

MassChroViewer マニュアル

2021 年 12 月 2 日

目次

はじめに	1
ライセンス	2
動作環境	2
基本的な使い方	3
起動・終了	3
Windows の場合	3
Mac OS、Linux の場合	4
mzXML または mzML 形式のファイルの準備	4
データファイルを開く・閉じる	5
2D 画面の基本操作	7
2D ウィンドウの同期	7
2D ウィンドウの整列（同期グループの整列）	9
2D ウィンドウの自動整列（全ウィンドウ）	10
数値設定による表示領域の変更	11
Location サブパネル	11
<i>m/z</i> シフトの設定	11
Range サブパネル	13
表示領域の一時記録	13
Range List サブパネル	13
ピークリストの読みこみ・編集	14
ファイルフォーマット	14
ピークファイルを開く	16
ピークファイルを保存する	17
プロジェクトの保存・読み込み	18
プロジェクトを保存する	18
プロジェクトを読み込む	18
ピークテーブルの操作・編集	19
選択したピーク周辺を 2D ウィンドウに表示	20
<i>m/z</i> シフトの倍率変更	20
Check、Valid の編集	21
ピーク位置を 2D ウィンドウに表示	22
2D ウィンドウからピークを選択する	23
コメントの編集	23

アダクトの編集.....	24
ピークの追加と削除.....	24
その他のピークテーブルへの操作.....	25
ピークテーブルのソート.....	25
ピークの検索.....	25
ピークの一時的記憶.....	26
<i>m/z</i> 表示幅の簡単な変更.....	26
マスルーラーの設定.....	27
マスルーラーの表示・非表示.....	27
ルーラーのカスタマイズと反映.....	28
MS2Viewer 機能.....	29
MS2Viewer の起動.....	30
別の起動方法.....	31
基本操作.....	32
2D View の基本操作.....	32
プリカーサーイオンの表示.....	32
プリカーサーの選択.....	32
MSn スペクトルの閲覧.....	33
スペクトルデータをテキストでコピー/出力する.....	35
MassChroViewer との連携機能.....	36
特定のフラグメントを持つプリカーサーの検索.....	37
その他の機能.....	38
イオン強度の図示.....	38
指定領域を表示.....	39
その他の設定.....	40
データ読みこみ設定.....	40
2D View の描画設定.....	41
ルーラー設定.....	42
ウィンドウレイアウトの変更.....	42
その他のツール.....	42
Formula Calculator.....	43
組成式から質量値を計算 (Mass Calc タブ).....	43
組成式を単純にする.....	44
安定同位体の精密質量や天然存在比を調べる.....	44
精密質量のバッチ計算 (Batch タブ).....	44
質量値から組成式を計算する (Find Formula タブ).....	45

MFSearcher GUI	46
ツール間での連携.....	47
Mol Viewer	47
Fragment Calculator	49
FlavonoidSearch ツール	51
Check Indicator	53
その他の設定	54
データロード、描画の設定.....	54
adduct.ini ファイルのフォーマット	55
高度な使い方	56
各ツールを単体で起動したい。	56
トラブルシューティング	56
OutOfMemory エラー	56
公開論文	57
お問い合わせ先.....	57
参考文献	58

はじめに

MassChroViewer は、LC-MS のマスキロマトグラムの生データを 2D 表示することができる簡易ビューワーです。mzXML または mzML 形式のクロマトグラムファイルを開くことができます。下記のような特徴があります。

- イオン強度のコントラストを、マウスホイール操作で簡単に変更できるため、強度の強いピークから弱いピークまで、ピークの出現の様子をより良く観察できます。
- マスルーラー機能で、アダクト間、脱水ピーク間、同位体イオン間などでの質量差分や、質量差の絶対値を確認できます。ルーラーは柔軟にカスタマイズできます。
- 複数の分析データを並べて表示し、拡大・縮小・コントラストの変更などを同期させることができます。繰り返し実験の再現性や、キャリアオーバーの有無の確認など、分析条件の評価に役立ちます。
- データ解析後のピーク一覧を読み込んで、2D 画面上にオーバーレイできます。データ解析結果が妥当かどうかを評価するのに役立ちます。
- MS2Viewer 機能を使うことで、MS/MS 解析（多段階 MS 解析）がされている場合、どのプリカーサーイオンが CID されたかを確認することができます。MS_n 取得条件の至適化や、取得されたスペクトルの妥当性の評価に役立ちます。
- MFSearcher GUI 機能と連動しており、化合物データベース検索等による化合物推定を行えます。
- 候補化合物の構造式を表示して、部分構造の質量を確認できるので、MS/MS スペクトルの解釈に役立ちます。
- FlavonoidSearch GUI ツール (FsTool) と連動しており、MS2Viewer で閲覧しているスペクトルを直接 FlavonoidSearch で検索できます。
- 簡易分子量計算機能があります。
- ピークリストからピークを選択した際に、基準となる m/z から特定のマス差分をもつ領域を表示させることができます。同位体標識によるシフトの確認や、誘導体化試薬の基質特定などに役立ちます。

以上のように、分析やデータ解析の品質を評価したり、生データから化合物推定を行ったり、データ解析結果のマニュアルキュレーションに役に立つツールです。

MassChroViewer は以下のサイトから入手できます。

<http://www.kazusa.or.jp/komics/software/MassChroViewer/ja>

ライセンス

このソフトウェアは学術目的においてフリーでご使用になれます。
以下のライブラリーを使用しています。

ライブラリー	配布元	ライセンス
Jakarta Oro 2.0.8	https://jakarta.apache.org/oro/	Apache License 2.0
The Chemistry Development Kit (cdk-1.4.19), JChemPaint (blanch 3_2, svn revision 15623)	https://sourceforge.net/projects/cdk/ http://svn.code.sf.net/p/cdk/svn/jchempaint/	LGPL 2.0
DockingFrames 1.1.2	http://www.docking-frames.org/	LGPL 2.1
Base64 encoder/decoder (v.1.4)	http://iharder.net/xmlizable	Public domain

本ソフトウェアに含まれる FormulaCalculator.jar および flavonoidsearch.jar は、GNU Lesser General Public License, Version 2.1 (LGPL 2.1)のもとで配布されるオープンソースソフトウェアです。

動作環境

Java ランタイム環境 (64 bit 版、バージョン 1.7 以上) がインストールされた PC (64 bit, メモリ 4GB 以上推奨) が必要です。MFSearcher、Mol Viewer、Fragment Calculator の機能を使う場合は、インターネットに接続された環境が必要です。

お使いのコンピューターに Java (64 bit 版) がインストールされていない場合には、下記の URL に従ってインストールして下さい。

https://www.java.com/ja/download/help/download_options.xml

以下の OS 環境でテストしています。

Windows10 (64 bit)、Mac OSX 10.9.5 (64 bit)、CentOS 7.2 (64 bit)

※取り扱うデータによっては大きなメモリ容量を必要とします。トラブルシューティング

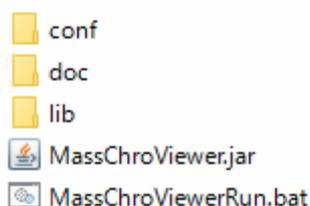
「OutOfMemory エラー」の項目にしたがって、Java が使用するメモリ容量を適宜設定してください。この設定は、大きなメモリを持つ PC を使っていても必要となります。

※Mac OS、Linux は、様々な環境でのテストが十分されていません。お気づきの点がありましたら、問い合わせ先までお問い合わせください。

基本的な使い方

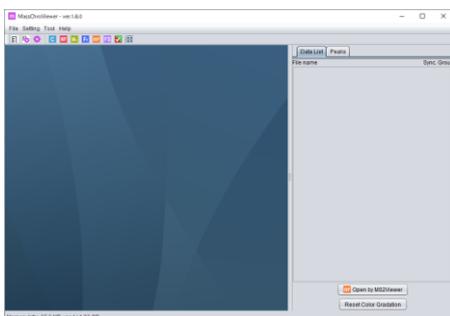
起動・終了

ダウンロードした zip ファイルを、ファイル解凍ソフトウェア（7zip 等）で解凍します。以下のファイルが生成されます。

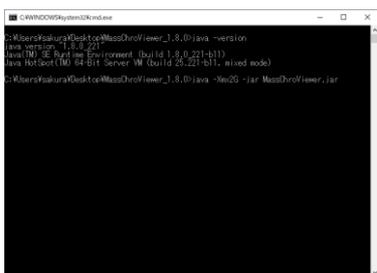


Windows の場合

MassChroViewerRun.bat をダブルクリックすると、ソフトウェアが起動します。MassChroViewer のメイン画面が表示されます。



※この際、下記のようなコンソール画面も同時に表示されます。この画面は、MassChroViewer の起動中に閉じないようにしてください（最小化は可能です）。右上の「×」ボタンを押して画面を閉じると、MassChroViewer 自体も終了してしまいます。

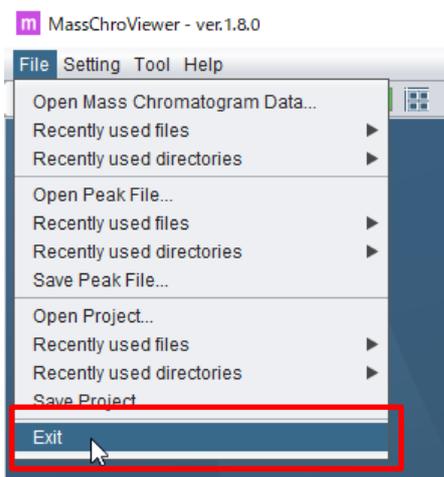


Mac OS、Linux の場合

ターミナルソフトを開き、ファイルを解凍したディレクトリに移動します。
以下のコマンドを入力します。

```
java -Xmx2G -jar MassChroViewer.jar
```

File メニューの **Exit** を選択するか、メイン画面の右上の「×」ボタンを押すことで、ソフトウェアが終了します。



mzXML または mzML 形式のファイルの準備

MassChroViewer では、mzXML 形式または mzML 形式に変換されたマスキロマトグラムデータを読み込むことができます。mzXML ファイルおよび mzML ファイルは、ProteoWizard ソフトウェアを使って、ベンダー各社のバイナリーファイルから作成するこ

とができます。ProteoWizard ソフトの入手および使用条件については、下記の URL をご参照ください。

<http://proteowizard.sourceforge.net/>

※ベンダーの制御ソフトウェアから直接書き出された mzXML、mzML ファイルや、その他の変換ソフトウェアで作成した mzXML ファイルは、MassChroViewer では開けない場合があります。

※ProteoWizard で変換したファイルでも、ベンダーと機種、ProteoWizard のバージョンによっては、正常に読み込めない場合があります。

※ThermoFisher Scientific 社のデータでは、ProteoWizard で mzXML を作成した場合に、以下の障害が確認されています。

- ・zlib 圧縮オプションを指定している場合、一部のデータが欠損する場合があります。ファイルサイズは大きくなりますが、zlib 圧縮を行わないことをお勧めします。

- ・ProteoWizard のバージョンによっては、MS3 以降が含まれるデータについて、プリカーサーイオンの強度がゼロとして出力されることがあります。ProteoWizard 3.0.7000 番台など、古いバージョンをお試し下さい。

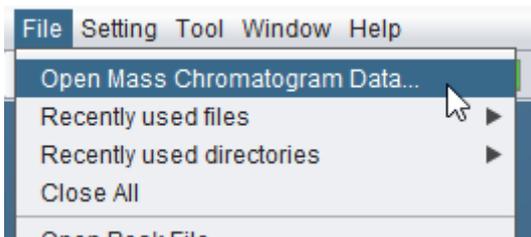
※Waters 社のデータでは、古いバージョンの ProteoWizard で変換した mzXML ファイルに、ロックマス補正した正しい質量値が反映されず、補正前のデータが書き出されることがあります。massWolf を使って変換することで、問題を回避できます。massWolf は下記 URL から入手可能です。

<http://tools.proteomecenter.org/wiki/index.php?title=Software:massWolf>

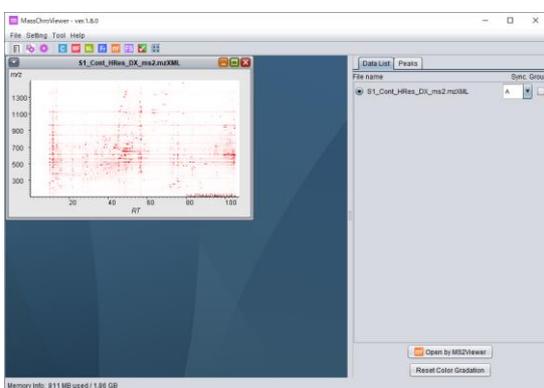
Waters 社のこの症状は、古いバージョンの ProteoWizard で起こり、現在(2018 年 11 月)では、ロックマス補正された正しいデータが出力されているようです。MassLynx で計測されているデータと照合してデータの精度を確認してから解析に用いることを推奨します。

データファイルを開く・閉じる

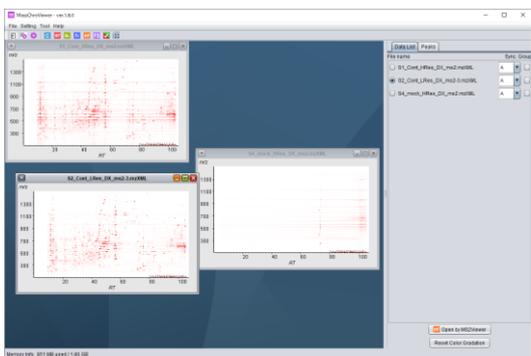
File メニューの Open Mass Chromatogram Data...を選択すると、ファイル選択ダイアログが開きます。ファイルタイプ (mzXML、mzML など) を選択し、開くファイルを選択してください。



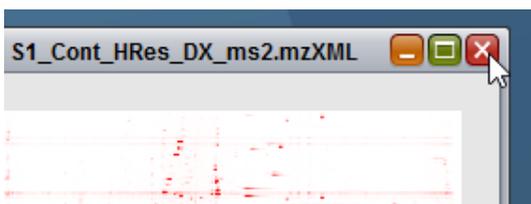
メイン画面の中央のサブウィンドウ (2D ウィンドウ) に、MS1 スキャンのマスキロマトグラムデータが 2D で表示されます。横軸が溶出時間 (分)、縦軸が m/z 値、赤いドットが検出されたイオンを示しており、イオンの描画の濃さが *intensity* を表します。



ファイルを開く操作を繰り返すことで、複数のファイルを同時に開くことができます。



それぞれのファイルを閉じるときは、2D ウィンドウ右上の「×」ボタンを押します。



Fileメニューの Close All を選択すると、すべての2D ウィンドウを閉じることができます。

2D 画面の基本操作

操作	マウス操作	備考
色の濃さの調整	CTRL + SHIFT + マウスホイールの回転	手前に回すと濃くなります。
選択範囲を拡大	マウス右ボタンでドラッグ	
全体表示に戻す	マウス右ボタンをダブルクリック	※1
拡大・縮小	マウスホイールの回転	手前に回すと縮小 ※1
移動	マウス左ボタンをドラッグ	※1
数値の取得	マウス左ボタンをダブルクリック	ダブルクリックした地点の m/z 値と溶出時間が、ルーラーの基準点の設定など、各種機能と連携します。

※1

拡大・縮小・移動の方向を、縦および横方向に固定することができます。

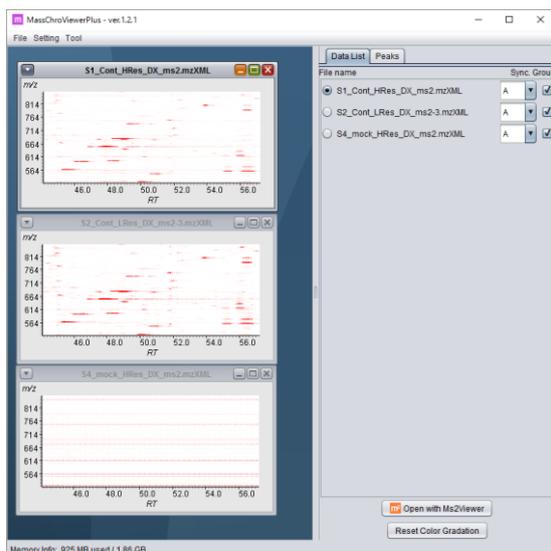
CTRL キーを押しながらマウス操作をすると、縦方向に固定されます。

SHIFT キーを押しながらマウス操作をすると、横方向に固定されます。

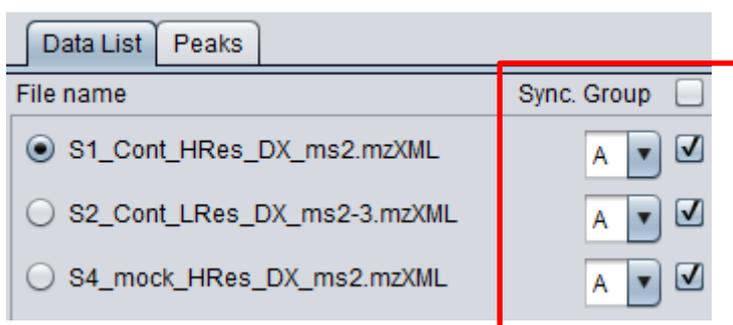
表示領域の変更は、コントロールパネルの Peaks タブで、数値を入力することによっても可能です。

2D ウィンドウの同期

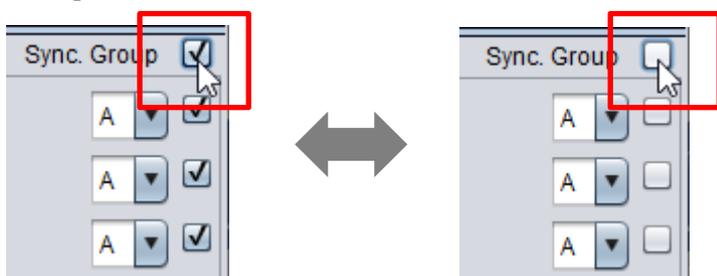
メイン画面右側にあるコントロールパネルの Data List タブには、開かれているデータが一覧されています。



Group のチェックボックスにチェックを入れると、Sync.で同じアルファベット (A~E) で示されたデータについて、2D ウィンドウが同期します。



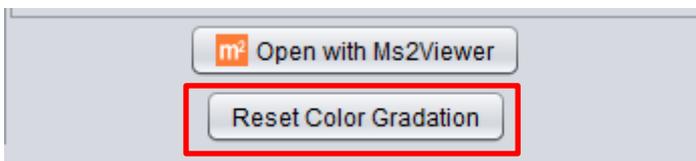
一番上のチェックボックスをオン・オフすると、現在アクティブのウィンドウと同じ Sync. Group に設定されたデータのチェックを一括してオン・オフできます。



同期する内容は、ウィンドウサイズの変更、表示領域の変更、表示濃度の変更です。

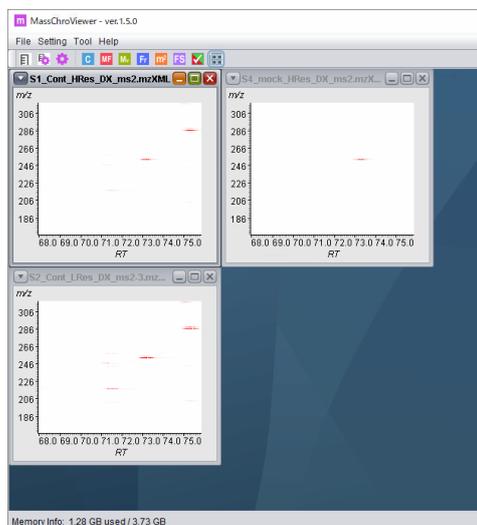
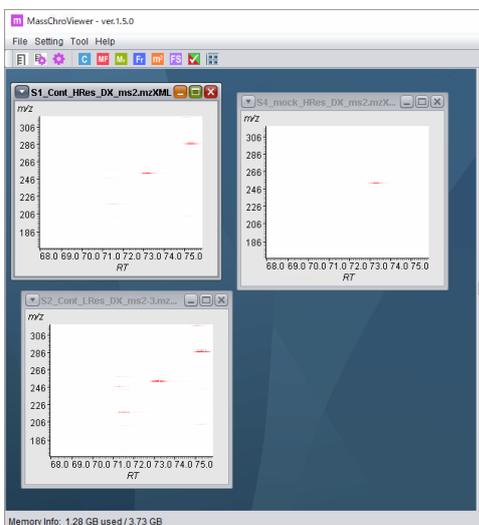
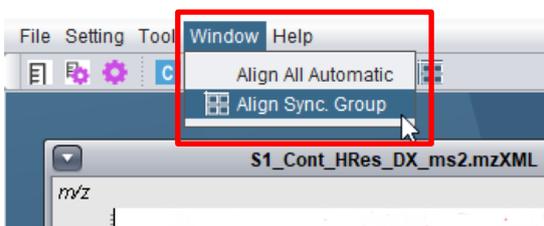
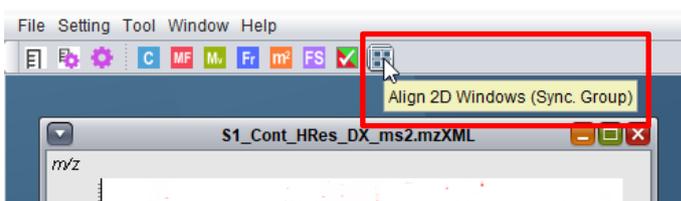
Data List タブの下部にある「Reset Color Gradation」ボタンをクリックすると、開いている全データについて、表示濃度がデフォルト状態 (絶対値 10,000,000 を最大強度とした表

示)に戻ります。後から追加したデータについて濃さの表示をそろえたい場合などに便利です。



2D ウィンドウの整列（同期グループの整列）

ツールバーの下記のアイコンをクリックするか、Window メニューの Align Sync. Group を選択すると、表示されている 2D ウィンドウを整列させることができます。



整列の対象となるのは、現在アクティブになっているウィンドウと同期しているウィンドウだけです。

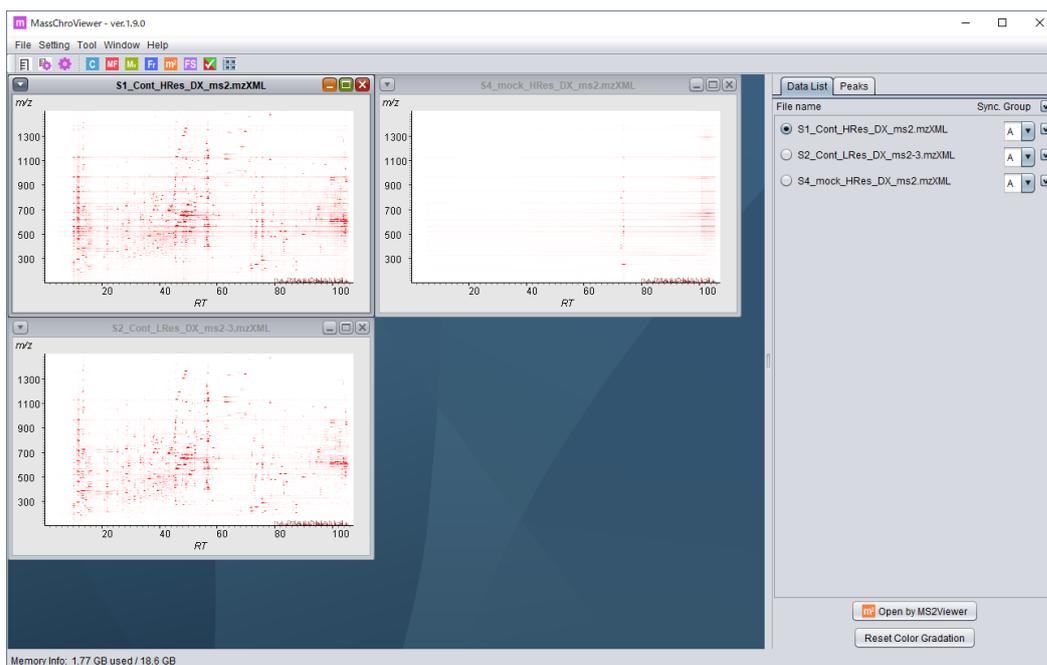
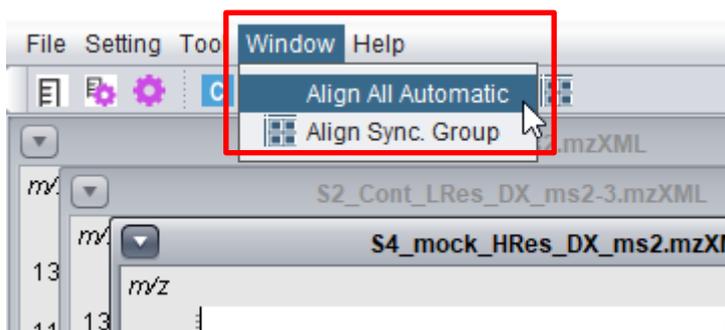
各ウィンドウは、現在の位置に最も近い整列位置に移動されます。

ウィンドウが、青い背景で示したデスクトップ領域の端に位置しており、整列によってデスクトップ領域外に完全に出てしまう場合は、そのウィンドウの移動は行われません。

2D ウィンドウの自動整列（全ウィンドウ）

Window メニューの **Align All Automatic** を選択すると、現在開いている全ての 2D ウィンドウについて、ファイルが読み込まれた順番に、左上から右下に向けて自動的に整列させます。

多数のファイルを開いたのち、すぐに一覧したい場合に便利な機能です。



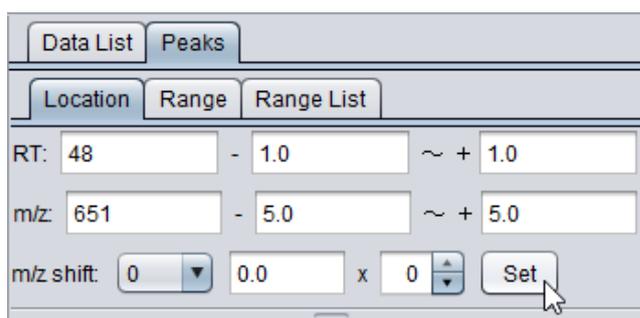
このとき、ウィンドウサイズは自動的にデフォルトの大きさ（450 x 300 ピクセル）に変更されます。ウィンドウが青い背景で示したデスクトップ領域に入りきらずはみ出してしまう場合には、一番左上のウィンドウに重なるように表示されます。

数値設定による表示領域の変更

決められた溶出時間（RT）と m/z の範囲を表示したい場合には、コントロールパネルの Peaks タブの Location、あるいは Range サブパネルを使って、数値入力で表示領域を変更できます。

Location サブパネル

表示の中心となる溶出時間（RT）と m/z の値、および、表示するプラスマイナスの範囲を設定します。「Set」ボタンを押すと、2D ウィンドウの表示領域が変更されます。



m/z シフトの設定

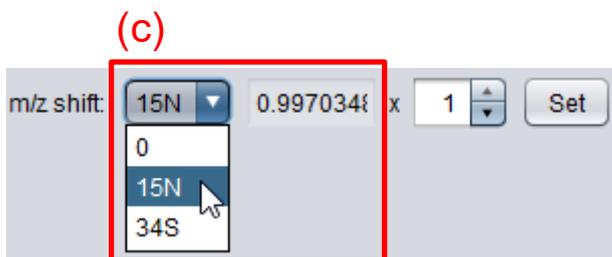
「 m/z shift」欄を設定すると、上記で設定された m/z 値に設定した質量を加減した領域を中心に描画が行われます。安定同位体ピークの存在を確認する場合などに便利です。

(a) 中央のテキストボックスに任意の数字を入力し、(b) 右のスピナーの▲/▼ボタンで、その倍率を設定します。



(c) 左のプルダウンメニューは、シフト量のプリセットです。0 意外を選択した場合、中央

のテキストボックスにはプリセット値が入力されます。



m/z シフトのプリセット値は、MassChroViewer の conf ディレクトリの「massShift.ini」ファイルで設定できます。ファイルをテキストエディターで開き、プルダウンメニューに表示される文字とプリセット値を、タブ区切りで記述します。設定を有効にするには、MassChroViewer を再起動してください。

```

0 |-----| 1
1 # label^shift
2 0^ 0
3 15N^0.9970348
4 34S^1.995795
5

```

m/z シフトの倍率は、後に説明するピークリストから、キーボード操作でも変更できます。

Shift + 左カーソル (矢印) キー	倍率を 1 上げる (注意)
Shift + 右カーソル (矢印) キー	倍率を 1 下げる (注意)
Shift + 数字キー (テンキーではなく、キーボード上部の数字キー)	倍率をその数字に設定する
Enter キー	倍率を 0 に戻して次のピークに移動する

※キーボード操作をするには、ピークリストが、入力を受け付ける状態 (アクティブ状態) になっている必要があります。キーボード操作が効かない時は、一度ピークリストのどこかの行をクリックしてアクティブ状態にしてください。

(注意) シフトを押さずにカーソルの左右キーを押すと、ピークの **Checked**、**Valid** のステータスが変わります。詳しくはピークリストの項目をご覧ください。

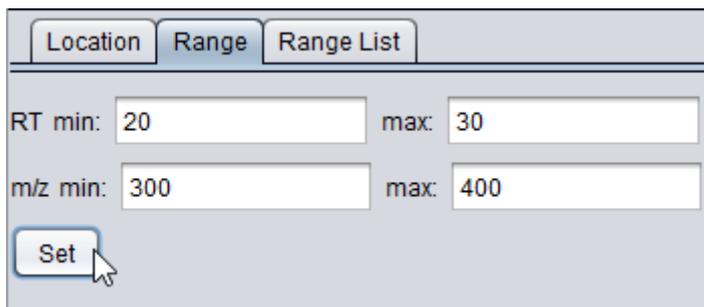
また、下記のキーボード操作で、ピークリストで現在選択されているピークのコメント欄に、倍率を記入できます。安定同位体ラベルによる元素個数の記録などに便利です。

Ctrl + Enter キー	コメント欄に現在の倍率値を記載します
Ctrl + Delete キー	コメント欄を空白にします
Ctrl + Shift + / (スラッシュ) キー	コメント欄に「?」を記載します

上記のキー操作をすると、現在のコメント内容は消えてしまいますのでご注意ください。

Range サブパネル

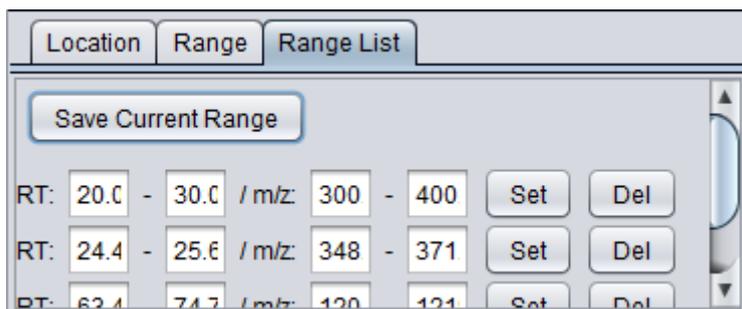
表示したい RT と m/z の最大値と最小値を入力して設定します。「Set」ボタンを押すと 2D ウィンドウの表示領域が変更されます。



表示領域の一時記録

Range List サブパネル

「Save Current Range」ボタンをクリックすると、現在の表示領域が一時的に記録され、Range List サブパネルにリスト表示されます。「Save Current Range」のクリックを繰り返すごとに、リストの下部に新たに追加されます。



記録リストの「Set」ボタンを押すと、その領域が 2D ウィンドウ上で表示されます。記録リストから削除するには「Del」ボタンを押します。

領域の記録は、MassChroViewer ソフトを終了すると破棄されます。

ピークリストの読みこみ・編集

ピークのリストを読み込ませ、ピークの溶出時間 (RT) と m/z の位置にマーカーを示すことができます。

読み込めるフォーマットは以下です。

- MassChroViewer のピークリストフォーマットファイル
- TogoMD フォーマットのピークテーブルファイル
- 溶出時間と m/z だけが書かれたテキストファイル

また、編集した内容は MassChroViewer フォーマットでテキストファイルに保存できます。

ファイルフォーマット

日本語が含まれる場合は、文字コード UTF-8 で保存してください。

1) MassChroViewer フォーマット

下記のような内容の、タブ区切りテキストです。

一行目が No. から始まるヘッダ行です (必須)

二行目からがデータ行です。

1 列目 (No.)	ピーク番号	任意の文字列 (空白不可、重複不可)
2 列目 (Cmnt)	任意のコメント	任意の文字列 (空白可)
3 列目 (RT)	溶出時間 (分)	数値
4 列目 (mass)	m/z 値	数値
5 列目 (Int.)	検出強度	数値
6 列目 (Check)	チェック状態	TRUE または FALSE
7 列目 (Adct)	アダクト	任意の文字列 (空白可)
8 列目 (Valid)	有効・無効状態	TRUE または FALSE

	A	B	C	D	E	F	G	H
1	No.	Cmnt	RT	mass	Int.	Check	Adct	Valid
2	0		9.80659	265.0155	214391	FALSE	[M+H] ⁺	TRUE
3	1		9.887153	519.5871	37470.34	FALSE	[M+2H] ²⁺	TRUE
4	2		9.875173	280.9931	140050.2	FALSE	[M+H] ⁺	TRUE
5	3		9.84557	517.7186	106505.2	FALSE	[M+H] ⁺	TRUE
6	4		9.835984	964.8253	105673.8	FALSE	[M+H] ⁺	TRUE
7	5		9.836462	562.9526	101241.8	FALSE	[M+H] ⁺	TRUE
8	6		9.8338	519.2121	99352.01	FALSE	[M+H] ⁺	TRUE
9	7		9.844454	962.2463	95986.67	FALSE	[M+H] ⁺	TRUE
10	8		9.849401	843.0975	94839.57	FALSE	[M+H] ⁺	TRUE
11	9		9.848682	516.9754	85981.88	FALSE	[M+H] ⁺	TRUE
12	10		9.864047	750.2043	85250.42	FALSE	[M+H] ⁺	TRUE
13	11		9.822658	241.9996	83611.52	FALSE	[M+H] ⁺	TRUE
14	12		9.833496	614.741	83466.18	FALSE	[M+H] ⁺	TRUE
15	13		9.839579	967.4219	82773.31	FALSE	[M+H] ⁺	TRUE
16	14		9.852772	561.1967	74741.44	FALSE	[M+H] ⁺	TRUE
17	15		9.856217	560.3237	74182.21	FALSE	[M+H] ⁺	TRUE
18	16		9.84813	959.6823	72874.55	FALSE	[M+H] ⁺	TRUE
19	17		9.84552	562.0729	71364.4	FALSE	[M+H] ⁺	TRUE

2) TogoMD フォーマットのピークテーブルファイル

以下の様なタブ区切りテキストファイルです(Ara *et al.*, 2015)。詳細は下記をご参照ください (<http://metabolonote.kazusa.or.jp/TogoMetabolomeDataFormat>)。

#で始まる行は無視されます。メタデータを Metabolonote で公開している場合は id にその ID が、license にライセンス情報が記載されます。

id から始まる行はヘッダーです。その次の行からがデータ部分です。

列	説明	値	MassChroViewer で読み込まれる
1: id	P+ 数字で構成されるピーク ID	文字列	○ (省略不可、重複不可)
2: intensity	シグナル強度	数値	○ (省略不可)
3: retention_time	溶出時間 (分)	数値	○ (省略不可)
4: retention_index	溶出時間インデックス	数値	
5: mass_detected	検出 m/z 値	数値	○ (省略不可)
6: ion_species	アダクト	文字列	○ (省略可)
7: isotope_peaks	同位体ピーク情報	文字列	
8: annotation	アノテーション	文字列	○Comment に
9: annotated_method_details_id	アノテーション手法 の ID	AM+数値	

10: annotated_compound_id	アノテーションされた化合物の ID	文字列	
11: comment	コメント	文字列	

#	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K
1	#	id									
2	#	license									
3	id	intensity	retention_t	retention_ir	mass_detection	species	isotope_pe	annotation	annotation	annotated	comment
4	P00000	214391	9.80659		265.0155	[M+H] ⁺	ML265.015	[8]	No hits	AM1	
5	P00001	37470.34	9.887153		519.5871	[M+2H] ²⁺		[8]	No hits	AM1	
6	P00002	140050.2	9.875173		280.9931	[M+H] ⁺		[8]	No hits	AM1	
7	P00003	106505.2	9.84557		517.7186	[M+H] ⁺		[8]	No hits	AM1	
8	P00004	105673.8	9.835984		964.8253	[M+H] ⁺		[8]	No hits	AM1	
9	P00005	101241.8	9.836462		562.9526	[M+H] ⁺		[8]	No hits	AM1	
10	P00006	99352.01	9.8338		519.2121	[M+H] ⁺		[8]	No hits	AM1	
11	P00007	95986.67	9.844454		962.2463	[M+H] ⁺		[8]	No hits	AM1	
12	P00008	94839.57	9.849401		843.0975	[M+H] ⁺		[8]	No hits	AM1	
13	P00009	85981.88	9.848682		516.9754	[M+H] ⁺		[8]	No hits	AM1	
14	P00010	85250.42	9.864047		750.2043	[M+H] ⁺		[8]	No hits	AM1	
15	P00011	83611.52	9.822658		241.9996	[M+H] ⁺		[8]	No hits	AM1	
16	P00012	83466.18	9.833496		614.741	[M+H] ⁺		[8]	No hits	AM1	
17	P00013	82773.31	9.839579		967.4219	[M+H] ⁺		[8]	No hits	AM1	
18	P00014	74741.44	9.852772		561.1967	[M+H] ⁺		[8]	No hits	AM1	
19	P00015	74182.21	9.856217		560.3237	[M+H] ⁺		[8]	No hits	AM1	
20	P00016	72874.55	9.84813		959.6823	[M+H] ⁺		[8]	No hits	AM1	
21	P00017	71364.4	9.84552		562.0729	[M+H] ⁺		[8]	No hits	AM1	
22	P00018	71178.73	9.852387		747.0909	[M+H] ⁺		[8]	No hits	AM1	
23	P00019	70360.63	9.834416		612.6469	[M+H] ⁺		[8]	No hits	AM1	

3) 溶出時間 (RT) -*m/z* のリスト

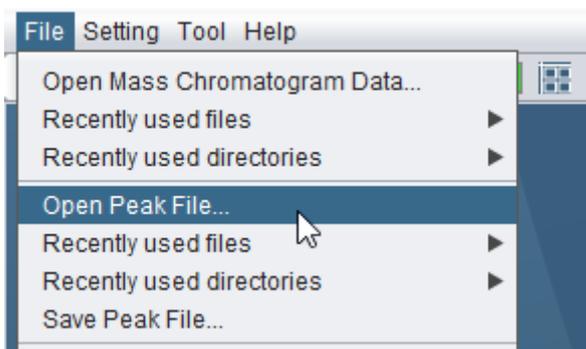
以下の様に、一列目に溶出時間 (分)、二列目に *m/z* 値が記載された、単純なタブ区切りテキストファイルです。#で始まる行は無視されます。

#	A	B
1	#RT	<i>m/z</i>
2	9.8065902	265.0155
3	9.8871525	519.58711
4	9.8751727	280.99306
5	9.8455701	517.71864
6	9.8359841	964.82525
7	9.8364624	562.95263
8	9.8338003	519.21209
9	9.8444536	962.24631
10	9.8494011	843.09747
11	9.8486816	516.97542
12	9.8640474	750.20435

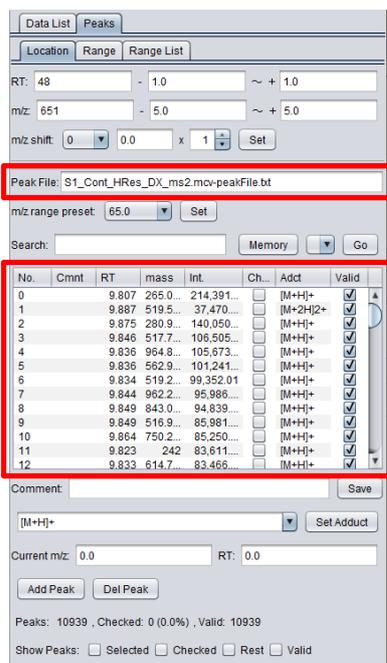
ピークファイルを開く

File メニューの Open Peak File... を選択すると、ファイル選択ダイアログボックスが開き

ますので、ピークファイルを選択します。3つのファイルフォーマットは、自動的に判別されます。



ファイルが読み込まれると、コントロールパネルの Peaks タブの中程のピークテーブルに、データが表示され、開いているファイル名が Peak File 欄に表示されます。



ピークファイルを保存する

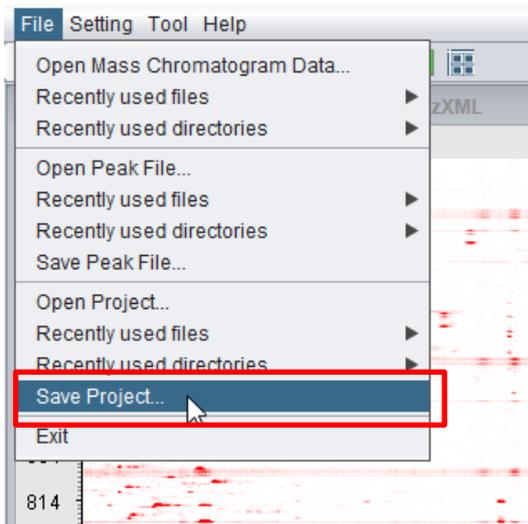
ピークテーブルにデータが存在する状態で、File メニューの「Save Peak File」を選択します。保存ファイルを選択するダイアログが表示されますので、ファイルを選択し、保存します。

プロジェクトの保存・読み込み

解析している複数のマスクロマトグラムファイルやピークファイル、2D ウィンドウの位置などの情報を、プロジェクトとしてファイルに保存できます。保存した情報を読み込むことで、作業環境を簡単に再現できます。たくさんのマスクロマトグラムファイルを開いて解析している場合や、様々なファイルセットでの比較を切り替えて行いたい場合などに便利です。

プロジェクトを保存する

File メニューの「Save Project...」を選択します。

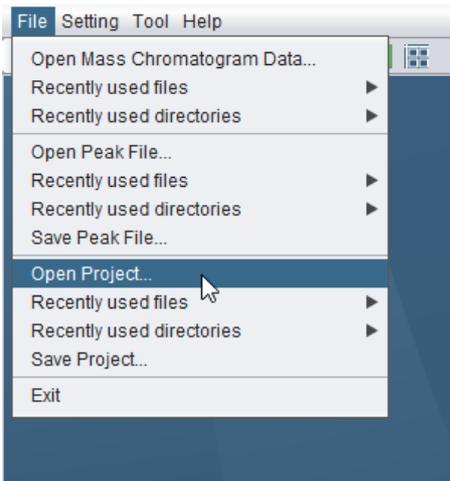


ファイル選択ダイアログが表示されるので、保存したいファイルを選択し、保存ボタンを押します。

プロジェクトファイルに保存される内容は、開いているマスクロマトグラムファイルのパス、同期の設定、2D ウィンドウの位置、ピークリストファイルのパスです。

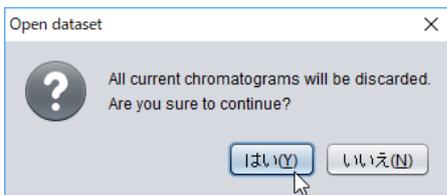
プロジェクトを読み込む

File メニューの「Open Project...」を選択します。

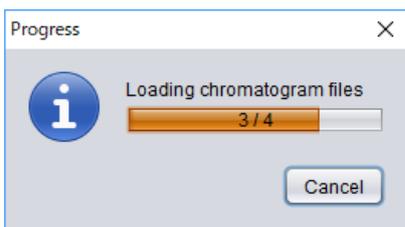


ファイル選択ダイアログが表示されるので、読み込みたいプロジェクトファイルを選択し、「開く」ボタンを押します。

現在の解析中のファイルを閉じて、解析結果を破棄してよいか尋ねるダイアログが表示されます。よければ「はい」を選択します。



マスクロマトグラムファイルの読み込み状況が、進捗ウィンドウに表示されます。



進捗ウィンドウが閉じたら、読み込み完了です。

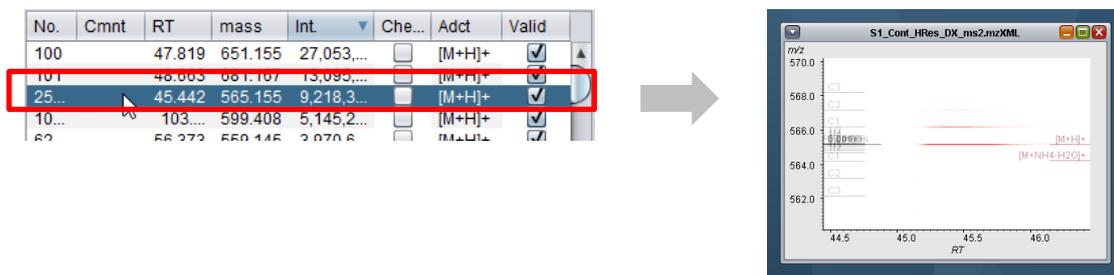
ピークテーブルの操作・編集

ピークに付与されているコメント、アダクトの種類、Check、Valid のチェック状態を編集したり、ピークテーブルにピークを追加・削除したりできます。編集結果は、上記「ピー

クファイルを保存する」の手順でファイルに保存できます。

選択したピーク周辺を 2D ウィンドウに表示

テーブル中の任意の行をクリックすると、その溶出時間と m/z に相当する部分が、2D ウィンドウ上に表示されます。この際、2D ウィンドウの表示領域は、Location サブパネルの指定範囲が採用されます。



m/z シフトの倍率変更

ピークが選択された状態で、以下のキーボード操作を行うことで、 m/z シフトの倍率を変更できます。安定同位体ラベルしたサンプルで、ピーク化合物の元素数を確認したい場合などに便利です。

Shift + 左カーソル (矢印) キー	倍率を 1 上げる (注意)
Shift + 右カーソル (矢印) キー	倍率を 1 下げる (注意)
Shift + 数字キー (テンキーではなく、キーボード上部の数字キー)	倍率をその数字に設定する
Enter キー	倍率を 0 に戻して次のピークに移動する

※キーボード操作をするには、ピークリストが、入力を受け付ける状態 (アクティブ状態) になっている必要があります。キーボード操作が効かない時は、一度ピークリストのどこかの行をクリックしてアクティブ状態にしてください。

(注意) シフトを押さずにカーソルの左右キーを押すと、ピークの Checked、Valid のステータスが変わります。詳しくは次項をご覧ください。

Check、Valid の編集

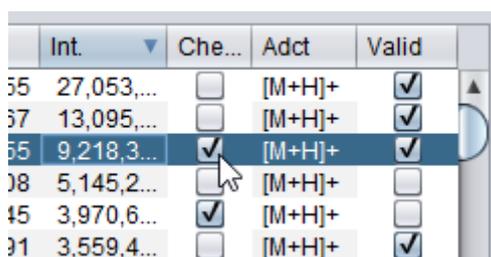
MassChroViewer では、ピークに対してユーザーが付与できるタグ(目印)として、**Checked**、と **Valid** の二つのマーカータグと、コメント欄の文字列タグを用意しています。これらのタグは、ユーザーの用途や目的によって任意の意味を持たせて利用できます。参考までに **Checked** と **Valid** は、以下の汎用的な用途を想定して準備されたタグです。

Checked : 目視等での確認を行ったピーク

Valid : 有効ピークとして認められたピーク

Checked と **Valid** のチェック状態は、以下の方法で変更できます。

テーブルの行中、**Check** または **Valid** のチェックボックスの上をクリックすると、**Check** と **Valid** のチェック状態を変更できます。



	Int.	Che...	Adct	Valid
55	27,053,...	<input type="checkbox"/>	[M+H] ⁺	<input checked="" type="checkbox"/>
57	13,095,...	<input type="checkbox"/>	[M+H] ⁺	<input checked="" type="checkbox"/>
55	9,218,3...	<input checked="" type="checkbox"/>	[M+H] ⁺	<input checked="" type="checkbox"/>
08	5,145,2...	<input type="checkbox"/>	[M+H] ⁺	<input type="checkbox"/>
45	3,970,6...	<input checked="" type="checkbox"/>	[M+H] ⁺	<input type="checkbox"/>
01	3,559,4...	<input type="checkbox"/>	[M+H] ⁺	<input checked="" type="checkbox"/>

以下の通りいくつかの方法でも変更できます。

	Check のチェック・チェック解除	Valid のチェック・チェック解除
ピークテーブル上	Check のチェックボックスをクリックする	Valid のチェックボックスをクリックする
キーボード	「C」キーを押す	「V」キーを押す
カーソルキー	「←」キーを押す	「→」キーを押す

ピークテーブルの中で、**Check** されたピーク、**Valid** になっているピークの数、ピークテーブルの下方に表示されます。

No.	Cmnt	RT	mass	Int.	Che...	Adct	Valid
100		47.819	651.155	27,053,...	<input type="checkbox"/>	[M+H] ⁺	<input checked="" type="checkbox"/>
101		48.663	681.167	13,095,...	<input type="checkbox"/>	[M+H] ⁺	<input checked="" type="checkbox"/>
25...		45.442	565.155	9,218.3...	<input checked="" type="checkbox"/>	[M+H] ⁺	<input checked="" type="checkbox"/>
10...		103...	599.408	5,145.2...	<input type="checkbox"/>	[M+H] ⁺	<input type="checkbox"/>
62...		56.373	559.145	3,970.6...	<input checked="" type="checkbox"/>	[M+H] ⁺	<input checked="" type="checkbox"/>
405		75.264	287.091	3,559.4...	<input type="checkbox"/>	[M+H] ⁺	<input checked="" type="checkbox"/>
59...		46.488	595.165	3,059.3...	<input type="checkbox"/>	[M+H] ⁺	<input checked="" type="checkbox"/>
62...		56.366	1,117....	3,026.8...	<input type="checkbox"/>	[2M+....	<input checked="" type="checkbox"/>
102		48.935	679.298	2,784.2...	<input type="checkbox"/>	[M+H] ⁺	<input checked="" type="checkbox"/>
62...		56.374	395.097	2,765.0...	<input type="checkbox"/>	[M+H] ⁺	<input checked="" type="checkbox"/>
62...		50.012	519.113	2,620.1...	<input type="checkbox"/>	[M+H] ⁺	<input checked="" type="checkbox"/>

Comment: Save

[M+H]⁺ Set Adduct

Current m/z: 0.0 RT: 0.0

Add Peak Del Peak

Peaks: 10939 , Checked: 2 (0.018%) , Valid: 10937

Show Peaks: Selected Checked Rest Valid

ピーク位置を 2D ウィンドウに表示

ピークテーブルの下方にある Show Peaks の 4つのチェックボックスをチェックすることで、Check、Valid のピークの位置などを、2D ウィンドウ内にマーカーで表示することができます。

No.	Cmnt	RT	mass	Int.	Che...	Adct	Valid
25...		45.049	471.15	1,215.4...	<input type="checkbox"/>	[M+H] ⁺	<input checked="" type="checkbox"/>
62...		56.386	789.187	1,125.8...	<input type="checkbox"/>	[M+H] ⁺	<input checked="" type="checkbox"/>
62...		55.948	453.139	1,048.7...	<input type="checkbox"/>	[M+H] ⁺	<input checked="" type="checkbox"/>
80...		60.14	645.292	1,048.3...	<input type="checkbox"/>	[M+H] ⁺	<input checked="" type="checkbox"/>
25...		36.141	485.223	1,029.6...	<input type="checkbox"/>	[M+H] ⁺	<input checked="" type="checkbox"/>
67...		56.362	413.108	921.82...	<input type="checkbox"/>	[M+H] ⁺	<input checked="" type="checkbox"/>
11...		13.057	381.079	898.49...	<input type="checkbox"/>	[M+H] ⁺	<input checked="" type="checkbox"/>
89...		81.508	520.34	897.04...	<input type="checkbox"/>	[M+H] ⁺	<input checked="" type="checkbox"/>
10...		103...	615.405	892.42...	<input type="checkbox"/>	[M+H] ⁺	<input checked="" type="checkbox"/>
62...		53.858	807.234	873.09...	<input type="checkbox"/>	[M+H] ⁺	<input checked="" type="checkbox"/>
104		48.718	1,361....	846.42...	<input type="checkbox"/>	[2M+....	<input checked="" type="checkbox"/>

Comment: Save

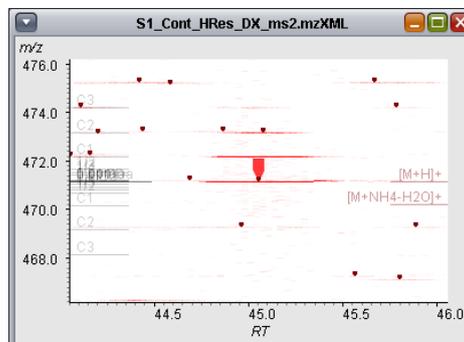
[M+H]⁺ Set Adduct

Current m/z: 0.0 RT: 0.0

Add Peak Del Peak

Peaks: 10939 , Checked: 2 (0.018%) , Valid: 10937

Show Peaks: Selected Checked Rest Valid



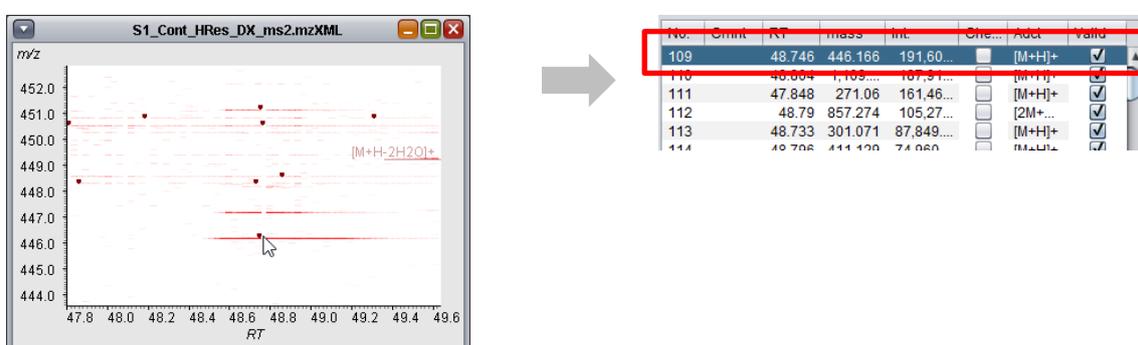
マーカーの意味は以下の通りです。

Selected		ピークテーブルで選択されているピーク
Checked		Check がチェック状態のピーク ※Valid に優先して描画されます。

Rest		Check がチェックされていない状態のピーク。
Valid		Valid がチェック状態のピーク ※Rest に優先して描画されます。

2D ウィンドウからピークを選択する

2D ウィンドウの任意の位置をクリックすると、その近傍にあるピークが、ピークテーブル上でハイライトされます。



※Valid がチェックされていない状態のピークは、2D ウィンドウからピークテーブルへのジャンプができない仕様となっています。

コメントの編集

選択したピークにコメントがある場合は、Comment 欄に表示されます。この欄に文字を入力して、リターンキーを押すか、「Save」ボタンを押すと、コメントが更新されます。

No.	Cmnt	RT	mass	Int.	Check	Adct	Valid
778		11.284	969.5...	337.6...	<input type="checkbox"/>	[M+H] ⁺	<input checked="" type="checkbox"/>
779		13.923	607.2...	22,85...	<input type="checkbox"/>	[M+H] ⁺	<input checked="" type="checkbox"/>
780		13.928	621.1...	18,25...	<input type="checkbox"/>	[M+H] ⁺	<input checked="" type="checkbox"/>
781	glutat...	13.977	308.0...	323.0...	<input type="checkbox"/>	[M+H] ⁺	<input checked="" type="checkbox"/>
782		13.966	928.2...	23,44...	<input type="checkbox"/>	[M+H] ⁺	<input checked="" type="checkbox"/>
783		13.973	646.1...	16,94...	<input type="checkbox"/>	[M+H] ⁺	<input checked="" type="checkbox"/>

Comment: glutathione, #N: 3, #S: 1 | Save

下記のキーボード操作で、コメント欄に m/z シフトの倍率を記入できます。安定同位体ラベルによる元素個数の記録などに便利です。

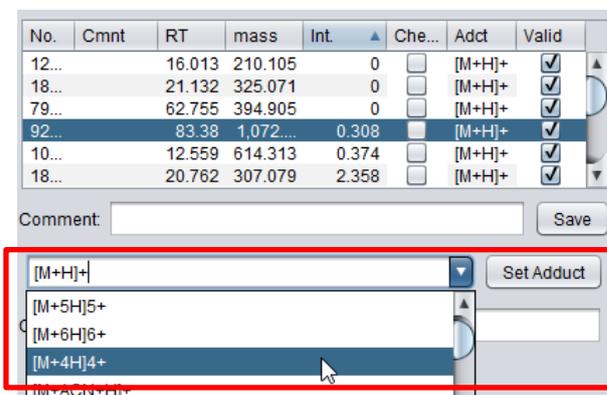
Ctrl + Enter キー	コメント欄に現在の倍率値を記載します
Ctrl + Delete キー	コメント欄を空白にします
Ctrl + Shift + / (スラッシュ) キー	コメント欄に「?」を記載します

上記のキー操作をすると、現在のコメント内容は消えてしまいますのでご注意ください。

※キーボード操作をするには、ピークリストが、入力を受け付ける状態（アクティブ状態）になっている必要があります。キーボード操作が効かない時は、一度ピークリストの該当ピークをクリックしてアクティブ状態にしてください。

アダクトの編集

選択したピークのアダクトは、ピークテーブルの下部のコンボボックスに表示されています。コンボボックス中には、このピークテーブル中で使われているアダクトがすべて表示されています。アダクトの種類を変更したい場合には、コンボボックスから該当するアダクトを選択し、「Set Adduct」ボタンを押します。コンボボックスに該当するアダクトがない場合は、任意の文字列をコンボボックスに入力してから、「Set Adduct」ボタンを押します。



ピークの追加と削除

2D ウィンドウで任意の点をダブルクリックすると、Current m/z: RT:の欄に、その地点の m/z と溶出時間が表示されます。この状態で、「Add Peak」ボタンを押すと、ピークテーブ

ルに、新規ピークとして追加されます。ピーク番号は、Add から始まる通し番号が自動的に振られます。ピーク強度はゼロ、アダクトは未設定、Check は未チェック状態、Valid はチェック状態となります。

No.	C...	RT	mass	Int.	C...	Adct	Valid
10934		7.834	614.321	391.221	<input type="checkbox"/>	[M+H] ⁺	<input checked="" type="checkbox"/>
10935		8.356	235.169	233.737	<input type="checkbox"/>	[M+H] ⁺	<input checked="" type="checkbox"/>
10936		8.472	1,022.0...	175.397	<input type="checkbox"/>	[M+H] ⁺	<input checked="" type="checkbox"/>
10937		24.238	383.145	4,193.87	<input type="checkbox"/>	[M+H] ⁺	<input checked="" type="checkbox"/>
10938		106....	320.308	156.438	<input type="checkbox"/>	[M+H] ⁺	<input checked="" type="checkbox"/>
Add1		71.475	1,044.5...	0	<input type="checkbox"/>		<input checked="" type="checkbox"/>

Current m/z: 1044.5436294651988 RT: 71.47458569343488

Buttons: Add Peak, Del Peak

ピークを削除したい場合は、削除したいピークを選択した状態で「Del Peak」ボタンを押します。

その他のピークテーブルへの操作

ピークテーブルのソート

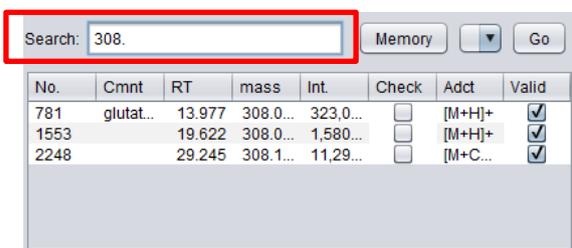
ピークテーブルの列ヘッダーをクリックすると、値によって行がソートされます。クリックする回数によって、以下の様にソートが切り替わります。

- 1回クリック：昇順（▲マーク）
- 2回クリック：降順（▼マーク）
- 3回クリック：元に戻る（マークなし）

No.	Cmnt	RT	mass	Int.	Che...	Adct	Valid
100		47.819	651.155	27,053,...	<input type="checkbox"/>	[M+H] ⁺	<input checked="" type="checkbox"/>
101		48.663	681.167	13,095,...	<input type="checkbox"/>	[M+H] ⁺	<input checked="" type="checkbox"/>
25...		45.442	565.155	9,218,3...	<input type="checkbox"/>	[M+H] ⁺	<input checked="" type="checkbox"/>
10...		103...	599.408	5,145,2...	<input type="checkbox"/>	[M+H] ⁺	<input checked="" type="checkbox"/>
62...		56.373	559.145	3,970,6...	<input type="checkbox"/>	[M+H] ⁺	<input checked="" type="checkbox"/>
405		75.264	287.091	3,559,4...	<input type="checkbox"/>	[M+H] ⁺	<input checked="" type="checkbox"/>

ピークの検索

Search 欄に任意の文字列を入力すると、ピークを検索できます。



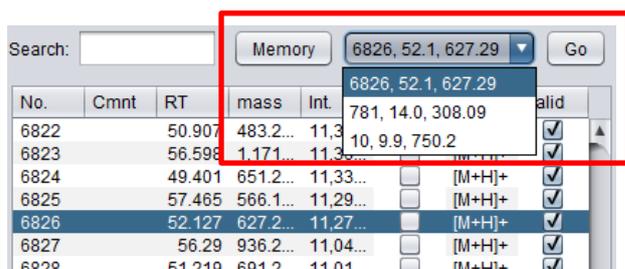
入力した文字列に対して、以下に該当するピークのみがピークテーブルに表示されます。

- No.が入力文字列から始まるもの
- Cmnt に入力文字列を含むもの
- RT が入力文字列から始まるもの
- mass が入力文字列から始まるもの

ESC キーを押すか Search 欄を空欄にすることで、絞り込みを解除します。

ピークの一時記憶

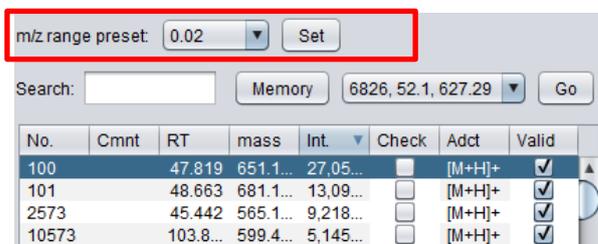
特定のピークを一時的に記憶させておくことができます。ピークテーブルでピークを選択した状態で、Memory ボタンを押すと、コンボボックス中にピーク番号、RT、 m/z が追加されます。



コンボボックスからピークを選んで「Go」ボタンを押すと、そのピークがピークテーブル上でハイライトされます。

m/z 表示幅の簡単な変更

ピークテーブルでピークを選んだ際に、2D ウィンドウに表示される m/z の幅を、プリセット値に簡単に変更できます。「 m/z range preset」のコンボボックスから設定値を選び、「Set」ボタンを押します。これにより、Location サブパネルの m/z 幅の設定も同時に変更されます。

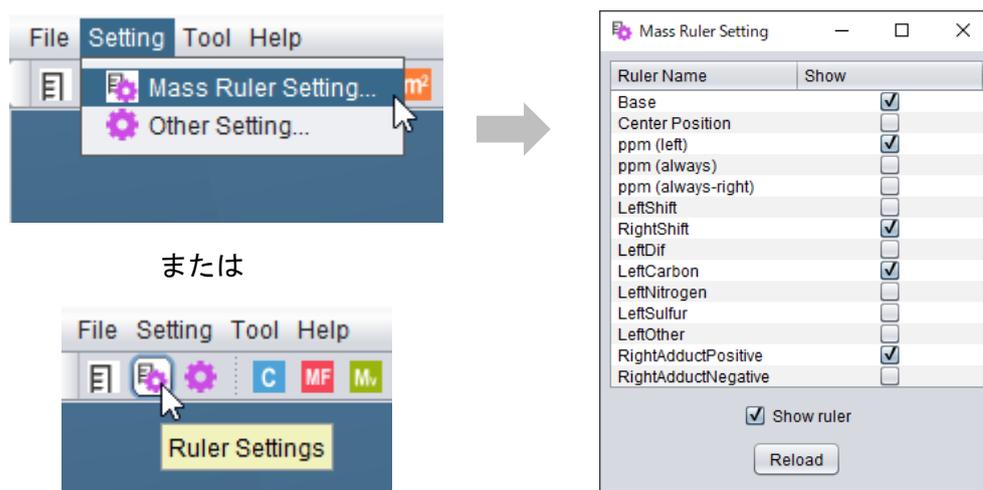


マスルーラーの設定

MassChroViewer には、2D ウィンドウ上で質量幅を表すためのマスルーラー機能がついています。ユーザーは、ルーラーの表示内容を柔軟にカスタマイズできます。

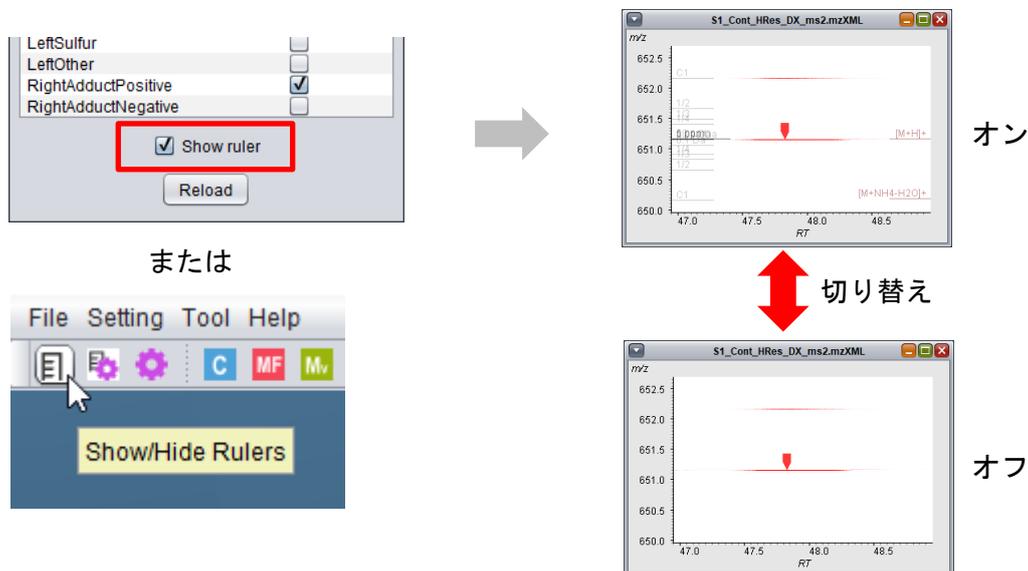
マスルーラーの表示・非表示

Setting メニューの Mass Ruler Setting を選択するか、ツールバーのアイコンをクリックすると、設定ウィンドウが表示されます。



「Show ruler」をチェック/チェック解除すると、2D 画面上で全てのルーラーの表示がオン

オフになります。ツールバーのボタンでも切り替えできます。



デフォルトで、ルーラーはいくつかの種類が設定されています。個別のルーラーの表示のオン・オフの切り替えは、設定画面の Show 列のチェックボックスをオン・オフすることで行います。

ルーラーのカスタマイズと反映

個別のルーラーの設定は、MassChroViewer の起動ファイルがあるフォルダ中の、conf フォルダ内、ruler.ini に記載されています。テキストエディタなどで、ruler.ini ファイルを編集することで、ルーラー設定を自由にカスタマイズできます。ruler.ini の設定方法は、ruler.ini ファイル内に記載されています。ruler.ini ファイルに設定した内容を、すぐに MassChroViewer で反映させたい場合は、設定ウィンドウ上の「Reload」ボタンをクリックします。

```

50 // -- default settings -----
51
52 // -----
53 >>Base
54 type = left
55 marginLine = 0
56 lineLength = 70
57 enabled = true
58
59 isPpm = false
60 labelColor = 255,0,0,80
61 lineColor = 0,0,0,128
62 fontSize = 10
63 fontPositionY = -4
64
65 # label^dif
66 ^ 0^ true
67
68 // -----
69 >>Center Position
70 type = always
71 position = middle_center
72 positionMarginX = 0
73 positionMarginY = 0
74 marginLine = -50
75 lineLength = 100
76 isLineLengthRelative = false

```

「don't change this name」と書かれた一部のルーラーは、名前の変更ができません。これらのルーラーは、選択されたピークのアダクト情報や、 m/z シフトの設定状況によって表示位置が変わるよう、内部で特別な処理をしているためです。

```

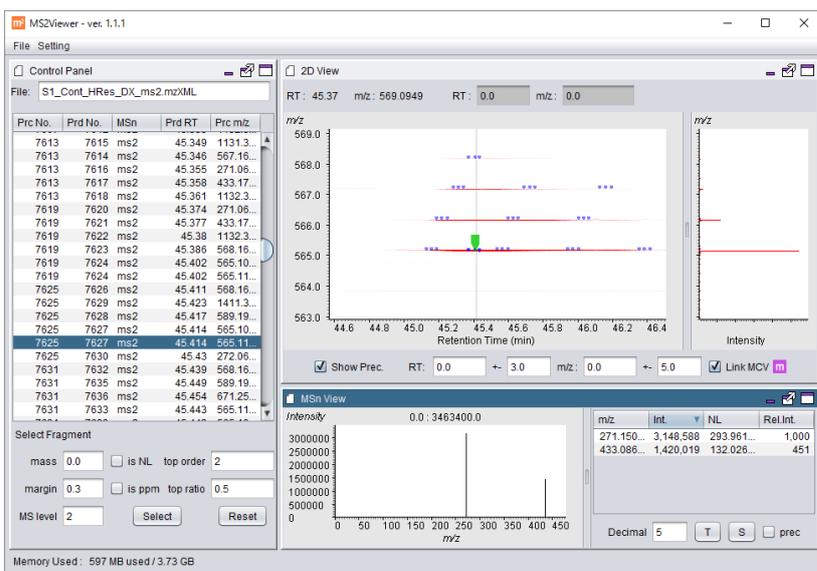
404 // -----
405 >>RightAdductPositive // <- don't change this name
406 type = right
407 marginLine = 0
408 marginLabel = 5
409 lineLength = 50
410 isLineLengthRelative = false
411 enabled = true
412
413 isPpm = false
414 labelColor = 128,0,0,100
415 lineColor = 128,0,0,100
416 fontSize = 12
417 fontPositionY = 2
418
419 # label^dif
420 [M+ACN+Na]^+ 64.0157701831

```

MS2Viewer 機能

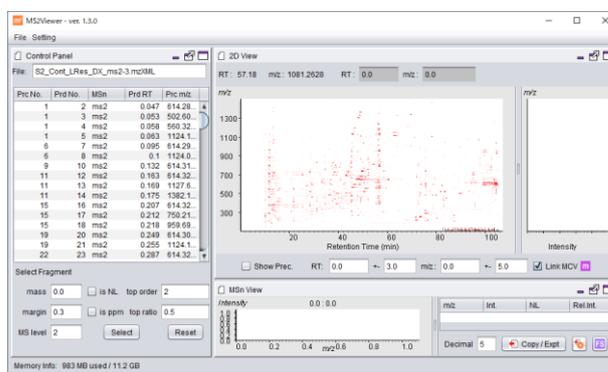
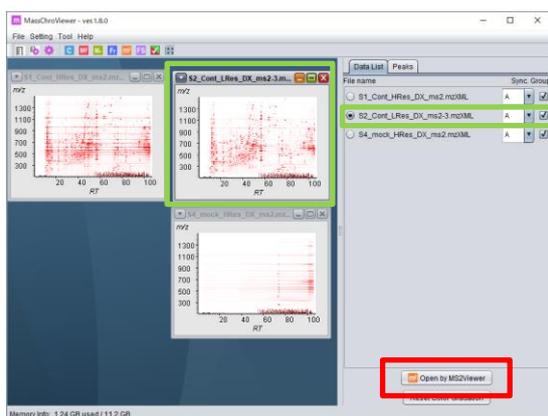
MassChroViewer には、MS2 スキャンが行われたプリカーサーイオンの位置を 2D ウィンドウ上に表示し、取得された MS_n スペクトルを閲覧するための MS2Viewer 機能が搭載されています。MassChroViewer と MS2Viewer を連携させることで、MS_n 取得の分析条件を確認したり、生データで得られている MS_n データの品質を確認したり、簡易的なピークアノテーションに役立てたりすることができます。

MS2Viewer メイン画面



MS2Viewer の起動

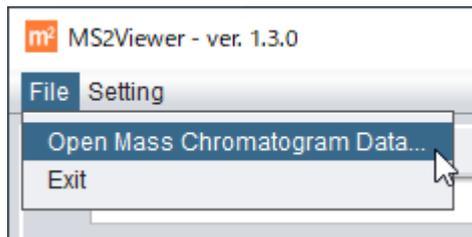
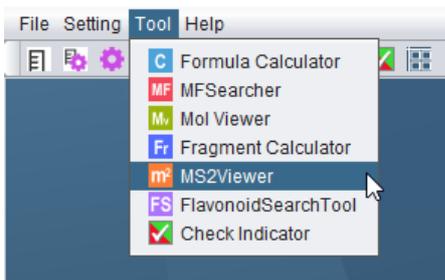
MassChroViewer でマスクロマトグラムデータが開かれている状態で、Data List タブの「Open by MS2Viewer」ボタンをクリックします。現在選択されているデータが、MS2Viewer で表示されます。現在選択されているデータは、Data List のラジオボックスが選択されているかどうかや、2D ウィンドウがアクティブかどうかで確認できます（下図の緑枠）。



※異なるデータを選択して **Open by MS2Viewer** をクリックするたびに、クロマトデータファイルからデータの再読みこみを行うため、MS2Viewer が開くまでには多少時間がかかります。

別の起動方法

MS2Viewer がまだ起動していない状態で、MassChroViewer の Tool メニューの「MS2Viewer」を選択すると、MS2Viewer が単純に起動します。この時点でデータは読み込まれません。起動後、閲覧するデータ (mzXML または mzML 形式) を、MS2Viewer の File メニューの「Open Mass Chromatogram Data...」で選択してください。



または



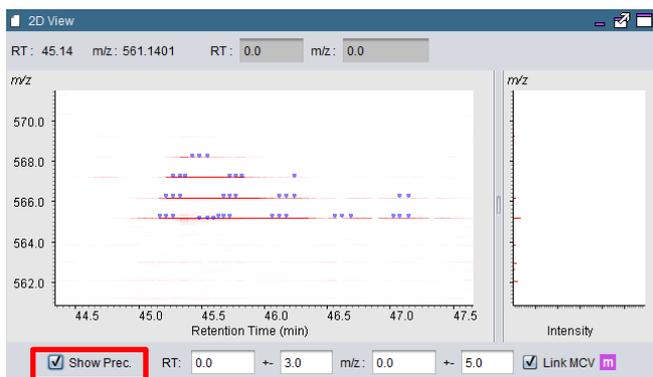
基本操作

2D View の基本操作

マウスによる拡大、縮小、移動等の操作は、MassChroViewer と共通です。

プリカーサーイオンの表示

2D View パネルの「Show Prec.」にチェックを入れると、MS2 スキャンが行われたプリカーサーイオンの位置が、青いマーカーで示されます。

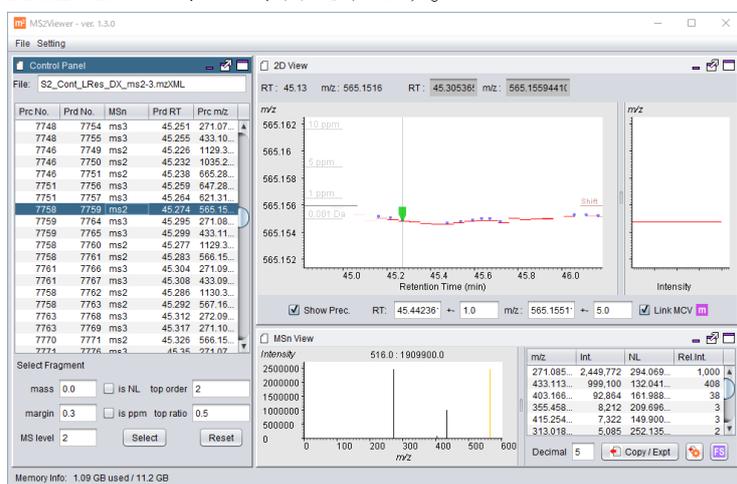


プリカーサーの選択

2D View パネル上をクリックすると、その近傍にあるプリカーサーイオンが、Control Panel

内のプリカーサーイオンテーブル上で、ハイライトされます。

テーブル中でハイライトされたプリカーサーをクリックすると、そのプリカーサーの位置が大きな緑色のマーカーで 2D View パネルに表示されます。さらに、そのスペクトルが MSn View パネルに表示されます。



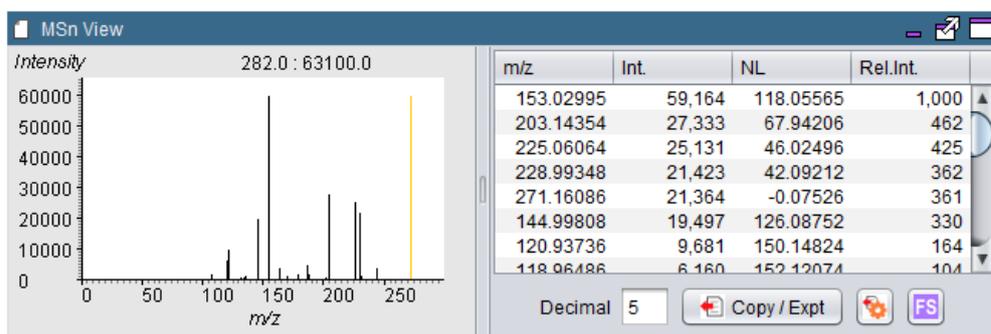
MS3 以降が取得されている場合は、テーブル中で、MS2 のプリカーサーイオンの下部に MS3 が表示されます。クリックすることで同様にスペクトルを見ることができます。

Prc No.	Prd No.	MSn	Prd RT	Prc m/z
7758	7759	ms2	45.274	565.15...
7759	7764	ms3	45.296	271.08...
7759	7765	ms3	45.299	433.11...
7758	7760	ms2	45.277	1129.3...
7758	7761	ms2	45.283	566.15...
7761	7766	ms3	45.304	271.09...
7761	7767	ms3	45.308	433.09...

テーブル中で、Prc No.および Prd No.は、それぞれ、プリカーサースキャン、プロダクトスキャンのスキャン番号を示しています。上記の例で Prd No.: 7764 および 7765 の MS3 データは、Prd No.: 7759 の MS2 スキャンのうち、271.08 および 433.11 のイオンを開裂させたデータであることを示しています。

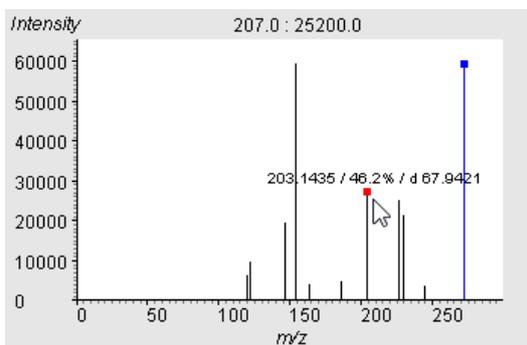
MSn スペクトルの閲覧

MSn View パネルには、MSn スペクトルの図およびその数値データが表示されます。

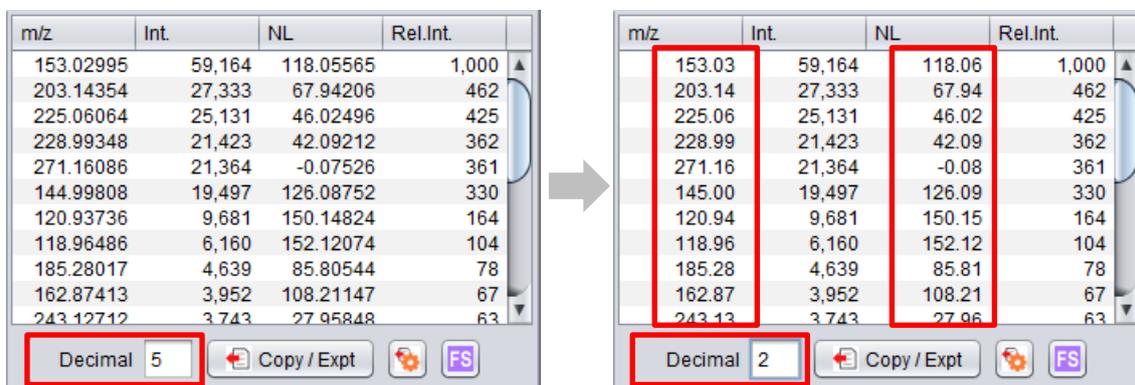


スペクトルデータのうち、オレンジ色で示された線はプリカーサーイオンを示します。数値データのうち、NLはニュートラルロス（プリカーサーイオンからの質量差分）が、Rel Int.には、最大強度のイオン（ベースピークイオン）を1000とした相対強度が、それぞれ示されています。

スペクトルデータをクリックすると、近傍のスペクトルが青でハイライトされます。マウスカーソルを動かすと、ハイライトされたピークを基準として、カーソル近傍のピークの質量、相対強度、質量差分が表示されます。

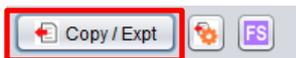


数値テーブルの下部にある Decimal に整数を入れ、リターンキーを押すと、質量の小数点表示が入力した桁に設定されます。

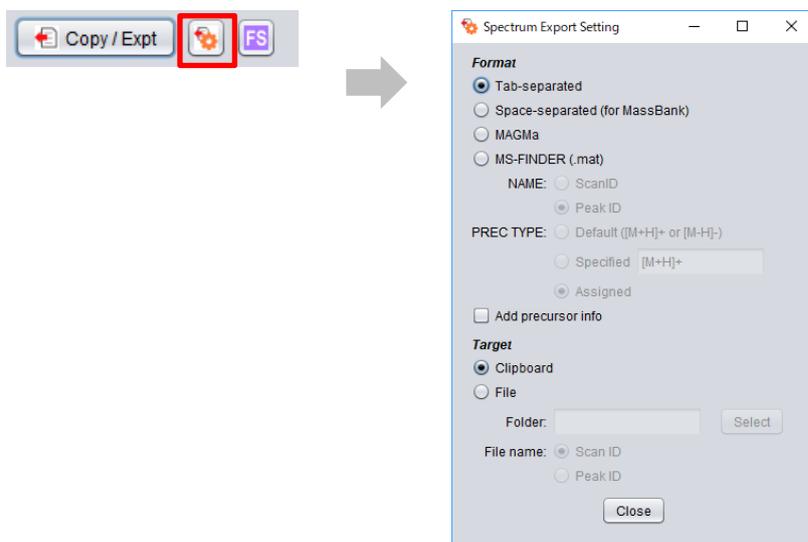


スペクトルデータをテキストでコピー/出力する

数値テーブル下部にある「Copy / Expt」のボタンを押すと、数値データをいくつかのフォーマットでクリップボードにコピーしたり、ファイルに出力したりできます。



クリック時の動作（クリップボードへのコピーか、ファイルへの出力か）と、出力のフォーマットは、 ボタンをクリックすると表示されるウィンドウで設定します。



出力フォーマット

Tab-separated:

m/z と相対強度をタブ区切りで表したデータです。METLIN (<https://metlin.scripps.edu/>)、HMDB (<http://www.hmdb.ca/>) などのウェブサイトでスペクトル検索をする際にペーストして使用できます。

Space-separated:

m/z と相対強度をスペース区切りで表したデータです。MassBank (<http://www.massbank.jp/>) でスペクトル検索をする際にペーストして使用できます。

※Tab-separated と Space-separated を選択した場合、「Add precursor info」にチェックがされている場合は、プリカーサーの m/z が一行目に付加されます。

MAGMa:

MAGMa (<http://www.emetabolomics.org/magma>) の Mass Tree 検索をする際にペーストして使用できるフォーマットです。

※選択したプリカーサーイオンを起源とする、それより後段の MS_n スキャンがすべて含まれます。

MS-FINDER (.maf):

MS-FINDER (http://prime.psc.riken.jp/Metabolomics_Software/MS-FINDER/) で解析することができるデータです。MS-FINDER を選択した場合、以下の設定が可能です。

- NAME:項目に、Scan ID を用いるか、Peak ID を用いるか
- PREC TYPE:項目に、デフォルト値 (ポジティブ分析またはネガティブ分析の場合に、それぞれ[M+H]⁺または[M-H]⁻)、任意の値 (Specified)、Peak List でアサインされた値 (Assigned)

出力先

Clipboard:

クリップボードにコピーされます。

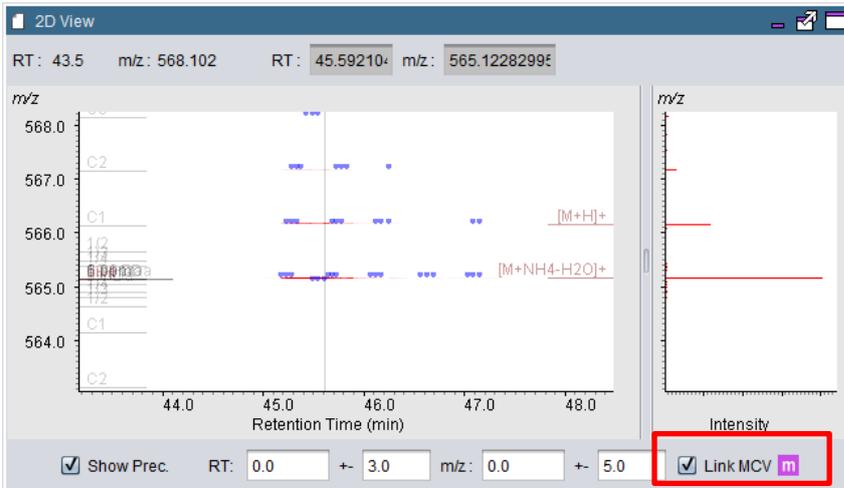
File:

ファイルに出力されます。出力先のフォルダを「Select」ボタンで選び、ファイル名として Scan ID を用いるか、Peak ID を用いるかを選択できます。

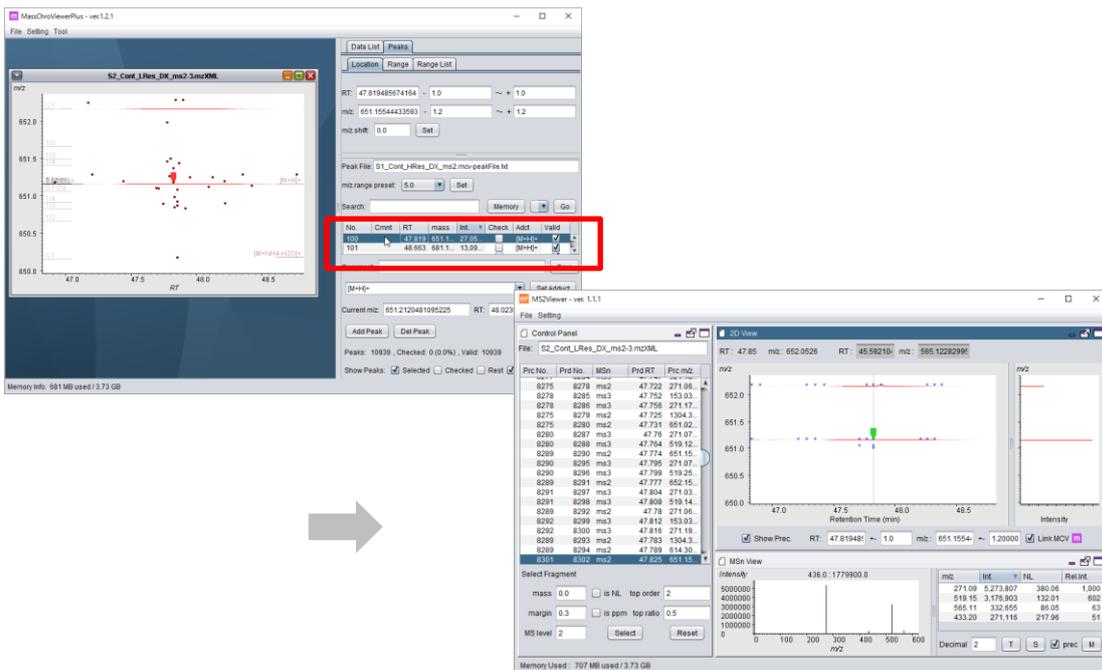
MassChroViewer との連携機能

2D View 画面の右下、「Link MCV」にチェックが入っている場合に、MassChroViewer と MS2Viewer が連動します。

※先に示した Open by MS2Viewer の機能も、「Link MCV」のチェックが外れている場合には機能しません。

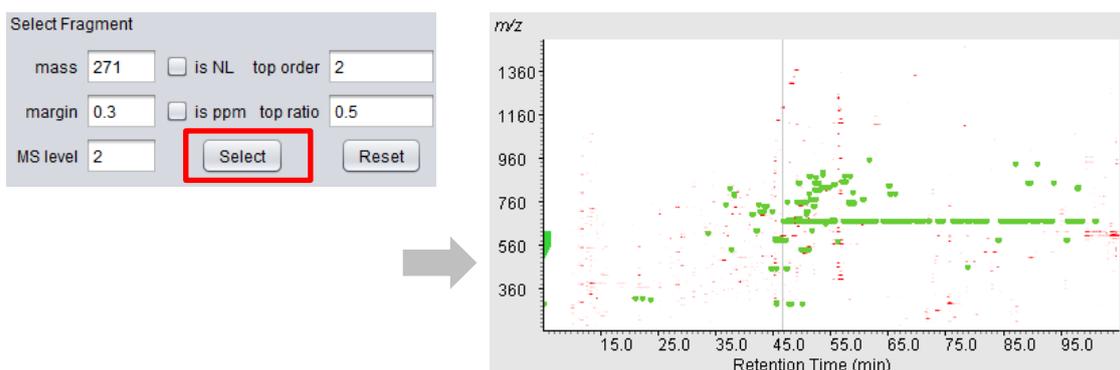


MassChroViewer で、2D ウィンドウ中をダブルクリックしたときや、ピークテーブルでピークを選択した際に、MassChroViewer での表示領域が、そのまま MS2Viewer の 2D View 画面に表示されます。



特定のフラグメントを持つプリカーサーの検索

プリカーサーテーブルの下部に、Select Fragment コントロールパネルがあります。この機能を使うことで、特定の m/z が含まれるスペクトルのプリカーサーイオンの位置を、2D View 上で示すことができます（緑の小さなマーカー）。



設定パラメーターは以下です。

mass	対象となる m/z 値。「is NL」にチェックが付いている場合は、ニュートラルロス（プリカーサーイオンからの質量差分）が検索の対象となります。
margin	許容する m/z 範囲（単位 Da）。「is ppm」にチェックが付いている場合は、単位が ppm となります。
MS level	対象とする MS レベル。指定したレベルの MS のみが検索対象となります。
top order	スペクトル中で強度が高い順に、指定した順位以上のイオンのみが検索対象となります。
top ratio	スペクトル中で最も強度が高いイオン（ベースピークイオン）を基準として、指定した比率（0～1）以上の強度を持つイオンのみが検索対象となります。

パラメーターを設定して「Select」ボタンを押すと、該当するプリカーサーが 2D View 上に緑色の小さなマーカーとして表示されます。MS3 以降を対象とした場合も、その MS3 が由来する MS1 中のプリカーサーイオンの位置が図示されます。

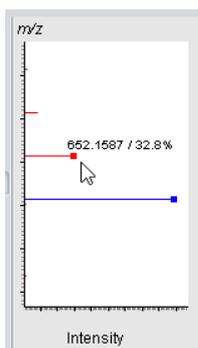
その他の機能

イオン強度の図示

2D View の右側には、イオン強度を示すパネルがあり、2D View 上でクリックした位置（縦の灰色線）におけるイオン強度が示されます。

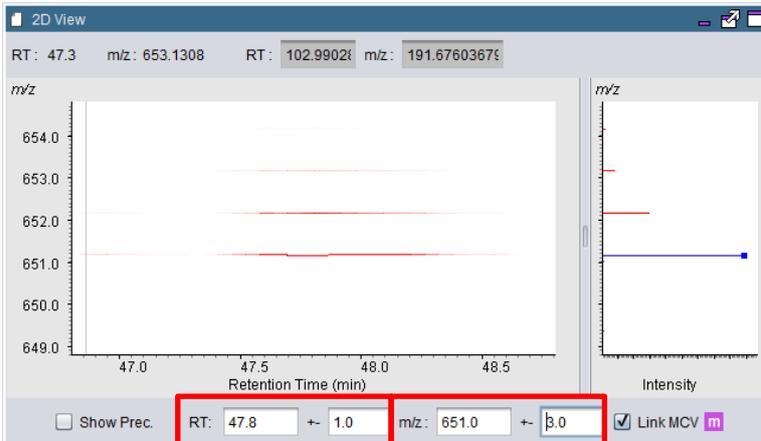


強度パネル上のイオン近傍をクリックすると、そのイオンが青色でハイライトされます。その状態で別のイオン近傍へマウスカーソルを移動させると、そのイオンの質量と、ハイライトしたイオンを基準とした強度の比率が表示されます。安定同位体ピークの強度比を確認する際などに活用できます。



指定領域を表示

2D View パネルの下部にある RT と m/z 欄に、表示の中心となる値と±の幅を入力してリターンキーを押すと、その領域が 2D View パネルに表示されます。単位は RT : 分、 m/z : Da です。RT の部分と m/z の部分はそれぞれ独立しています。両方の範囲を指定する場合は、RT、 m/z それぞれで、値を設定後にリターンキーを押してください。

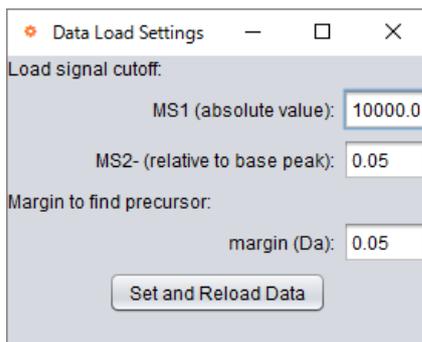


その他の設定

MS2Viewer は、MS2 スペクトルを閲覧することを主眼に作られているため、動作を軽くするために、デフォルトで、読み込むデータや 2D View への表示を省略する設定が有効になっています。

データ読みこみ設定

Setting メニューの「Data Load Setting」を選択します。



以下の項目が設定できます。

Load signal cutoff: 読み込むデータを足切りして、メモリ使用量を節約します。

MS1 (absolute value): MS1 スキャンに対しての設定です。指定した絶対値より強度の小さいイオンの読みこみを省略します。

MS2- (relative to base peak): MS2 以降のスキャンに対しての設定です。最高強度のイオン（ベースピークイオン）を基準に、指定した比率より強度の小さいイオンの読みこみを省

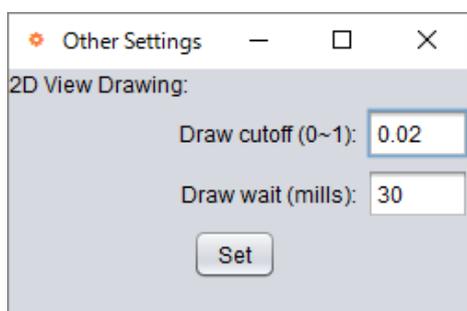
略します。

Margin to find precursor: プリカーサーイオンを特定する際に与える質量許容範囲です。**mzXML** ファイルや **mzML** ファイルに記載される情報の中で、**MSn** スペクトルのプリカーサーの質量情報と、実際のプリカーサースキャン内に存在するイオンの質量が、ベンダーによって大きく異なる場合があります。データの特性に応じて適切に設定してください。許容誤差範囲内で、最大強度を持つイオンと、プリカーサーの質量値にもっとも近いイオンとが異なっていた場合には、両方のプリカーサー情報が表示されます。また、許容誤差範囲を大きく設定した場合に、異なる **MSn** スキャンで同じプリカーサーが選ばれる場合がありますので、ご注意ください。

「Set and Reload Data」をクリックすると、上記の設定でクロマトグラムファイルから再度データが読み込まれます。

2D View の描画設定

Setting メニューの Other Setting を選択します。



描画に関する以下の設定ができます。

Draw cutoff (0~1)	現在表示されている領域の中で、最大強度のイオンを基準に、指定した比率より強度の小さいイオンの描画を省略します。強度の小さいイオンは、描画濃度を高めると初めて描画されるようになります。
Draw wait (mills)	再描画が行われるまでの時間間隔（ウェイト）をミリ秒で設定します。広範囲の領域を大きな画面で表示しているときに、濃度変更を行うなどの処理をした場合、ウェイトを 0 に設定していると、マウス動作に描画が追いつかず、描画がもたつく場合があります。適当なウェイトを設定することで、これを回避できます。一方、小さい領域を閲覧する場合には、ウェイトがない方が、マウス操作に即応したスムーズな描画が可能となります。

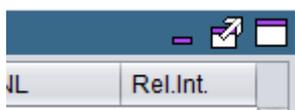
「Set」ボタンをクリックすると、設定が有効になります。

ルーラー設定

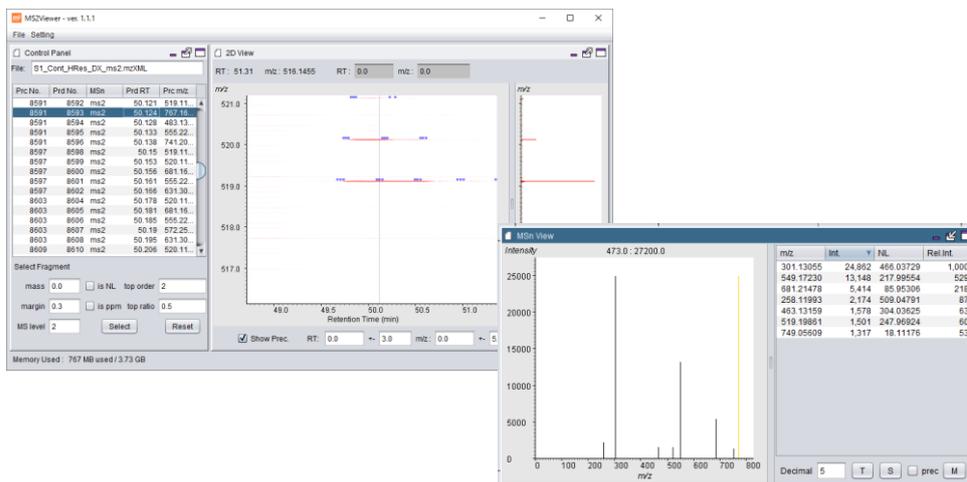
Settingメニューから「Mass Ruler Setting」を選択します。設定方法はMassChroViewerと同じです。また、使用される ruler.ini ファイルも共通となります。

ウィンドウレイアウトの変更

MS2Viewerの画面は、右上に下記のようなボタンのついた、いくつかのサブウィンドウが組み合わさってできています。



これらのサブウィンドウをメインウィンドウ外や、他のサブウィンドウ上にドラッグしたり、右肩のアイコンをクリックすることで、画面レイアウトを柔軟に変更することができます。

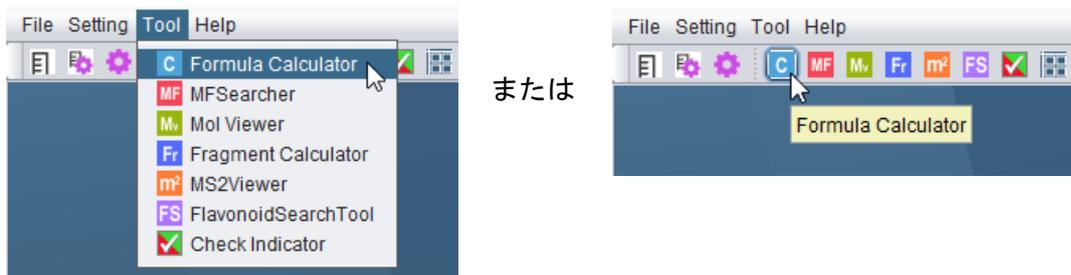


その他のツール

Formula Calculator

組成式から精密質量やアダクトの質量を計算したり、安定同位体の存在比を確認したり、質量値から組成式を計算できる、簡易的なツールです。

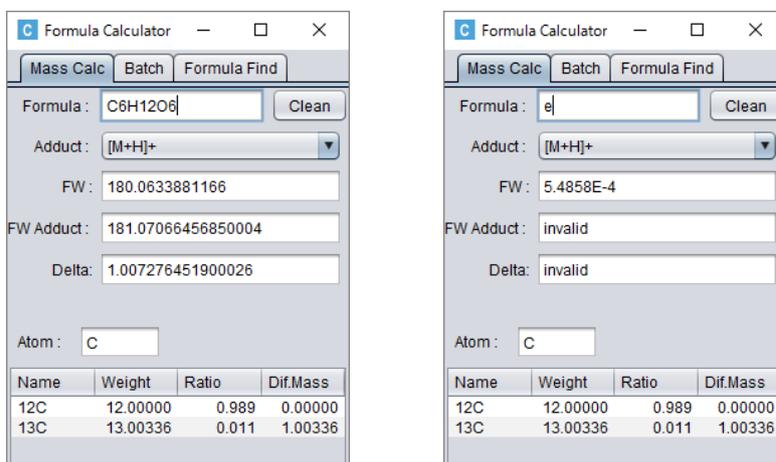
Tool メニューの「Formula Calculator」かツールバーのアイコンを選択します。



組成式から質量値を計算 (Mass Calc タブ)

Formula に組成式を入力し、Adduct を選択すると、その理論質量値と、アダクトとの質量差分が表示されます。

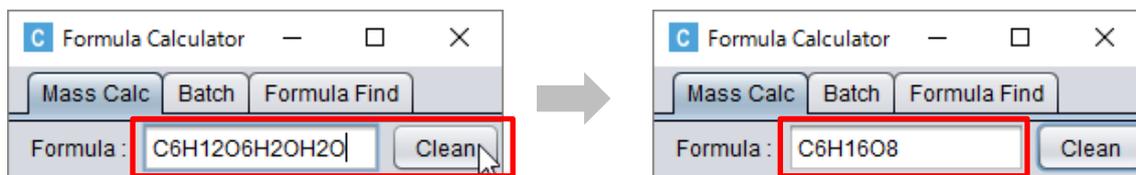
組成式ではなく、小文字アルファベットの「e」を入力すると、FW 欄に電子の精密質量が表示されます。



※アダクトの情報は、MassChroViewer の起動ファイルがあるフォルダ中の conf フォルダに存在する adduct.ini で設定します。この設定は、MassChroViewer ツールで共通で使用されます。adduct.ini ファイルのフォーマットに関しては、「その他の設定-adduct.ini ファイルのフォーマット」の項をご参照ください。

組成式を単純にする

Clean ボタンを押すと、Formula 欄に書かれた組成式中で同じ元素のものをまとめ直します。H₂O などの付加分子がいくつか存在する場合など、シンプルな組成式を計算したい場合に便利です。



安定同位体の精密質量や天然存在比を調べる

Atom 欄に元素記号を入力すると、その元素の安定同位体の精密質量 (Weight)、天然存在比 (Ratio)、最大存在量の核種からの質量差分 (Dif.Mass) が表示されます。

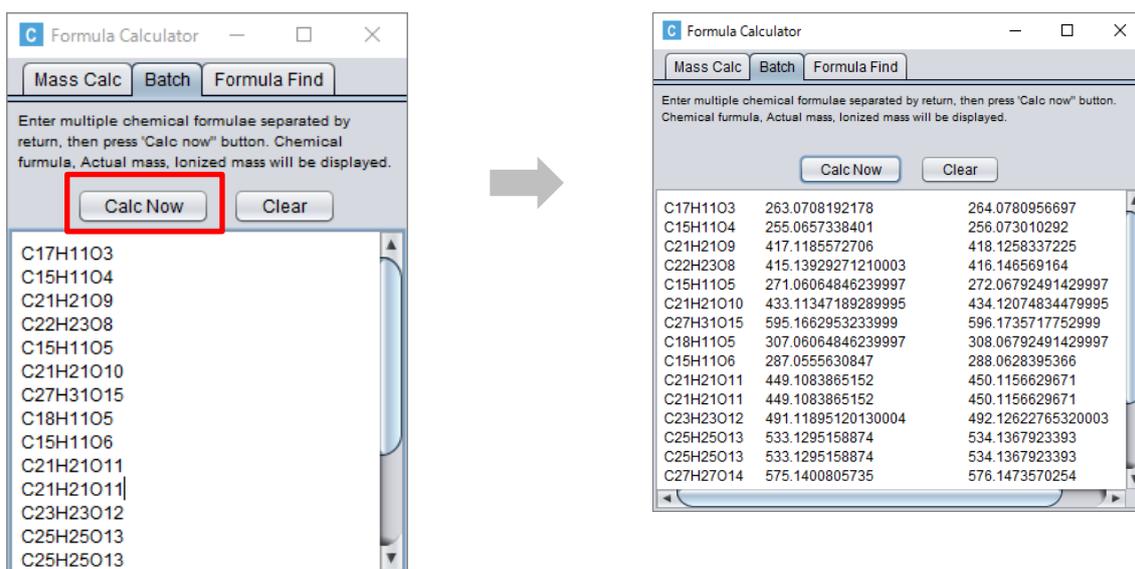
Name	Weight	Ratio	Dif.Mass
32S	31.97207	0.95	0.00000
33S	32.97146	0.008	0.99938
34S	33.96787	0.042	1.99580
36S	35.96708	0	3.99501

精密質量、天然存在比は、De Laeter JR による IUPAC technical report (de Laeter *et al.*, 2003) に基づいており、MassChroViewer 中の各ツールで共通に使用されています。

精密質量のバッチ計算 (Batch タブ)

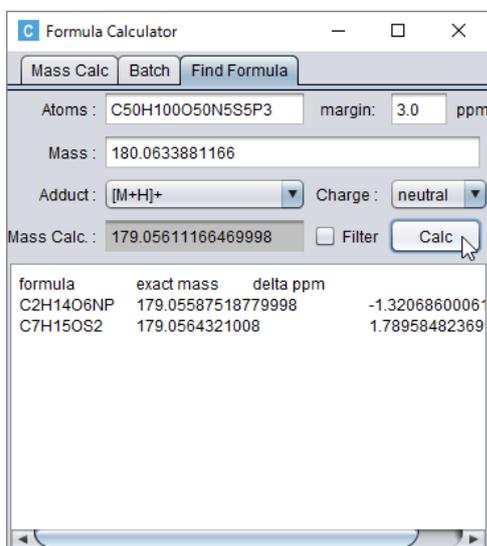
多数の組成式について質量値を計算したい場合に使用します。

テキスト入力欄の各行に組成式を入力して、Calc Now ボタンを押すと、その組成式の精密質量と、Mass Calc タブで選択されている Adduct における精密質量が、タブ区切りテキストとして表示されます。計算結果をコピー&ペーストして使用できます。



質量値から組成式を計算する (Find Formula タブ)

Mass で与えた質量値および、margin の質量範囲内で、Atoms で与えた元素の個数を条件にして、合致する組成式を計算します。アダクトや、チャージも考慮可能で、実際に計算に使われる質量値は、Mass Calc 欄に表示されます。Filter にチェックを付けると、Senior および Lewis ルールに従って、原子価に矛盾のない候補のみが表示されます。計算結果は、下部のテキストエリアに、タブ区切りとして表示されます。

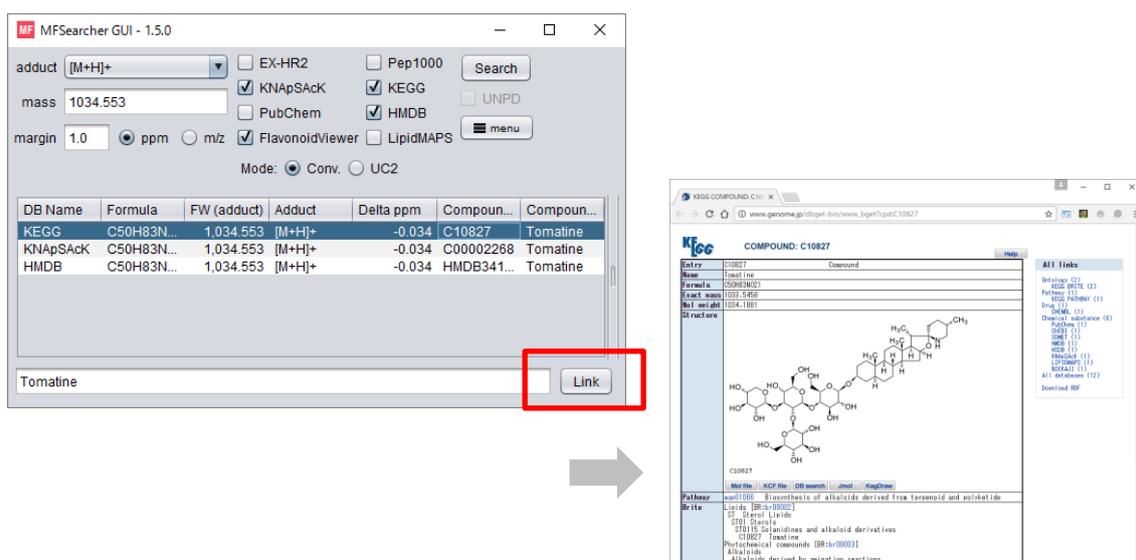


Atoms に記載する、上限の元素数設定は、元素記号に続けて個数を記載します。スペースは入れないでください。

MFSearcher GUI

MFSearcher (Sakurai *et al.*, 2013; Sakurai *et al.*, 2018)は、質量値をもとに、KEGG (Kanehisa *et al.*, 2016)、KNAPSAcK (Afendi *et al.*, 2012)、HMDB (Wishart *et al.*, 2013)、metabolomics.jp のフラボノイドデータベース (<http://metabolomics.jp/wiki/Category:FL>, Flavonoid Viewer)、LIPID MAPS (Fahy *et al.*, 2009)、PubChem (Wang *et al.*, 2009)の化合物データベースに高速に検索を行うことができるツールです。組成式の推定、分子量 1000 までの直鎖状ペプチドの検索も行えます。

mass に質量値、margin に許容誤差範囲を入力し、adduct の種類と対象データベースを選択して「Search」ボタンを押すと、結果が一覧されます。結果一覧からレコードを選んだ状態で「Link」ボタンを押すと、オリジナルのサイトをブラウザで閲覧することができます。



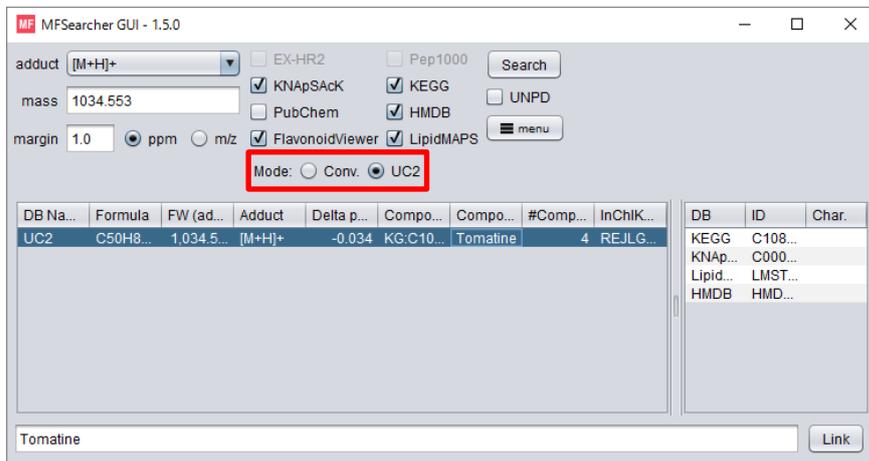
The image shows two screenshots. The left screenshot is the MFSearcher GUI (version 1.5.0). It has a search form with fields for 'adduct' (set to [M+H]⁺), 'mass' (1034.553), and 'margin' (1.0 ppm). There are checkboxes for databases: EX-HR2, KNApSAcK, PubChem, HMDB, FlavonoidViewer, Pep1000, KEGG, and LipidMAPS. A 'Search' button is present. Below the form is a table of results:

DB Name	Formula	FW (adduct)	Adduct	Delta ppm	Compoun...	Compoun...
KEGG	C50H83N...	1,034.553	[M+H] ⁺	-0.034	C10827	Tomatine
KNAPSAcK	C50H83N...	1,034.553	[M+H] ⁺	-0.034	C00002268	Tomatine
HMDB	C50H83N...	1,034.553	[M+H] ⁺	-0.034	HMDB341...	Tomatine

At the bottom of the table, 'Tomatine' is selected, and a 'Link' button is highlighted with a red box. An arrow points from this button to the right screenshot, which is a browser window showing the KEGG Compound C10827 page. The page displays the chemical structure of Tomatine, its name, and various links for further information.

UC2 データベースという独自のデータベースへの検索も可能です。各化合物データベースでは、チャージをもった分子や、塩などの複合体として登録されている化合物が存在し、質量値からの検索の場合に多くの **false positive** ヒットを生む原因となっています。また、複数の化合物データベースには、同じ化合物が重複して登録されているため、検索結果が異なる異性体なのか、同じ化合物なのかを個別に判断する必要があります。UC2 データベース (**U**nique **C**onnectivity of **U**ncharged compound database) は、予め水素の加減で中性化した分子を、元素の結合様式が同じものを示す識別子として **InChIKey** の最初のブロック (14 文字) を使って登録し直したもので、これらの問題を解決します。

UC2 にチェックを入れ、同様に「Search」ボタンで検索をします。化合物データベース間で、元素の結合様式が同じものは、ひとつにまとめられて表示されます。結果一覧の右側には、まとめられた登録化合物が個々に表示されます。個々に表示された化合物をクリックし、Link ボタンを押すことで、オリジナルサイトの情報をブラウザで閲覧できます。



UC2 モードでは、UNPD データベース(Gu *et al.*, 2013)も検索対象にすることができます。一方、組成式推定および直鎖状ペプチドへの検索はできません。

詳しい使用方法は、MFSearcher のウェブサイト (<http://webs2.kazusa.or.jp/mfsearcher/>) で入手できる MFSearcher GUI ツールのマニュアルをご覧ください。

ツール間での連携

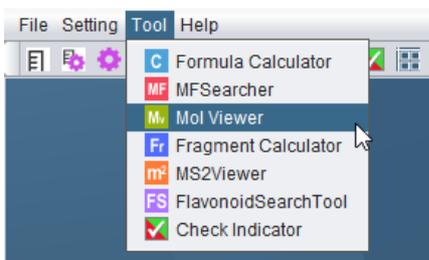
MassChroViewer では、ピークテーブルのリストからピークを選択した際や、2D ウィンドウ内をダブルクリックした際に、MFSearcher ツールの mass 欄にその質量値が入力されます。これにより、すぐにその質量の検索を行うことが可能です。

Mol Viewer ツールや Fragment Calculator ツールが起動している場合に、検索結果をクリックすることで、その構造式がこれらツールに表示されます。

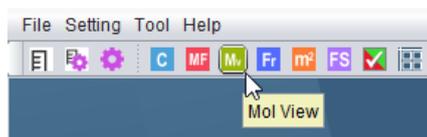
Mol Viewer

MFSearcher で化合物データベースに検索した結果から、構造式を簡易表示するためのツールです。

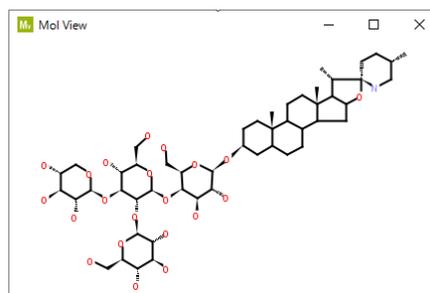
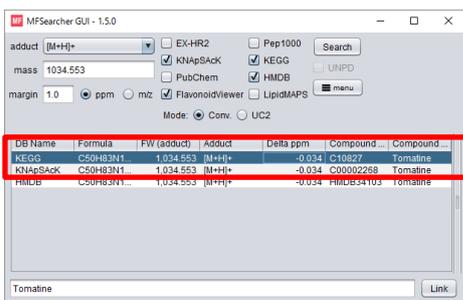
Tool メニューの「Mol Viewer」かツールバーのアイコンを選択します。



または

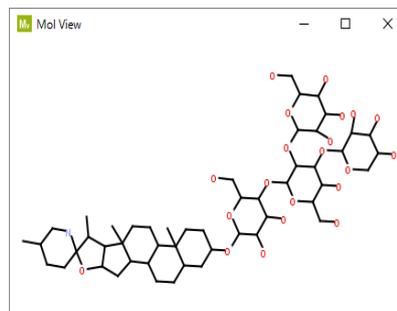
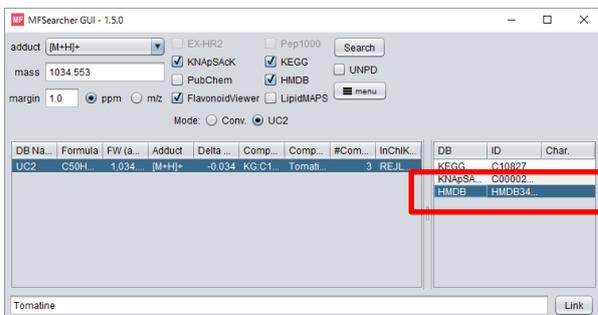


Mol Viewer のウィンドウが開いている状態で、MFSearcher の検索結果をクリックすると、Mol Viewer ウィンドウ内に構造式が表示されます。



※構造情報は、インターネットを介してオリジナルサイトから MDL Mol ファイルまたは SDF ファイルを取得し、描画しています。ご使用環境や対象データベースによっては、データ取得に時間がかかる場合がありますので、ご了承ください。データベースの種類やアップデートの差などために、構造情報を取得できない化合物もあります。

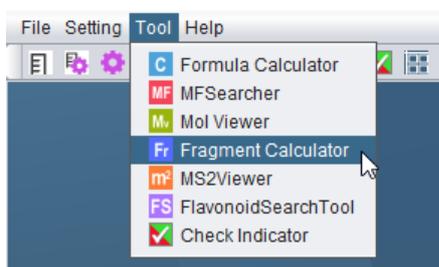
UC2 モードで検索した場合は、結果一覧の右側のテーブルから個々の化合物 ID をクリックすることで、構造が表示されます。



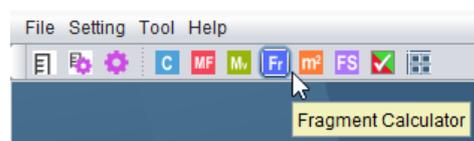
Fragment Calculator

Mol Viewer のように構造式を表示できるほか、選択した部分構造の質量値を計算することができるツールです。MS2Viewer でスペクトルのニュートラルロスを確認しながら、該当する部分構造があるかどうかを確認するのに役立ちます。

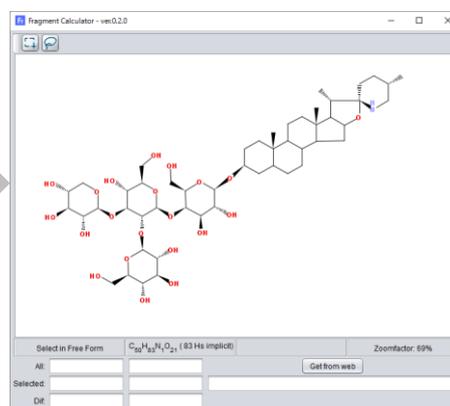
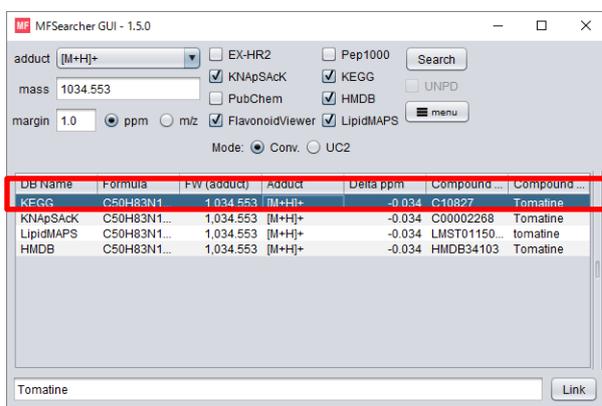
Tool メニューの「Fragment Calculator」を選択します。



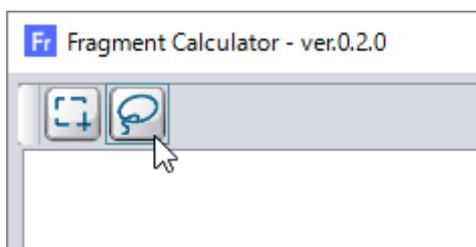
または



MFSearcher の結果一覧からデータを選択すると、その構造式が表示されます。

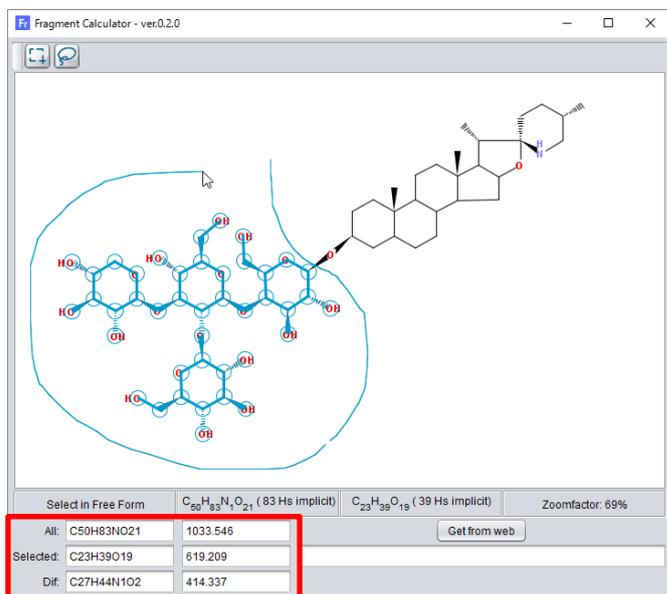


ツール上部にある矩形選択ツール、または投げ縄ツールを選びます。



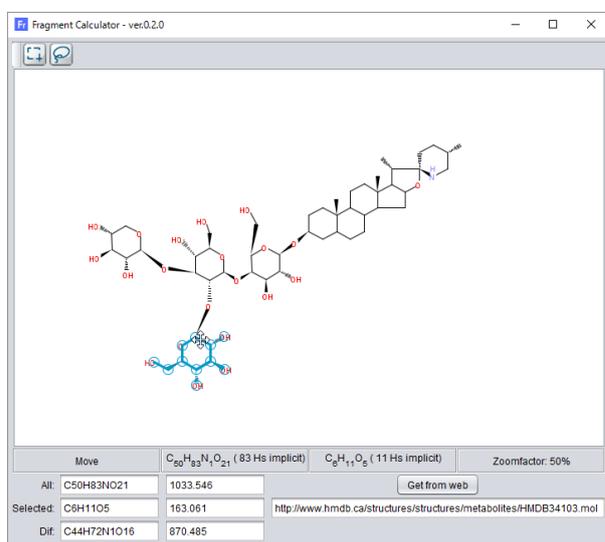
この状態でマウスをドラッグし、部分構造を囲んで選択すると、選択された部分および、

選択されなかった部分の組成式と質量が、ウィンドウ下部に表示されます。

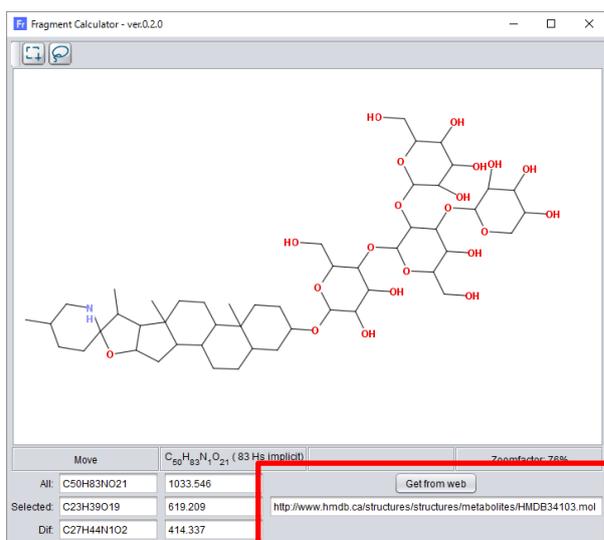


※構造式は、マウスホイールを回転させることで、拡大・縮小できます。

ツール上で選択した構造をドラッグすることで、描画位置を変更できます。込み入った構造をうまく選択したい場合に活用できます。



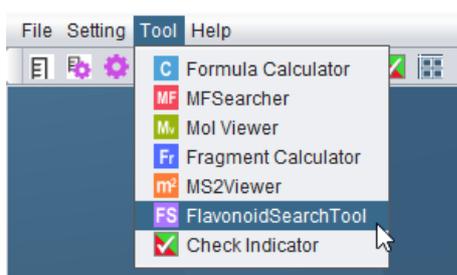
HMDBのように、molフォーマットのテキストをウェブサイトで取得できる場合は、そのURLを欄に入力し、「Get from web」ボタンを押すことで、構造データを読み込むことが可能です。



FlavonoidSearch ツール

FlavonoidSearch は、MS スペクトル情報をもとに、フラボノイドのアグリコンの種類を推定するためのシステムです(Akimoto *et al.*, 2017)。検索用の GUI ツールを MS2Viewer と連携して使用することで、閲覧しているスペクトルを簡単に評価できます。

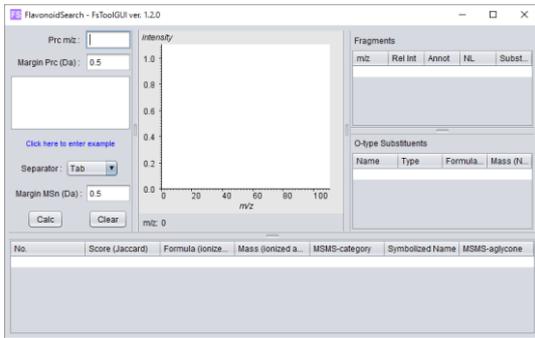
Tool メニューの「FlavonoidSearchTool」を選択します。



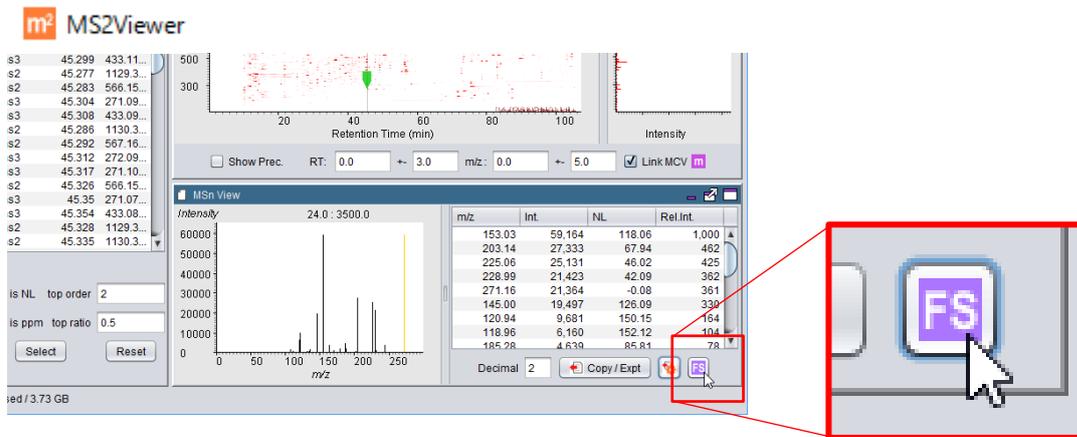
または



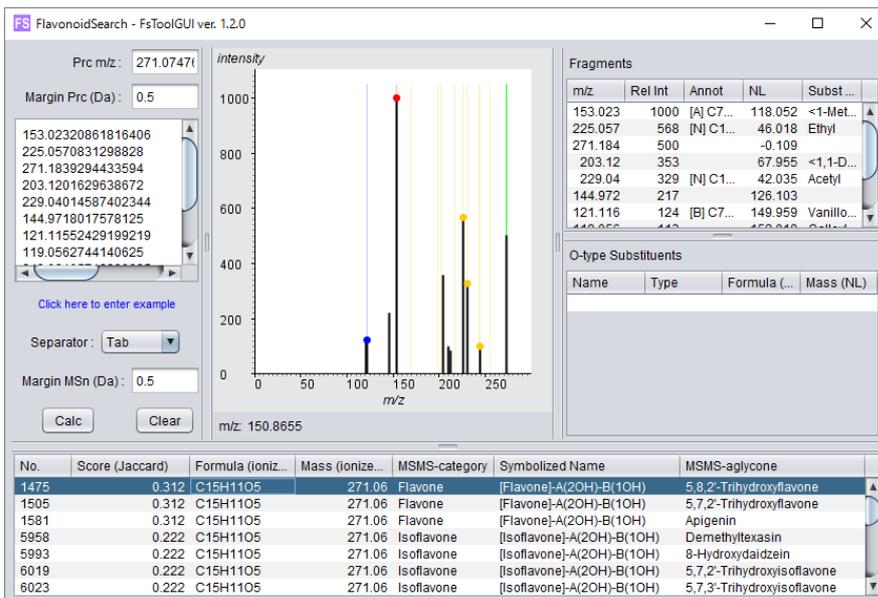
FlavonoidSearch GUI ツール (FsTool) が起動します。



MS2Viewer が起動している状態で、MSn View パネル右下の「FS」ボタンをクリックします。



閲覧中のスペクトルが、FlavonoidSearch ツールに渡され、解析結果が表示されます。



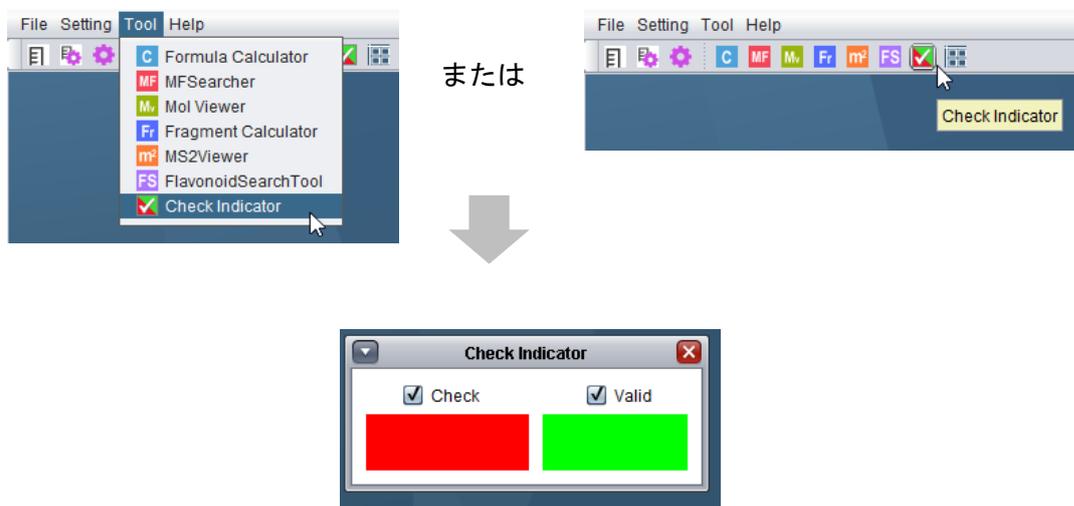
アグリコンの候補は画面下部の表に、糖やアシル基など置換基のニュートラルロスの候補は画面右の表に表示されます。

FlavonoidSearch 検索ツール (FsTool) の詳しい使用方法是、FlavonoidSearch のウェブサイト (<http://www.kazusa.or.jp/komics/software/FlavonoidSearch>) で入手できるマニュアルをご覧ください。

Check Indicator

ピークテーブルで選択したピークの Check と Valid のチェック状態を大きく分かり易く表示するツールです。

Tool メニューの Check Indicator を選択すると、下記のようなインジケータが表示されます。ピークテーブル上で、Check および Valid にチェックが付いたピークを選択すると、インジケータの色が赤および緑でそれぞれ示されます。チェックが付いていないピークの場合は灰色で示されます。



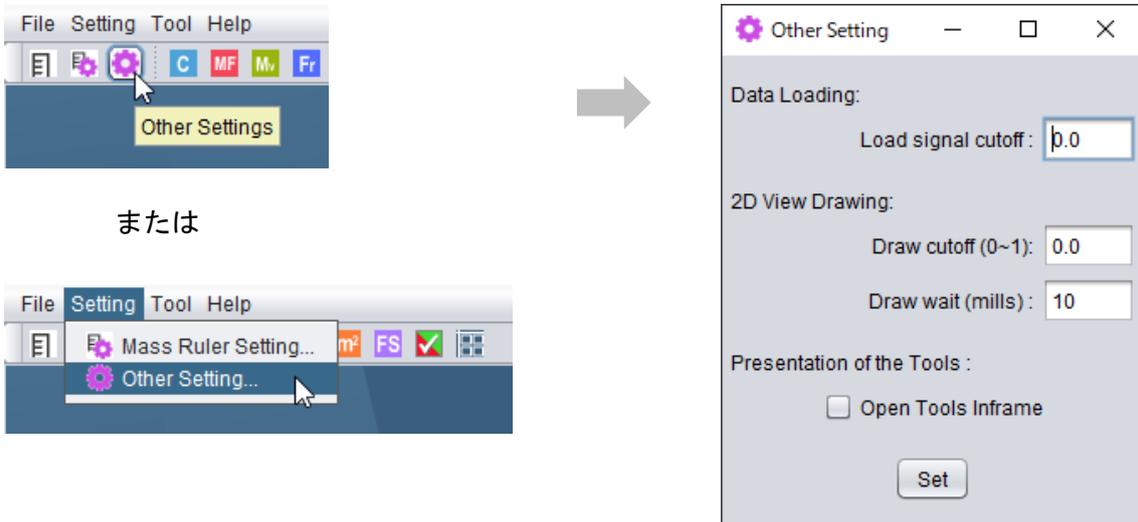
色表示を無効にしたい場合は、インジケータ上の Check および Valid のチェックボックスのチェックを外します。常に灰色として表示されます。

その他の設定

データロード、描画の設定

軽快に動作させるためのデータのロードの設定や、描画時の設定、ツールウィンドウの開き方の設定を行います。

Setting メニューの「Other Setting」またはツールバーのアイコンを選択すると、セッティングウィンドウが開きます。



Data Loading: データロード時の足切り設定をします。

Load signal cutoff: 0以上の数値を設定すると、クロマトデータファイルを読み込むときに、これより小さい強度のイオンの読みこみを省略します。これにより、メモリを節約できますが、描画の解像感は低くなります。

2D View Drawing: 2D画面での描画設定をします。

Draw cutoff (0~1): 現在表示している領域の最大強度のイオンをもとに、設定した比率より強度の小さいイオンの描画を省略します。強度の小さいイオンは、描画濃度を高めると初めて描画されるようになります。

Draw wait (mills): 再描画が行われるまでの時間間隔（ウェイト）をミリ秒で設定します。広範囲の領域を大きな画面で表示している場合、濃度変更を行うなどの処理をした際、ウェイトを0に設定していると、マウス動作に描画が追いつかず、描画がもたつく場合があります。適当なウェイトを設定することで、これを回避できます。一方、沢山のデータファイルを開いて、小さい領域を閲覧している場合には、ウェイトがない方が、マウス操作

に即応したスムーズな描画が可能となります。

Presentation of the Tools: チェックを付けると、Formula Calculator、MFSearcher、Mol Viewer のツールが、2D ウィンドウと同様に MassChroViewer のメイン画面内で起動するようになります。タスクバー上のアイコンをすっきりさせたい場合に有効です。

「Set」ボタンを押すことで、上記の設定が有効になります。

adduct.ini ファイルのフォーマット

adduct.ini ファイルは下図のようなタブ区切りテキストになっています。テキストエディタなどで編集後、MassChroViewer を起動すると、有効になります。

	A	B	C	D	E	F	G
1	[M]+	1				1	TRUE
2	[M+H]+	1	H			1	TRUE
3	[M+NH ₄]+	1	NH ₄			1	TRUE
4	[M+Na]+	1	Na			1	TRUE
5	[M+K]+	1	K			1	TRUE
6	[M-H ₂ O+H]+	1	H	H ₂ O		1	TRUE
7	[M-2(H ₂ O)+H]+	1	H	H ₂ OH ₂ O		1	TRUE
8	[M+ACN+H]+	1	C ₂ H ₃ NH			1	TRUE
9	[M+ACN+Na]+	1	C ₂ H ₃ NNa			1	TRUE
10	[2M+H]+	2	H			1	TRUE
11	[2M+NH ₄]+	2	NH ₄			1	TRUE
12	[M+2H] ₂ ⁺	1	H ₂			2	TRUE
13	[M+2Na] ₂ ⁺	1	Na ₂			2	TRUE
14	[M+Na+H] ₂ ⁺	1	NaH			2	TRUE
15	[M+3H] ₃ ⁺	1	H ₃			3	TRUE
16	[M-H] ⁻	1		H		-1	TRUE
17	[M+HCOO] ⁻	1	HCOO			-1	TRUE
18	[M+Na-2H] ⁻	1	Na	H ₂		-1	TRUE
19	[M+HCOO+Na-H] ⁻	1	HCOONa	H		-1	TRUE
20	[M+HCOO+K-H] ⁻	1	HCOOK	H		-1	TRUE
21	[M-2H] ₂ ⁻	1		H ₂		-2	TRUE
22	[M-3H] ₃ ⁻	1		H ₃		-3	TRUE

各列の意味は以下です。

- 1 列目：表示文字列
- 2 列目：量数（2M の場合 2）
- 3 列目：付加される組成式
- 4 列目：除外される組成式
- 5 列目：その他加算される質量
- 6 列目：電荷

7 列目：有効・無効の設定（MassChroViewer 内では意味をもちません）

adduct.ini ファイルの設定は、MassChroViewer の各ツールで共通に使われます。

高度な使い方

各ツールを単体で起動したい。

起動ファイルに下記赤字で示したオプションを追加することで、Formula Calculator、MFSearcher、MS2Viewer ツールを単体で起動することができます。

Formula Calculator	java -Xmx2G -jar MassChroViewer.jar --formulacalculator
MFSearcher	java -Xmx2G -jar MassChroViewer.jar --mfsearcher
MS2Viewer	java -Xmx2G -jar MassChroViewer.jar --ms2viewer

トラブルシューティング

OutOfMemory エラー

PC に十分なメモリが搭載されているにもかかわらず、MassChroViewer の起動中の黒いコンソール画面に、OutOfMemory というエラーが表示される場合があります。この場合、MassChroViewer の起動ファイルの設定を変更することで、問題を回避できる場合があります。

起動ファイル「MassChroViewerRun.bat」をテキストエディタで開きます。

-Xmx2G の、「2G」と記載された部分が、MassChroViewer で使うことができる最大のメモリ量を表しています。例えば、メモリが 12GB 搭載されているコンピューターの場合、他のソフトウェアをお使いでなければ、-Xmx8G などに設定すると、多数のファイルを開

くことが可能になります。

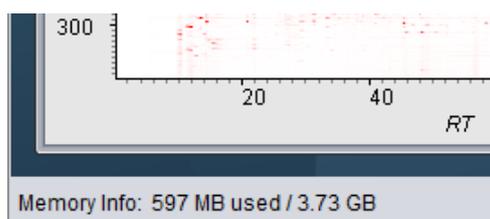
例)	<code>java -Xmx8G -jar MassChroViewer.jar</code>
----	--

※小数点を含むメモリサイズの設定はできません。この場合は、「-Xmx2500M」のように MB 単位で設定してください。

※32 ビットの PC や、32 ビット版の Java をお使いの場合は、最大 1300MB 程度しか設定できません。

編集した起動ファイルを上書き保存します。その後、起動ファイルをダブルクリックして MassChroViewer を起動します。

MassChroViewer が使用しているメモリ量は、ツールの左下の「Memory Info」に表示されますので、ご参考にしてください。



公開論文

Sakurai N and Shibata (2017) Tools and databases for an integrated metabolite annotation environment for liquid chromatography–mass spectrometry–based untargeted metabolomics. Carotenoid Science 22: 16-22

お問い合わせ先

(開発元)

公益財団法人 かずさ DNA 研究所

大学共同利用機関法人 情報・システム研究機構

国立遺伝学研究所

櫻井望 E-mail: sakurai AT nig.ac.jp (AT を半角@に変更してください)

参考文献

- Afendi, F.M. *et al.* (2012) KNApSAcK family databases: integrated metabolite-plant species databases for multifaceted plant research, *Plant Cell Physiol.*, **53**, e1.
- Akimoto, N. *et al.* (2017) FlavonoidSearch: A system for comprehensive flavonoid annotation by mass spectrometry, *Sci Rep*, **7**, 1243.
- Ara, T. *et al.* (2015) Metabolonote: a wiki-based database for managing hierarchical metadata of metabolome analyses, *Front. Bioeng. Biotechnol.*, **3**, 38.
- de Laeter, J.R. *et al.* (2003) Atomic weights of the elements: Review 2000 (IUPAC Technical Report), *Pure Appl. Chem.*, **75**, 683-800.
- Fahy, E. *et al.* (2009) Update of the LIPID MAPS comprehensive classification system for lipids, *J. Lipid Res.*, **50 Suppl**, S9-14.
- Gu, J. *et al.* (2013) Use of natural products as chemical library for drug discovery and network pharmacology, *PLoS One*, **8**, e62839.
- Kanehisa, M. *et al.* (2016) KEGG as a reference resource for gene and protein annotation, *Nucleic Acids Res.*, **44**, D457-462.
- Sakurai, N. *et al.* (2013) An application of a relational database system for high-throughput prediction of elemental compositions from accurate mass values, *Bioinformatics*, **29**, 290-291.
- Sakurai, N. *et al.* (2018) UC2 search: using unique connectivity of uncharged compounds for metabolite annotation by database searching in mass spectrometry-based metabolomics, *Bioinformatics*, **34**, 698-700.
- Wang, Y. *et al.* (2009) PubChem: a public information system for analyzing bioactivities of small molecules, *Nucleic Acids Res.*, **37**, W623-633.
- Wishart, D.S. *et al.* (2013) HMDB 3.0—The Human Metabolome Database in 2013, *Nucleic Acids Res.*, **41**, D801-807.