView	
E 080424RNase_Pronase25_GCC3ul0 Development = 080424RNase_Pronase25_GCC3 analysis 1 analysis2	Up down default
	P 100 9 50 9 3.49 8.72 14.04 17.17 20.5
	Transformer 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1

ボタン	機能	ショートカットキー
">"	スキャン番号を1つ増加させ、表示中の全てのクロマト	右矢印キー
	グラムを該当するスキャングループ(※)の情報に再描	
	画します。	
">>"	スキャン番号を1つ後ろの同定済ピークが存在するスキ	Ctrl+右矢印キー
	ャン番号まで増加させ、表示中の全てのクロマトグラム	
	を該当するスキャングループの情報に再描画します。	
"<"	スキャン番号を1つ減少させ、表示中の全てのクロマト	左矢印キー
	グラムを該当するスキャングループの情報に再描画しま	
	す。	
"<<"	スキャン番号を1つ前の同定済ピークが存在するスキャ	Ctrl+左矢印キー
	ン番号まで減少させ、表示中の全てのクロマトグラムを	
	該当するスキャングループの情報に再描画します。	
	全てのクロマトグラムをデフォルトの表示に戻します。	
	スキャン番号は先頭の番号に戻ります。	

※スキャングループ: MS1 スキャン中のプリカーサーイオンから得られた多段回のスキャン(MS2~MS4)

を1 グループとして扱い同時に表示します。この1 グループのデータをスキャングル ープと呼んでいます。

8.2. 表示領域(X軸・Y軸)の拡大

各クロマトグラム上で、マウスの左ボタンを押下しながらマウスで領域を指定すると、指 定した領域をX軸・Y軸共に拡大表示します。



8.3. Relative Abundance (Y軸)の拡大・縮小

各クロマトグラムの"up"ボタン(又はキーボードの↑キー)を押すと、Y 軸(Relative Abundance)が 1000 倍(0.1%)まで拡大表示されます。"down"ボタン(又はキーボード の↓キー)を押すと逆に縮小し 100%表示まで戻せます。

8.4. 表示を初期状態に戻す

default ボタンを押すと拡大表示が最初の状態に戻ります。

- 9. アサインする(糖・アミノ酸の手動検出)
- ① 解析の対象としたい任意のクロマトグラムを表示します。
- ② assign ボタンをクリックします
- ③ 2つのピーク間をドラッグします
- ④ 2つのピーク間の差の m/z に対応する糖・アミノ酸があれば、その名前が自動的に表示されます。



- 10. アサイン情報の削除
- ① assign ボタンを押した状態にします。
- ② 削除したいアサイン情報(線)をクリックで選択します。まとめて削除したい場合は Ctrl ボタンを押しながら複数選択又は「Ctlr キー+A キー」で全て選択します。



③ delete キー又は BackSpace キーを押します。

11. 糖・アミノ酸の Fix (採用)

- ① 「assin」ボタンを押します。
- ② 仮同定した糖・アミノ酸の線を右クリックします(線の両端に〇が付きます)。
- ③ 「fix」を選択します。

※「fix」された糖鎖は、選択・削除することはできません。

12. 保存・ファイル出力

12.1. 解析結果の保存

① 解析結果を保存したいファイル名を FileView で選択します。

② 保存ボタン又は File メニューから Save (Save As) をクリックします。

解析結果の保存ファイルはインプットファイルと同じフォルダへ拡張子がglyに変化して 作成されます。既に同じ名前のglyファイルがある場合は自動的に上書きします。

1つのインプットファイルに対して複数の解析を実施した場合は全ての解析結果が一つの ファイルに保存されます。

保存場所を指定しない場合、保存ファイルはインプットデータと同じフォルダに作成され ます。

12.2. 別名で保存

① FileView で保存対象のgly ファイルを選択します。

- ② メニューの「File」-「Save As」を選択します。
- ③ ファイルダイアログでファイル名を変更して保存します。

12.3. HTML形式で保存(Export)

解析結果を HTML 形式で Export すると GlyfinTMS をインストールしていない PC でも 解析結果の参照や一部の操作ができます。また、出力した HTML ファイル群をウェブサー バの公開フォルダに置き解析結果を共有する事も可能です。

※HTML形式への Export は自動でアサインされたデータ及びアサイン後に Fix したデー タのみが出力対象となります。

12.3.1. HTML形式へのExport手順

- ① FileView で解析結果を選択します。
- ② メニューから「File→Export→画面サイズ (解像度)」を選択します。

File(F)	Analysis(A)	Preference(P)	Help	(H)
Ope	en(O)			
Ope	en MALDI-TOF/	MS Data(M)		
Clos	se(C)			
Sav	ve(S)			
Sav	e As(A)			
Exp	ort(E)	•		1680×1050
Exit	-(X)		-	1600×1024
	.(//)			1280×1024
				1024×768
				800×600

③ HTML 形式のファイル群を保存するフォルダを指定します。

フォルタの参照	X
~	
Application	^
🛛 📙 BurkerTest	
D UDA	
b U cygwin	
🌗 data	
🛛 🖟 Glyfin	-
新しいフォルダの作成(M) OK キャンセ	2JL

④ OK を押すと Export 処理が始まります。

※画面サイズが大きい程 Export に時間がかかります。環境により数分かかる場合もあります。

以上により、解析結果が HTML と画像ファイルで出力されます。

12.3.2. HTML形式でExportした解析結果の表示

- ① Export したフォルダの中にある「index.html」をダブルクリックし、ブラウザで開き ます。
- ② ActiveX コントロールへの警告が出る場合は許可を行なってください。

③ グラフが表示されます。グラフ表示は上下2段で固定され、上段は GlyfinTMS 本体と 同じく MS1 の BPC を表示し、下段は MS1~MS4 の各スキャンで得られたクロマト グラムが自動的に切り替わって表示されます。

※対応するブラウザは1章の「基本動作環境」をご覧下さい。

12.3.3. HTML形式でExportした解析結果の操作

部品の操作方法は次の通りです(GlyfinTMS本体と異なります)。

画面部品	機能
>	次のスキャン番号へ移動します。
<	前のスキャン番号へ移動します。
\geq	同定済ピークが存在する次のスキャン番号まで移動しま す。
<<	同定済ピークが存在する前のスキャン番号まで移動しま す。
Sel >	Set myselect ボタンでマーキングした次のスキャン番号に 移動します。
< Sel	Set myselect ボタンでマーキングした前のスキャン番号に 移動します。
© MS1 ● MS2 © MS3 © MS4	選択した MsLevel で下段のグラフを固定します。

<上段 (BPC) のグラフ>

<下段 (MS1~MS4 の何れか) >

ボタン	機能
Set myselect	下段のグラフに手でアサインした情報を仮保存(ブラウザを開い
	てる間のみの保存)し、同時に上段のグラフの該当するスキャン
	番号へ青線でマーキングします。
Save myselect to text	Set myselect で仮保存したアサイン情報(テキスト)とマーキン
	グしたスキャン番号を子画面に表示させます。子画面に表示され
	たテキスト情報をコピーして save.js ファイルに貼付け保存する
	ことでアサイン情報及びマーキング情報を保存できます。
Delete MW-line	ユーザが HTML 上で取り付けた表示中のアサイン情報を全て消
	去します。
Remove select	表示中のスキャン番号のマーキングを消去します。
Remove all myselect	全てのマーキングを消去します(手で付けたアサイン情報は消え
	ません)。

12.3.4. HTML形式でExportした解析結果へのアサイン

GlyfinTMS 本体では「assign」ボタンを押してからドラッグすることでアサインできます が、HTML 形式で Export したグラフではドラッグするだけでアサインできます (但し FIX はできません)。

アサインで引いた線は、その線をもう一度クリックすると削除できます。

12.4. クロマトグラム中のピーク情報の保存

クロマトグラム中のピーク情報(数字)をクリップボードへコピーする機能を利用し、テ キストエディタや表ソフトなどに貼りつける事ができます。

表示されている全てのク	任意のグラフのウィンドウ内で右クリックし、「export→
ロマトグラム中のピーク	info-all→clipboard」を選択してください。
情報をコピーする	
1 つのクロマトグラム中	コピー対象とするグラフのウィンドウ内で右クリックし、
のピーク情報をコピーす	「export→info-selected→clipboard」を選択してくださ
3	٧٠

<クリップボードにコピーされる情報>

1行目	ファイル名
2行目	FilterLine の情報(MS グラフの場合)
3行目	Retention Time(MS グラフの場合)
4行目	スキャン番号(MS グラフの場合)
5 行目	ピーク数
6行目	区切り文字
7行目以降	各ピークの m/z 値と Intensity 情報

<コピーされた情報の貼付け例>

StdGlyco.gly	
FilterLine:FTMS	S + c NSI Full ms [700.00-2000.00]
RT:594.006	
Scan #:638	
PeakCount:1291	
Mass	Intensity
700.6121	320.5734
700.9877	380.1582
701.41 276.254	
701.4232	301.1366

12.5. クロマトグラム画像出力

表示されている全てのク	任意のクロマトグラムのウィンドウ内で右クリックし、
ロマトグラムのイメージ	「export→image-all→clipboard」を選択してください。
を出力する	
1 つのクロマトグラムの	出力対象とするクロマトグラムのウィンドウ内で右クリ
イメージを出力する	ックし、「export→image-selected→clipboard」を選択し
	てください。

画像を出力する際にはファイルダイアログで画像ファイルの形式 (PNG 形式か PostScript 形式か)を選択できます。

13. その他の右クリックメニュー

13.1. BPCグラフでの右クリックメニュー

13.1.1. ピークの差分表示

右クリックメニューで「difference」を選択すると、選択中のピークを基準に、そのピ ークとの差分がピークのラベルに表示されます。

13.1.2. 陰イオンモード/陽イオンモードの切り替え

メニューで「Base Peak→MsLevel→Polarity」を選択すると、BPC を描画する際に用 いるベースピークを抽出する MsLevel と Polarity (陰イオンモード又は陽イオンモー ド)を変更できます。

	difference						
	export	•					
~	Base Peak	•	~	MsLevel 1	►	~	Polarity +
	Total Ion Current	×		MsLevel 2	►		Polarity -
	SelectMS		-				Polarity +/-

同様に、「Total Ion Current→MsLevel→Polarity」を選択すると、1段目のクロマト グラムを BPC から TIC に変更し、描画する際に用いる MsLevel と Polarity を変更で きます。

	difference export	•			
~	Base Peak	►			
	Total Ion Current	•	MsLevel 1	•	Polarity +
	SelectMS		MsLevel 2	۲	Polarity -
_					Polarity +/-

13.1.3. ピーク検索

検索対象の m/z の範囲と msLevel、polarity を指定すると、それらの条件に一致する スキャンデータを検索・クロマトグラムを表示します。

- ① BPC グラフのウィンドウ内で右クリックします
- ② 「SelectMS」を選択します。

③ 開いた画面で検索条件(m/z の範囲、MSLevel、polarity)を指定します。m/z の範囲(From と To)については To を省略すると To には自動的に+0.5 された値が入ります。

SelectMS
TIC
range: 450 - 2000 m/z
MSLevel V MS3 V MS4
polarity ◎ + ◎ - ◎ ±
OK Cancel

④ OK ボタンで検索が始まり、結果がグラフ表示されます。結果表示の状態を解除し元のグラフ表示に戻したい場合は(2)で ON にした「SelectMS」のチェックを OFF にしてください。

13.2. MSのグラフでの右クリック→メニュー

MSのグラフで右クリックすると以下のようなメニューが表示されます。

13.2.1. ピークの差分表示

メニューで「difference」を選択すると、選択されたピークを基準にして、そのピーク との差分が各ピークのラベルに表示されます。

13.2.2. 自動検出された糖鎖を表示する数

※このメニューは MS2 以上のグラフでのみ選択できます

「number of identified chain」では自動検出された糖鎖をグラフに(上から)いくつ 表示するかを指定できます。

NumOfIdertifiedChainFo
Number Of Identified Chain 5 🚔
OK Cancel
<u>н</u>

14. システムプロパティ設定

メニューから「Preference \rightarrow System Properties」を選択すると、Properties ダイアログ が表示されます。このダイアログで各種パラメータのデフォルト値を設定します。

2.3 m						
	aximun cai	ndida	ate pea	aks		2
				_		
er of peaks	5	<		90		
nge of m/z	645					
tolerance	1.2					
num length	4					
ified peaks	5	<		45		
ence of m/z	645					
e of major	50	%				
intensity	40					
ge 📝 1+ [V 2+ [3	+			
r of minor	3					
	er of peaks [nge of m/z] tolerance [num length] ified peaks [ence of m/z] e of major [intensity] ge 1+	er of peaks 5 nge of m/z 645 tolerance 1.2 num length 4 ified peaks 5 ence of m/z 645 e of major 50 intensity 40 ge I+ V 2+	er of peaks 5 < nge of m/2 645 tolerance 1.2 num length 4 ified peaks 5 < ence of m/2 645 e of major 50 % intensity 40 ge 1+ 2+ 3	er of peaks $5 <$ nge of m/z 645 tolerance 1.2 num length 4 ified peaks $5 <$ ence of m/z 645 e of major 50% intensity 40 ge 1 + 2 + 3 +	er of peaks $5 < 90$ nge of m/2 645 tolerance 1.2 num length 4 ified peaks $5 < 45$ ence of m/2 645 e of major 50% intensity 40 ge 1+ 22 + 3+	er of peaks $5 < 90$ nge of m/z 645 tolerance 1.2 num length 4 ified peaks $5 < 45$ ence of m/z 645 e of major 50 % intensity 40 ge $1+ \sqrt{2} + \sqrt{3} + \sqrt{2}$

Properties ダイアログ

14.1. 同定関数のデフォルト値の設定

Properties ダイアログから Function タブを選択します。以下のような画面が表示されます。 解析で使用する同定関数のパラメータのデフォルト値を設定します。Restore Defaults ボタ ンを押下すると、システムのデフォルト値が表示されます。

-Filtering					
Paramete	er				
width	23 r	maximun car	ndida	ate peaks	2
_Identification					
Paramete	er		,		
	munder of peaks	0	`	90	
	range of m/z	040			
	tolerance	1.2			
	minimum length	4			
munber o	f identified peaks	5	<	45	
	difference of m/z	645			
	rate of major	50	%		
	intensity	40			
	_charge	40			
	☑ 1+	2+	3	+	
maximun	number of minor	3			
	result top	5			

Properties ダイアログの Function タブ

各項目のデフォルト値については「7.1. パラメータの設定~解析の実行」をご覧ください。

14.2. 同定関数の単糖の設定

Properties ダイアログから Mass Data タブを選択します。以下のような画面が表示されま す。解析で使用する同定関数の単糖のデフォルト値を設定します。Restore Defaults ボタン を押下すると、システムのデフォルト値が表示されます。

Tupotio	Sequences Conv m Mass Data (verter General	Identification	Tur	
unctio		amino Mass Data	Identification	гтур	6
	Туре	Mass	major/mino	or	Color 1+
۱.	Hex	162.2	major	-	
	HexNAc	203	major	-	
	Bac	228	minor	-	
	Pent	132	minor	-	
	DHex	146.16	minor	-	
	NeuNAc	291.28	minor	-	
*				-	
•		III			,
۲ 🗆		III Resto	ore Defaults		Apply

Properties ダイアログの Mass Data タブ

谷卑惦頂報のシベノムノノオル下値	Ĩ
------------------	---

Туре	Mass	major/minor	Color
Hex	162.2	major	Green
HexNAc	203	major	Green
Bac	228	minor	Green
Pent	132	minor	Green
DHex	146.16	minor	Green
NeuNAc	291.28	minor	Green

14.3. 手動アサインで使用するアミノ酸の設定

Properties ダイアログから Amino Mass Data タブを選択します。以下のような画面が表示 されます。手動アサインで使用するアミノ酸のデフォルト値を設定します。Restore Defaults ボタンを押下すると、システムのデフォルト値が表示されます。

	Туре	Mass	Color	-
•	Gly	76.07		
	Ala	90.1		
	Ser	106.1		
	Pro	116.14		
	Val	118.15		
	Thr	120.13		
	Cys	122.17		-
	Ile/Leu	132.18		
	Asn/Orn	133.13		
	Asp	134.11		
	Lys/Gln	147.17		
	Glu	148.14		
	Met	150.22		
	His	156.16		
	Phe	166.2		
	Arg	175.21		-
•				•
		Restore Defaults	Apply	

Properties ダイアログの Amino Mass Data タブ

Туре	Mass	Color
Gly	76.07	Red
Ser	90.1	Red
Pro	116.14	Red
Thr	120.13	Red
Cys	122.17	Red
Ile/Leu	132.18	Red
Asn/Orn	133.13	Red
Asp	134.11	Red
Lys/Gln	147.17	Red
Glu	148.14	Red
Met	150.22	Red
His	156.16	Red
Phe	166.2	Red
Arg	175.21	Red
Tyr	182.2	Red
Trp	205.2	Red

<手動アサインで使用するアミノ酸のシステムデフォルト値>

14.4. 検出したピークの色の設定

Properties ダイアログから Identification Type タブを選択します。 この画面では糖鎖を検出した BPC グラフのピークの色のを設定します。

	Properties
	<u> </u>
	Reject Sequences Converter General
	Function Mass Data Amino Mass Data Identification Type
-	Color Of Peaks All Continuity Discontinuity Fix
	Restore Defaults Apply
	OK Cancel

Properties ダイアログの Identification Type タブ

Restore Defaults ボタンを押下すると、システムのデフォルト値が復元されます。

Type	説明	デフォルト値
All	全ての MsLevel で糖鎖が同定されているもの。	Red
Continuity	全てのレベルで検出されてはいないが、MsLevel2 から連	Green
	続して検出されているもの。	
Discontinuity	同定したレベルがあるが、連続していない場合。	Blue
Fix	Fixされているもの。	Orange

14.5. 検出する糖鎖の配列から除外する配列の設定

検出した糖鎖配列で、糖鎖の配列としては適当でないと思われる糖鎖配列をあらかじめ設 定し検出結果から除外します。major な糖を"O"(アルファベットのオー)、minor な糖を "X"(アルファベットのエックス)で表わし正規表現(※)で、各カラムに記述します。 Restore Defaults ボタンを押下すると、システムのデフォルト値が表示されます。

(※)正規表現とは「パターンにマッチする文字列」を表現する方法です。

Reject Sequences `OOXXX[0]{1}\$ `OXXX(0){1}\$ `OXXX0\$ `OXXX0\$ `OXXX0\$ `OXXX0\$ `OXXX\$ `OXXX\$ </th <th>uncti eject</th> <th>ion Mass Data Amino Mass Data Identification Type t Sequences Converter General </th> <th></th>	uncti eject	ion Mass Data Amino Mass Data Identification Type t Sequences Converter General	
COOXX(0)(1)8 Image: Coox (0)(1)8 COXXX(0)(2)8 Image: Coox (0)(2)8 COXXX(0)(2) Image: Coox (0)(2)8 COXXX(0)(2) Image: Coox (0)(2)8 COXXX(0)(2)8 Image: Coox (0)(2)8 COXXX(0)8 Image: Coox (0)(2)(2)8 COXXX(0)8 Image: Coox (0)(2)(2)(2)(2)(2)(2)(2)(2)(2)(2)(2)(2)(2)		Reject Sequences	-
○XOXX\$ ○XOXX(DX)\$ ○XXXX\$ ○XXX\$ >XXX\$ >XXX\$ >XXX\$ >XXX\$ >XXX\$ >XXX\$ >XXXX\$ >XXXX\$ >XXXX\$ >XXXX\$ >XXXX\$ >XXXX\$ >XXXX\$ >XXXX\$ >XXXX\$	•	^00XXX[0]{1]\$	Π
``○XOX(E)X(\$ ``OXXO\$ ``OXXXO\$		°0x0xx\$	
``0>0000\$ ``0>0000\$ ``0>000\$ ``0>000\$ ``00000\$		^OXOXX[OX]\$	
``OXXOX\$\$ ``OXXOX\$ ``OXXOX\$ ``XXXOX\$ ``XXXOOX\$ ``XXXOX\$ ``XXXOX\$ ``XXXOX\$ ``XXXOX\$ ``XXXOX\$ ``XXXOX\$ ``XXXOX		°0XX0\$	-
````````````````````````````````````		°0XX0X0\$	
`>xx(xo]+xxx\$           `>xxxxo]           `>xxxxo]           `>xxxxo]           `xxxxo]           `xxxo]           `xxxxo] </td <td></td> <td>°0xxx\$</td> <td></td>		°0xxx\$	
>>>>>>>>>>>>>>>>>>>>>>>>>>>>>>>>		`XX[X0]+XX\$	
Two:     O(0)       O(0)     O(0)       III     III         Restore Defaults     Apply		XXX0\$	-
C(OXX)[2.]		`XXX00X\$	-
Restore Defaults Apply		0(0)(2)	
Restore Defaults Apply			
	•	• • • • • • • • • • • • • • • • • • •	

Properties ダイアログの Reject Sequences タブ

Reject Sequence の正規表現にマッチするパターンの説明

No	配列	説明
1.	^OOXXX[0]{1}\$	(先頭)major-major-minor-minor-major(末端)
2.	^OXOXX\$	(先頭)major-minor-major-minor-minor(末端)
3.	^OXOXX[OX]\$	(先頭)major-minor-major-minor-(major 又は minor)(末端)
4.	^OXXO\$	(先頭)major-minor-major(末端)
5.	^OXXX\$	(先頭)major-minor-minor(末端)
6.	^XX[XO]+XX\$	(先頭)minor-minor-(minor 又は major が 1 回以上)-minor-minor(末端)
7.	^OXXOXO\$	(先頭)major-minor-major-minor-major(末端)
8.	^XXXO\$	(先頭)-minor-minor-major(末端)
9.	^XXXOOX\$	(先頭)minor-minor-major-major-minor(末端)
10.	O(OXX){2,}	major-(major-minor-minor に2回以上)
11.	O+XXO+XX	(major が 1 回以上)-minor-minor-(major が 1 回以上)-minor-minor
12.	OOOX{3,}\$	major-major-(minor が3回以上)(末端)
13.	OOX{3,}\$	major-major-(minor が3回以上)(末端)
14.	OOXOX{2,}\$	major-major-minor-major-(minor が2回以上)(末端)
15.	OXXOX{1,}	major-minor-major-(minor が1回以上)
16.	XOOX{2,}\$	minor-major-major-(minor が2回以上)(末端)
17.	XOX{2,}	minor-major-(minor が 2 回以上)
18.	XOXOX{2,}	minor-major-minor-major-(minor が2回以上)
19.	XOXXOX{1,}\$	minor-major-minor-major-(minor が1回以上)(末端)
20.	XXOX[O]*\$	minor-minor-major-minor-(major が 0 回以上)(末端)
21.	XXXO[OX]\$	minor-minor-major-(major 又は minor)(末端)
22.	XXXOX[OX]\$	minor-minor-major-minor-(major 又は minor)(末端)
23.	X{4,}	minor が 4 回以上

## 14.6. 各社データに対応するConverterの設定

Properties ダイアログから Convert タブを選択します。以下のような画面が表示されます。 データに対応する変換ツールの設定をします。Restore Defaults ボタンを押下すると、シス テムのデフォルト値が表示されます。

🕂 Properti	Properties				
Function Reject Se	Mass Data Amin quences Converte	Mass Data Ident General Licens	ification Type	•	
	Tool	Path	FileType		
•	ReAdW	ReAdW	RAW		
	massWolf	massWolf	RAW		
	mzWiff	mzWiff	wiff		
MAL	MALDI-TOM/MS Data cutoff 500 Intensity				
		Restore Defau	lts A	apply	
		OK Cance			

Properties ダイアログの Convert タブ

Tool に変換ツールの名称、Path に変換ツールのパス、FileType にデータファイルの拡張子を指定します。

<変換ツールデフォルト値>

Tool	Path	FileType
ReAdw	ReAdw	RAW
massWolf	massWolf	RAW
mzWiff	mzWiff	wiff

## <MALDI-TOF/MS 欄>

cutoff	MALDI-TOF/MS のデータを変換する時の強度のカットオフ値。
	デフォルト値は intensity 500。

## 14.7. その他の設定

Properties ダイアログから General タブを選択します。以下のような画面が表示されます。

👬 Properties 📃 🗆 📼	3
Function Mass Data Amino Mass Data Identification Type Reject Sequences Converter General License	
Save autosave∶every δ0 ( minutes	
Restore Apply	
OK Cancel	

Properties ダイアログの General タブ

Туре	説明	デフォルト値
auto save	解析結果を自動保存する間隔を分で指定します。	60(分)
	自動保存しない場合は0を指定してください。	

## 15. メニューとツールバー

15.1. File(F) メニュー

メニュー名	キー	説明
File(F)	alt +f	File メニューが表示されます。

File(F)	Analysis(A)	Preference(P)	Η
Ope	en(O)		Ì
Ope	en MALDI-TOF/	/MS Data(M)	t
Clos	se(C)		I
Sav	ve(S)		I
Sav	ve As(A)		I
Exp	ort(E)	•	I
Exit	:(X)		

メニュー名	キー	説明
Open(O)	shift +o	ファイル選択ダイアログを表示し、選択され
		たファイルを開きます。
Open MALDI-TOF/MS	shift +m	MALDI-TOF/MS のデータを読み込む時に選
Data(M)		択します。
Close(C)	shift +c	現在カレントになっているファイルを閉じま
		す。
Save(S)	shift +s	現在カレントになっているファイルを gly 形
		式で上書き保存します。
Save As(A)	shift +a	現在カレントになっているファイルを gly 形
		式で、別名で保存します。
Export(E)	shift +e	現在カレントになっているデータを HTML
		形式で出力します。
Exit(X)	shift +x	プログラムを終了します。

## 15.2. Analysis (A) メニュー

,		
メニュー名	+-	説明
Analysis(A)	alt +a	Analysis メニューが表示されます。

![](_page_47_Picture_2.jpeg)

メニュー	サブメニュー	説明
Analysis(A)	shit+a	同定処理のパラメータを設定するダイアログ
		が表示されます。

## 15.3. Preference(P) $\checkmark = = = =$

メニュー名	キー	説明
Preference(P)	alt +p	Preference メニューが表示されます。

Preference(P) Help(H) System Properties(P)

メニュー	サブメニュー	説明
System Properties(P)	shift +p	システムのデフォルト値を設定するダ
		イアログが表示されます。

## 15.4. Help(H)メニュー

メニュー名	キー	説明
Help(H)	alt +h	Help メニューが表示されます。

Help(H) Help(H) About Glyfin(I)

メニュー	サブメニュー	説明
Help(H)	shift +h	Help が表示されます。
About GlyfinTMS(I)	shift +i	GlyfinTMS のバージョン情報が表示さ
		れます。