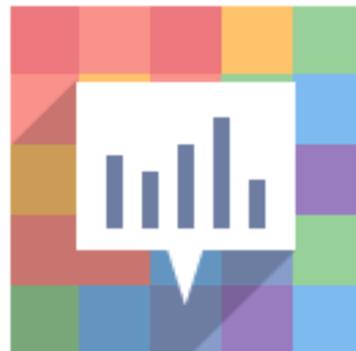


Very Basic of IMAGEREVEAL MS

差異解析を例に

起動用アイコン



起動画面

The screenshot displays the IMAGEREVEAL software interface. The main window is titled "差異解析 | No Title - IMAGEREVEAL". The interface is divided into several panels:

- Left Panel (Navigation):** Contains a sidebar with icons for "ファイル" (File), "画像設定" (Image Settings), "データ行列" (Data Matrix), and "差異解析" (Difference Analysis). The "差異解析" section is currently active, showing options like "検定" (Test), "PCA計算" (PCA Calculation), and "PCA結果表示" (PCA Result Display).
- Top Panel (ROI List):** Titled "ROIリスト", it contains a table with columns: No., 使用 (Used), ファイル名 (File Name), ROI名 (ROI Name), and 属性 (Attribute).
- Center Panel (Data Matrix Table):** Titled "データ行列テーブル", it contains a table with columns: No., 使用 (Used), タグ (Tag), ラベル (Label), m/z, 組成式 (Chemical Formula), アダクトイオン (Adduct Ion), マトリックス (Matrix), and 極性 (Polarity).
- Bottom Panel (Graph):** Titled "グラフ", it features a "スペクトル" (Spectrum) view and a "箱ひげ図" (Box Plot) view. It includes a "ピークピッキング" (Peak Picking) button and an "MSイメージ追加" (Add MS Image) button.
- Right Panel (MS Image):** Titled "MSイメージ", it shows a large dark area for the MS image and a sidebar with input fields for "m/z±許容幅" (m/z ± Tolerance), "化合物名/コメント" (Compound Name/Comment), "アダクトイオン" (Adduct Ion), "ファイル名" (File Name), and "タイプ" (Type). It also has a "情報のコピー" (Copy Information) button.
- Bottom Right Panel (MS Image List):** Titled "MSイメージ一覧", it includes buttons for "MSイメージ追加" (Add MS Image), "削除" (Delete), "リセット" (Reset), "ソート" (Sort), "表示" (Display), "m/z検索" (m/z Search), "重ね合わせ" (Overlay), and "四則演算" (Arithmetic Operations).

In the center of the interface, a dialog box titled "解析手法の選択" (Select Analysis Method) is open, highlighted with a green rounded rectangle. It contains the following options:

- プロジェクトファイルを開く (Open Project File)
- 新規プロジェクト (New Project)
- 差異解析 (Difference Analysis)
- 画像解析 (Image Analysis)
- 定量解析 (Quantitative Analysis)
- スクリーニング (Screening)
- スクリーニング (定量) (Quantitative Screening)

プロジェクトの選択



既存のプロジェクト
ファイルを開く

変動を知りたい

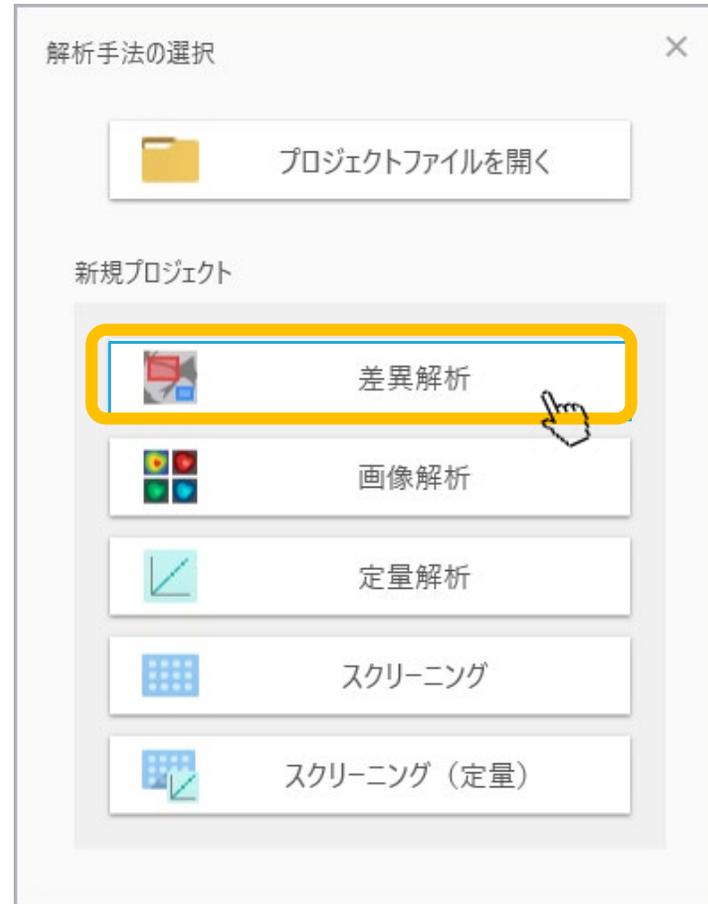
局在を知りたい

濃度でイメージングしたい

沢山の試料を処理したい

沢山の試料を定量したい

プロジェクトの選択例（差異解析）



既存のプロジェクト
ファイルを開く

変動を知りたい

局在を知りたい

濃度でイメージングしたい

沢山の試料を処理したい

沢山の試料を定量したい

基本的にアシスタントバーを上から下に進めば解析完了

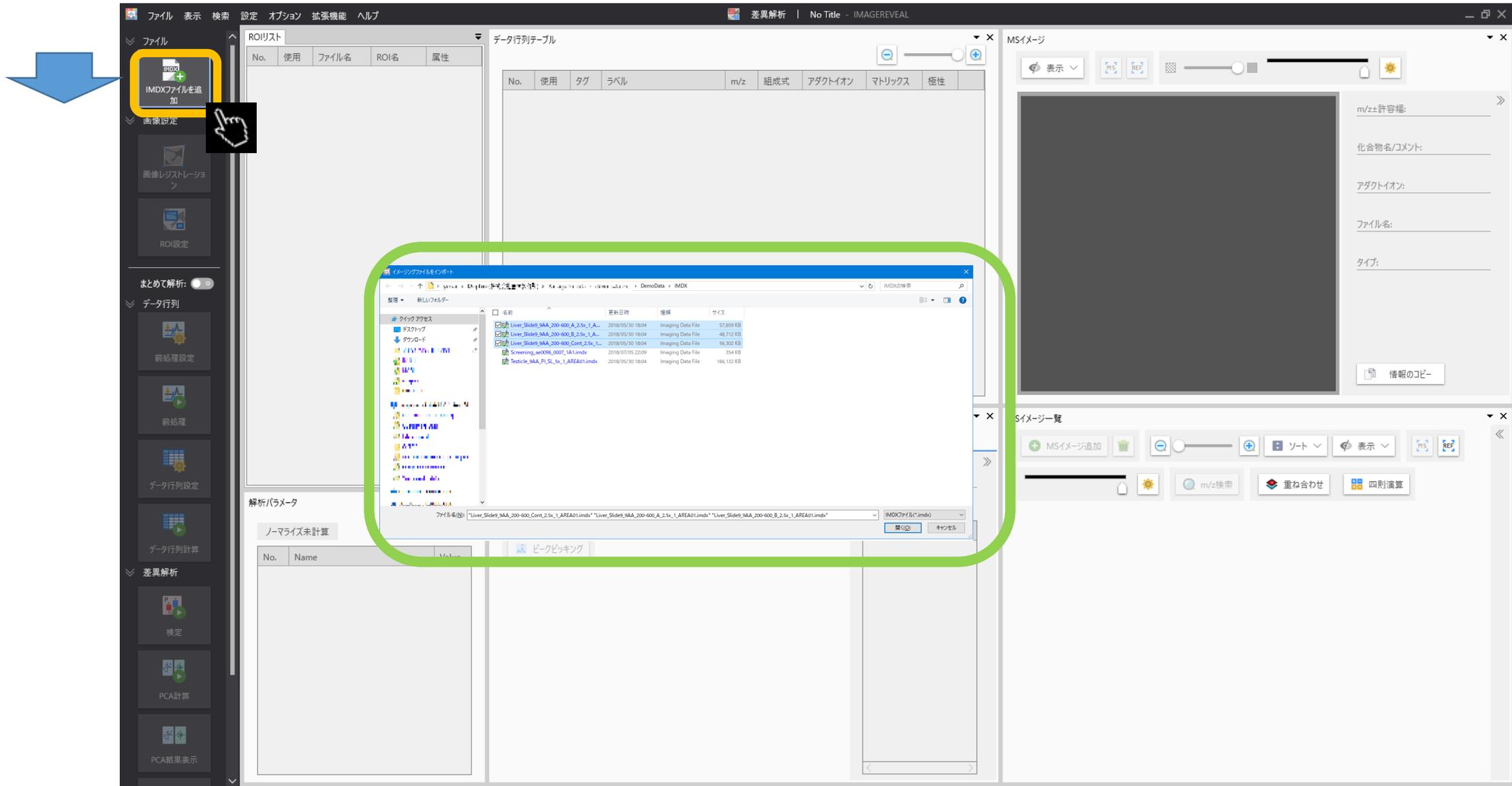
The screenshot shows the IMAGEREVEAL software interface. A large green arrow on the left points downwards along the sidebar, indicating the sequence of steps from top to bottom. The sidebar contains the following items:

- ファイル (Files)
- IMDXファイルを追加 (Add IMDX file)
- 画像設定 (Image Settings)
- 画像レジストレーション (Image Registration)
- ROI設定 (ROI Settings)
- まとめて解析: (Batch Analysis:)
- データ行列 (Data Matrix)
- 前処理設定 (Pre-processing Settings)
- 前処理 (Pre-processing)
- データ行列設定 (Data Matrix Settings)
- データ行列計算 (Data Matrix Calculation)
- 差異解析 (Difference Analysis)
- 検定 (Testing)
- PCA計算 (PCA Calculation)
- PCA結果表示 (PCA Result Display)

The main workspace is divided into several panels:

- ROIリスト** (ROI List): A table with columns: No., 使用 (Used), ファイル名 (File Name), ROI名 (ROI Name), 属性 (Attribute).
- データ行列テーブル** (Data Matrix Table): A table with columns: No., 使用 (Used), タグ (Tag), ラベル (Label), m/z, 組成式 (Chemical Formula), アダクトイオン (Adduct Ion), マトリックス (Matrix), 極性 (Polarity).
- MSイメージ** (MS Image): A large dark area for displaying mass spectra, with a right-hand panel for metadata: m/z許容幅 (m/z Tolerance), 化合物名/コメント (Compound Name/Comment), アダクトイオン (Adduct Ion), ファイル名 (File Name), タイプ (Type), and a button for 情報のコピー (Copy Information).
- グラフ** (Graph): A section for visualization with tabs for **スペクトル** (Spectrum) and **箱ひげ図** (Box Plot). It includes a **ROI平均** (ROI Average) dropdown, a **全て計算** (Calculate All) button, and a **ピークピッキング** (Peak Picking) button. Below these are buttons for **MSイメージ追加** (Add MS Image) and **m/z検索** (m/z Search).
- MSイメージ一覧** (MS Image List): A panel for managing multiple MS images, featuring buttons for **MSイメージ追加** (Add MS Image), **削除** (Delete), **表示** (Display), **ソート** (Sort), **m/z検索** (m/z Search), **重ね合わせ** (Overlay), and **四則演算** (Arithmetic Operations).
- 解析パラメータ** (Analysis Parameters): A table for parameters, with a sub-section for **ノーマライズ未計算** (Not Normalized/Not Calculated) with columns: No., Name, Value.

1. データファイル(.lmdx)を追加



The screenshot displays the IMAGEREVEAL software interface. On the left sidebar, the 'ファイル' (File) menu is expanded, and the 'IMDXファイルを追加' (Add IMDX File) button is highlighted with a blue arrow. Below it, the 'データ行列' (Data Matrix) section is visible, with the 'データ行列設定' (Data Matrix Settings) button highlighted. The main window shows the 'データ行列テーブル' (Data Matrix Table) and the 'MSイメージ' (MS Image) panel. A dialog box titled 'イメージファイルインポート' (Image File Import) is open, showing a list of files to be imported. The files listed are:

名前	更新日時	種類	サイズ
<input checked="" type="checkbox"/> Liver_Slides_9AA_200-600_A_2.5x_1_A_...	2018/05/30 18:04	Imaging Data File	57,859 KB
<input checked="" type="checkbox"/> Liver_Slides_9AA_200-600_B_2.5x_1_A_...	2018/05/30 18:04	Imaging Data File	48,712 KB
<input checked="" type="checkbox"/> Liver_Slides_9AA_200-600_Cent_2.5x_1_...	2018/05/30 18:04	Imaging Data File	98,300 KB
<input checked="" type="checkbox"/> Screening_w0096_0007_1A.Limdx	2018/07/05 22:09	Imaging Data File	354 KB
<input checked="" type="checkbox"/> Testicle_9AA_Pl_Sl_Sx_1_AREA01.lmdx	2018/05/30 18:04	Imaging Data File	166,132 KB

The dialog box also shows the 'ファイル名' (File Name) field with the path: "Liver_Slides_9AA_200-600_Cent_2.5x_1_AREA01.lmdx*" "Liver_Slides_9AA_200-600_A_2.5x_1_AREA01.lmdx*" "Liver_Slides_9AA_200-600_B_2.5x_1_AREA01.lmdx*" and the 'IMDXファイル名' (IMDX File Name) field with the value: "IMDXファイル名.lmdx".

データを3個読み込んだ例



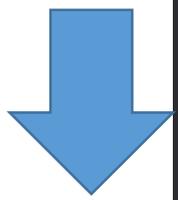
The screenshot displays the IMAGEREVEAL software interface with several panels:

- ROIリスト (ROI List):** A table listing three loaded files.

No.	使用	ファイル名	ROI名	属性
1		Liver_Slide...	All	Center
2		Liver_Slide...	All	Center
3		Liver_Slide...	All	Center

- データ行列テーブル (Data Matrix Table):** A table with columns: No., 使用, タグ, ラベル, m/z, 組成式, アダクトイオン, マトリックス, 極性.
- MSイメージ (MS Image):** A large heatmap visualization of the data.
- MSイメージ一覧 (MS Image List):** A list of three MS images, each with a TIC (Total Ion Chromatogram) plot below it. The three images are highlighted with a green box.
- グラフ (Graph):** Two mass spectra plots showing intensity vs. m/z. The top plot is labeled 'スペクトル 箱ひげ図' and the bottom plot is 'Liver_Slide9_9AA_200-600_Cont.2.5x_1_AREA01.imdx Whole_Ave.'.
- 解析パラメータ (Analysis Parameters):** A table for parameters like 'ノーマライズ未計算'.

2. 画像レジストレーション



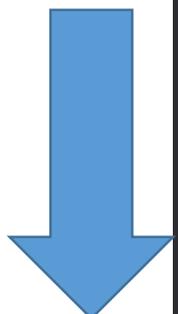
The screenshot displays the IMAGEREVEAL software interface. A blue arrow on the left points to the '画像レジストレーション' (Image Registration) button in the sidebar. A green box highlights the '画像レジストレーション' dialog box, which is currently in the '01. 参照画像の選択' (Select Reference Image) step. The dialog shows a list of IMDX files and two reference images, 'Reference Image 1' and 'Reference Image 2', which are grayscale images of a dark, curved object. A text box in the center of the dialog reads: '必要があれば光学像とMSイメージデータの位置を合わせます。' (If necessary, align the positions of the optical image and MS image data). The background shows the main software window with a 'ROIリスト' (ROI List) table, a 'データ行列テーブル' (Data Matrix Table), and an 'MSイメージ' (MS Image) viewer. The 'ROIリスト' table contains the following data:

No.	使用	ファイル名	ROI名	属性
1		Liver_Slide...	All	Center
2		Liver_Slide...	All	Center
3		Liver_Slide...	All	Center

The 'データ行列テーブル' (Data Matrix Table) is currently empty. The 'MSイメージ' (MS Image) viewer shows a mass spectrum plot with the following data points:

m/z	Intensity
209.037	
229.053	
230.037	
274.039	
273.039	
273.039	
306.075	
371.135	
388.140	
385.144	
421.121	
465.300	
514.282	
599.317	

3. ROI設定



ROI設定

IMDXファイル: Liver_Slide9_9AA_200-600_A_2.5x_1_AREAC

参照画像: Reference Image 1

ROI設定

濃度: [Slider]
コントラスト: [Slider]
透明度: [Slider]
平滑化フィルター: なし

MSイメージ設定

ファイル: [Dropdown]
MSイメージ: TIC

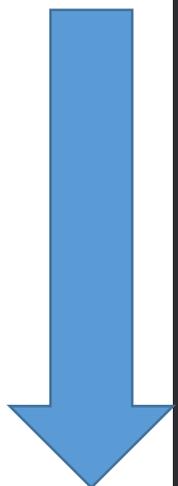
No.	使用	ファイル名	ROI名	属性	データ
1	<input type="checkbox"/>	Liver_Slide9_9AA_200-6...	All	Center	
2	<input type="checkbox"/>	Liver_Slide9_9AA_200-6...	All	Center	
3	<input type="checkbox"/>	Liver_Slide9_9AA_200-6...	All	Center	
4	<input checked="" type="checkbox"/>	Liver_Slide9_9AA_200-6...	ROI001	outside	
5	<input checked="" type="checkbox"/>	Liver_Slide9_9AA_200-6...	ROI002	Center	
6	<input checked="" type="checkbox"/>	Liver_Slide9_9AA_200-6...	ROI003	Edge	

興味のある部分を指定します。

MSイメージ: [Color Scale]
ROI表示設定: 透明度 [Slider] ラベル 表示する

MS/MS: 209.034, 274.039, 306.075, 371.135, 421.121, 465.300, 514.282, 599.317
m/z

4. 前処理設定



前処理設定

ノーマライズ なし TIC XIC

インポート エクスポート

No.	使用	m/z	許容幅

ノーマライズの設定をします。

基準値を設定

最小しきい値 (%)

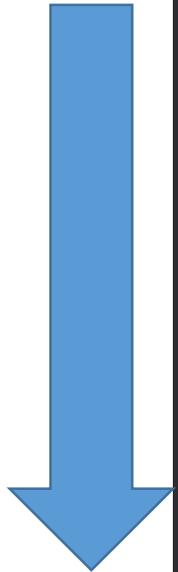
指定方法 範囲 中心±許容誤差

OK キャンセル

No.	使用	ファイル名	ROI名	属性
1		Liver_Slide...	All	Center
2		Liver_Slide...	All	Center
3		Liver_Slide...	All	Center
4	✓	Liver_Slide...	ROI001	outside
5	✓	Liver_Slide...	ROI002	Center
6	✓	Liver_Slide...	ROI003	Edge

No.	Name	Value

5. 前処理



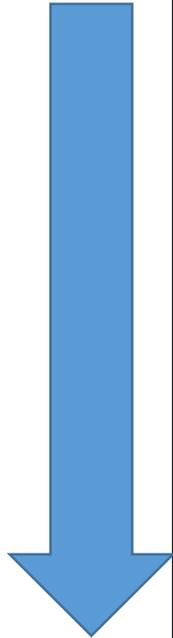
The screenshot shows the IMAGEREVEAL software interface during the preprocessing step. A large blue arrow on the left points to the '前処理' (Preprocessing) button in the sidebar, which is highlighted with a yellow box and a mouse cursor. The main window displays the 'データ行列テーブル' (Data Matrix Table) with the following data:

No.	使用	ファイル名	ROI名	属性
1		Liver_Slide...	All	Center
2		Liver_Slide...	All	Center
3		Liver_Slide...	All	Center
4	✓	Liver_Slide...	ROI001	outside
5	✓	Liver_Slide...	ROI002	Center
6	✓	Liver_Slide...	ROI003	Edge

The central window shows a progress bar for 'データ行列を作成' (Create Data Matrix) and 'ノーマライズ係数計算中...3220' (Calculating normalization coefficients...3220). A 'キャンセル' (Cancel) button is visible. Below the progress bar, there are two mass spectra plots. The top plot is labeled 'ピークピッキング' (Peak Picking) and the bottom plot is labeled 'Liver_Slide9_9AA_200-600_Cont_2.5x_1_AREA01.imdx Whole_Ave.'. Both plots show intensity versus m/z with several peaks labeled with their m/z values.

On the right side, the 'MSイメージ' (MS Image) window displays a large, colorful mass image. Below it, the 'MSイメージ一覧' (MS Image List) window shows three smaller mass images labeled 'TIC'.

6. データ行列設定



ソフトウェアのスクリーンショット。左側のメニューで「データ行列設定」が選択されています。中央には「データ行列の設定」ダイアログボックスが開かれ、対象ピークを設定するためのリストが表示されています。右側にはMSイメージとMSイメージ一覧の表示があります。

データ行列設定ダイアログボックスの「化合物リスト」:

No.	化合物名	m/z	組成式	マトリックス	極性	アダクトイオン
1	885.47756	885.47756	Monoisotopic	Any	両極性	
2	514.21096	514.21096	Monoisotopic	Any	両極性	
3	465.22228	465.22228	Monoisotopic	Any	両極性	
4	193.09039	193.09039	Monoisotopic	Any	両極性	
5	194.10945	194.10945	Monoisotopic	Any	両極性	
6	887.50298	887.50298	Monoisotopic	Any	両極性	
7	886.48801	886.48801	Monoisotopic	Any	両極性	
8	47.93884	47.93884	Monoisotopic	Any	両極性	
9	605.98307	605.98307	Monoisotopic	Any	両極性	
10	888.51140	888.51140	Monoisotopic	Any	両極性	
11	515.21557	515.21557	Monoisotopic	Any	両極性	
12	286.85653	286.85653	Monoisotopic	Any	両極性	
13	333.22942	333.22942	Monoisotopic	Any	両極性	
14	893.59704	893.59704	Monoisotopic	Any	両極性	
15	466.22532	466.22532	Any	Any	両極性	
16	284.33868	284.33868	Monoisotopic	Any	両極性	
17	284.68885	284.68885	Monoisotopic	Any	両極性	
18	861.46134	861.46134	Monoisotopic	Any	両極性	
19	896.51447	896.51447	Monoisotopic	Any	両極性	
20	564.94982	564.94982	Monoisotopic	Any	両極性	

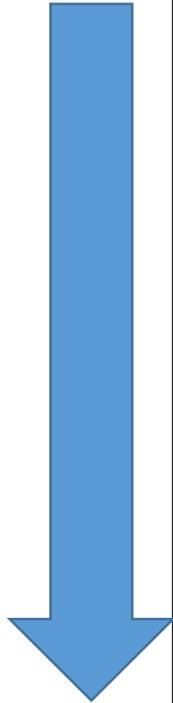
下部には質量スペクトルが表示されており、ピークがラベルされています。

MSイメージ一覧:

- Liver_Slide9_9A... (TIC)
- Liver_Slide9_9A... (TIC)
- Liver_Slide9_9A... (TIC)

対象ピークを設定します。

7. データ行列計算



ROIリスト

No.	使用	ファイル名	ROI名	属性
1		Liver_Slide...	All	Center
2		Liver_Slide...	All	Center
3		Liver_Slide...	All	Center
4	✓	Liver_Slide...	ROI001	outside
5	✓	Liver_Slide...	ROI002	Center
6	✓	Liver_Slide...	ROI003	Edge

データ行列テーブル

No.	使用	タグ	ラベル	m/z	組成式	アダクトイオン	マトリックス	極性
-----	----	----	-----	-----	-----	---------	--------	----

MSイメージ

化合物名/コメント:
TIC

ファイル名:
Liver_Slide9_9AA_200-600_Cont_2_5x_1_AREA01.imdx

タイプ:
TIC

500 μ m

情報のコピー

MSイメージ一覧

MSイメージ追加

ソート

表示

m/z検索

重ね合わせ

四別演算

Liver_Slide9_9A... TIC

Liver_Slide9_9A... TIC

Liver_Slide9_9A... TIC

グラフ

スペクトル

ピークピッキング

Intensity

m/z

229.053, 274.040, 370.134, 421.121, 468.111, 514.282, 599.317

Liver_Slide9_9AA_200-600_Cont_2.5x_1_AREA01.imdx Whole_Ave.

Intensity

m/z

230.037, 273.039, 385.144, 388.140, 421.121, 465.300, 514.282, 599.317

解析パラメータ

TIC

No.	Name	Value
1	ノーマライズ	TIC
2	ノーマライズ基準値設定	オフ
3	ノーマライズ最小しきい値(%)	0

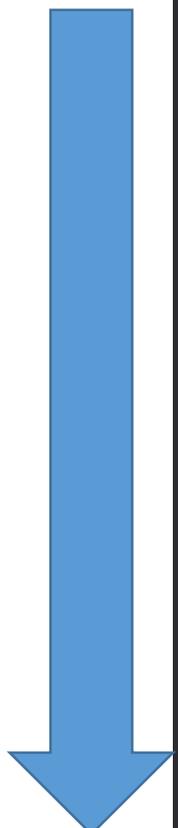
データ行列計算

データ行列を作成

計算中...3392

キャンセル

8. 検定



The screenshot displays the IMAGEREVEAL software interface during a statistical test. The sidebar on the left has the '検定' (Statistical Test) option highlighted in yellow. The main window is divided into several panels:

- ROIリスト (ROI List):** A table listing ROI information for different files and groups.
- データ行列テーブル (Data Matrix Table):** A table showing statistical results for various m/z values across different groups.
- 箱ひげ図 (Box Plot):** A plot showing the distribution of intensity for a selected m/z value across three groups (A, B, and C).
- MSイメージ (MS Image):** A heatmap showing the intensity distribution of ions across the sample area.

The 'データ行列テーブル' (Data Matrix Table) is the primary focus, showing the following data:

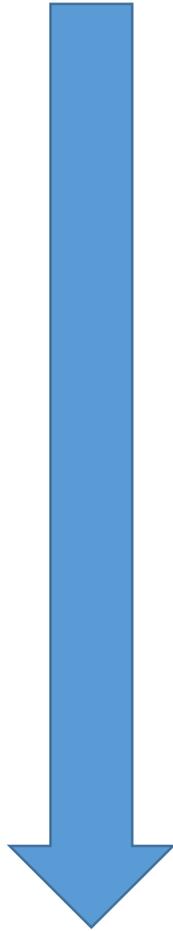
No.	使用	タグ	ラベル	P値 (ANOVA)	ROI001	ROI002	ROI003
1	✓		273.04150	1.818e-004	697514.876	752243.993	718
2	✓		230.04050	1.771e-023	361372.476	312953.671	413
3	✓		385.14503	1.897e-013	334828.087	345055.517	405
4	✓		241.01762	1.242e-002	218826.462	232437.596	211
5	✓		229.05424	2.249e-020	149114.701	129665.013	189
6	✓		370.13479	5.993e-005	160400.847	142544.646	152
7	✓		386.14078	1.896e-006	142086.361	138218.511	161
8	✓		232.03642	8.926e-010	114532.579	102706.255	135
9	✓		274.03961	3.940e-001	125326.759	127112.316	131
10	✓		231.04678	3.840e-014	102745.658	91183.497	127
11	✓		384.13629	1.200e-003	124070.992	123130.324	137
12	✓		259.02437	3.937e-005	131055.157	136581.683	115
13	✓		421.12234	1.536e-018	54027.579	60123.540	86
14	✓		284.09077	1.262e-001	52069.013	48612.598	48
15	✓		371.13084	5.343e-001	49928.461	47886.942	50
16	✓		299.05953	6.618e-001	57345.264	57582.299	59
17	✓		239.06423	3.848e-001	45283.994	42642.415	45
18	✓		209.06285	9.275e-001	62951.695	62359.080	62

The '箱ひげ図' (Box Plot) shows the intensity distribution for m/z 230.04050 across three groups (A, B, and C). The y-axis represents Intensity, ranging from 0 to 600,000. The x-axis shows the groups. The plot indicates that Group A has the highest intensity, followed by Group B, and then Group C.

The MS image viewer shows a heatmap of the sample area, with a '検定' (Statistical Test) dialog box overlaid. The dialog box displays '検定中...' (Testing...) and a 'キャンセル' (Cancel) button. The MS image viewer also shows the selected m/z value (230.04050) and the corresponding TIC (Total Ion Chromatogram) plot.

結果はデータ行列テーブルと箱ひげ図に出ます。
※箱ひげ図はMSイメージ一覧内で選択したm/zについて表示されます。

9. PCA計算



ソフトウェアの操作画面で、PCA計算のワークフローを示しています。

データ行列テーブル

No.	使用	タグ	ラベル	比(Edge)	P値 (ANOVA)	ROI001
1	✓		514.21096	34	1.000	8.391e-001
2	✓		465.22228	24	1.000	3.745e-001
3	✓		515.21557	50	1.000	8.697e-001
4	✓		286.85653	65	1.000	4.604e-001
5	✓		333.22942	14	1.000	6.807e-001
6	✓		466.22532	65	1.000	5.274e-001
7	✓		284.33868	90	1.000	1.499e-001
8	✓		284.68885	26	1.000	6.889e-001
9	✓		564.94982	73	1.000	5.659e-001
10	✓		498.21575	57	1.000	7.206e-001

PCAパラメータ

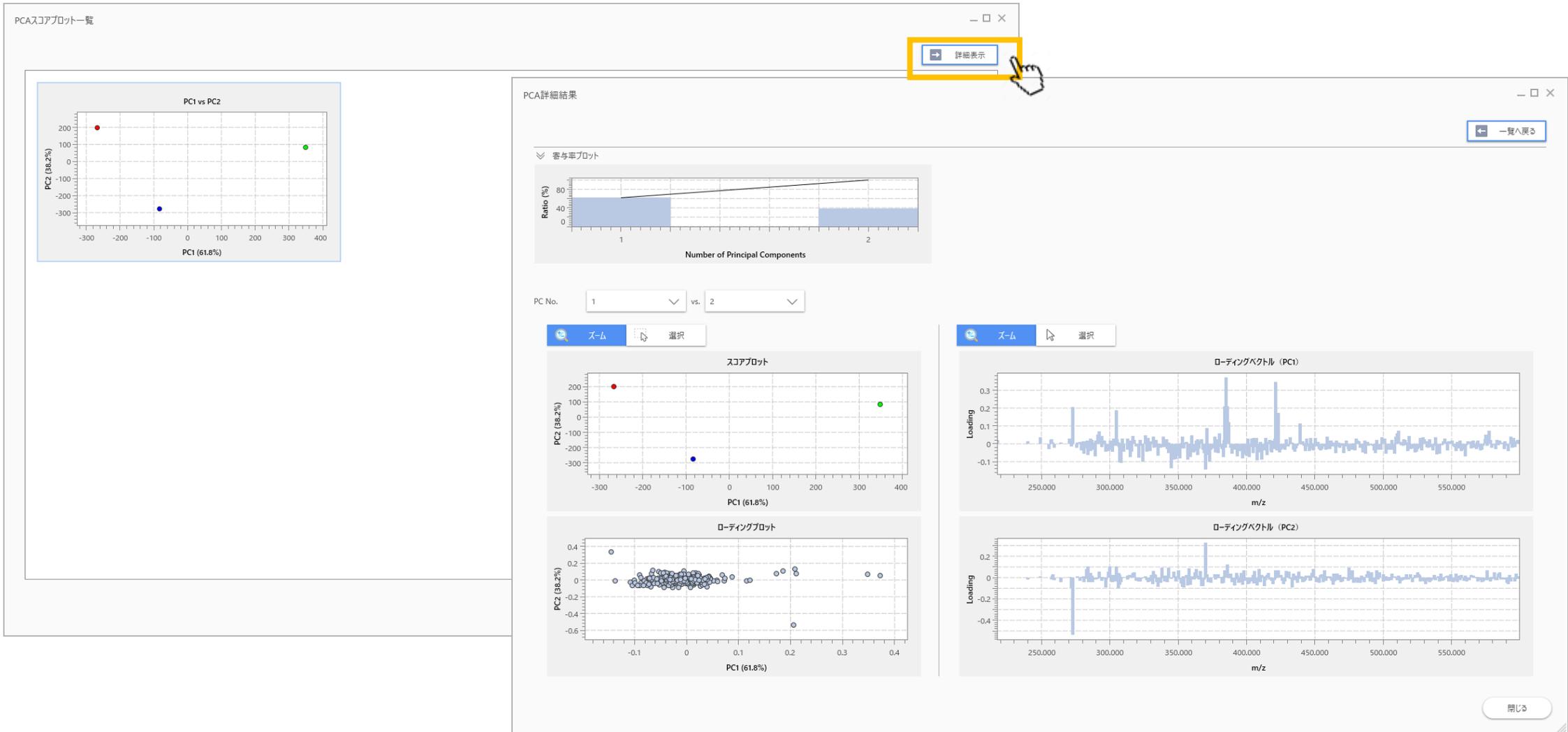
主成分数: 自動 手動 (値: 5)

前処理:

実行ボタン (黄色い枠) / キャンセルボタン

背景には、MSイメージのヒートマップと質量スペクトルが表示されています。

PCA結果



10. PLS計算

ROIリスト

No.	使用	ファイル名	ROI名	属性
1		Liver_Slide...	All	Center
2		Liver_Slide...	All	Center
3		Liver_Slide...	All	Center
4	✓	Liver_Slide...	ROI001	outside
5	✓	Liver_Slide...	ROI002	Center
6	✓	Liver_Slide...	ROI003	Edge

データ行列テーブル

No.	使用	タグ	ラベル	比(Edge)	P値 (ANOVA)	
1	✓		PCA-水平軸	-----	-----	-2.64
2			PCA-垂直軸	-----	-----	1.94
3	✓		514.21096	1.034	1.000	8.391e-001

潜在変数の数

手動 5

前処理: パレートスケール

ROIリスト

No.	ファイル名	ROI名	属性	Y値
1	Liver_Slide9_9AA_200-6...	ROI003	Group A	1.00000
2	Liver_Slide9_9AA_200-6...	ROI002	Group B	2.00000
3	Liver_Slide9_9AA_200-6...	ROI001	Group C	0.00000

Y値を入力してください。
ROIの数が少ない場合は“手動”を選択してください。

実行

解析パラメータ

No.	Name	Value
1	ノーマライズ	TIC
2	ノーマライズ基準値設定	オフ
3	ノーマライズ最小しきい値(%)	0
4	データ行列解析方法	ターゲット
5	化合物テンプレート	ピークリス
6	許容幅/パンサイズ (Da)	0.0200
7	しきい値設定	オフ

Intensity vs m/z

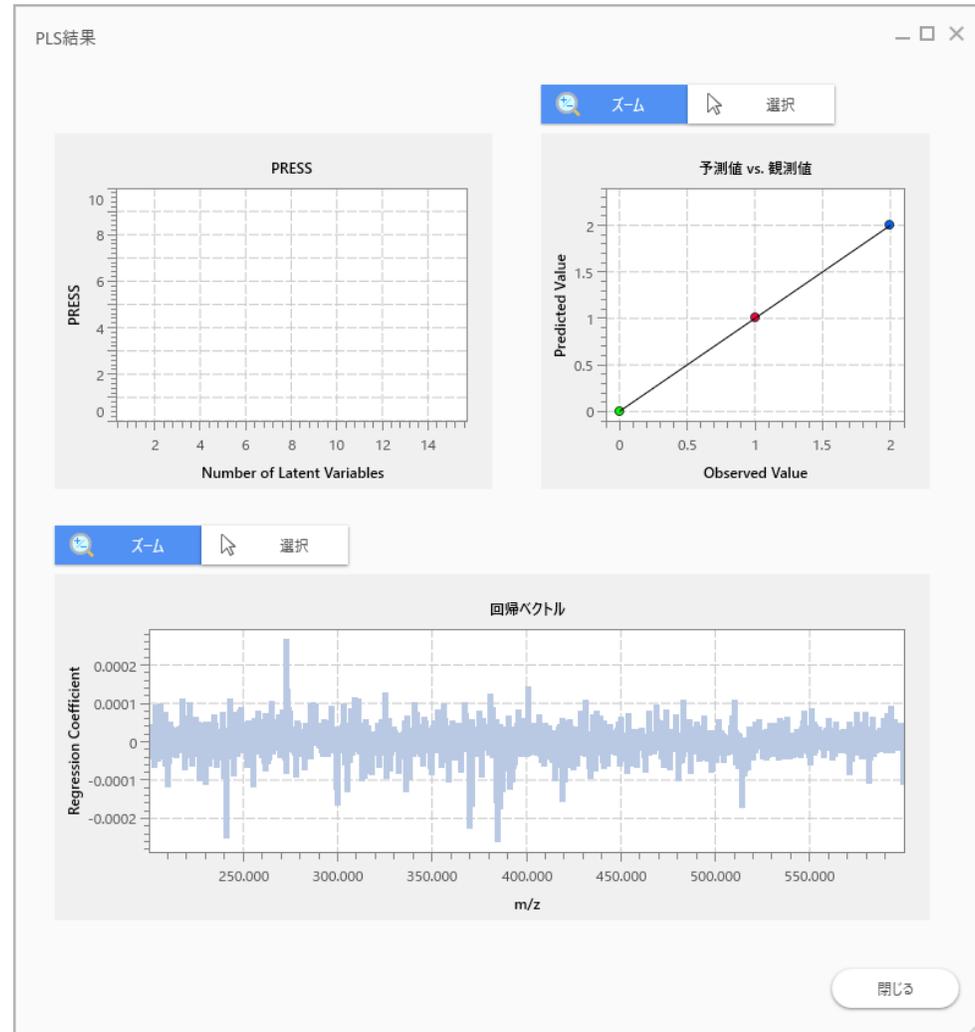
MSイメージ

化合物名/コメント: TIC

ファイル名: Liver_Slide9_9AA_200-600_Cont_2_5x_1-AREA01.imdx

タイプ: TIC

PLS結果



まとめ

- アシスタントバー（左側の列）を上から下まで進んでいくと一通りの解析が完了します
- この例では“差異解析”を用いましたが他の解析モードでも同様に解析できます。