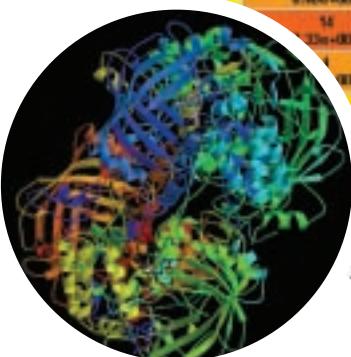
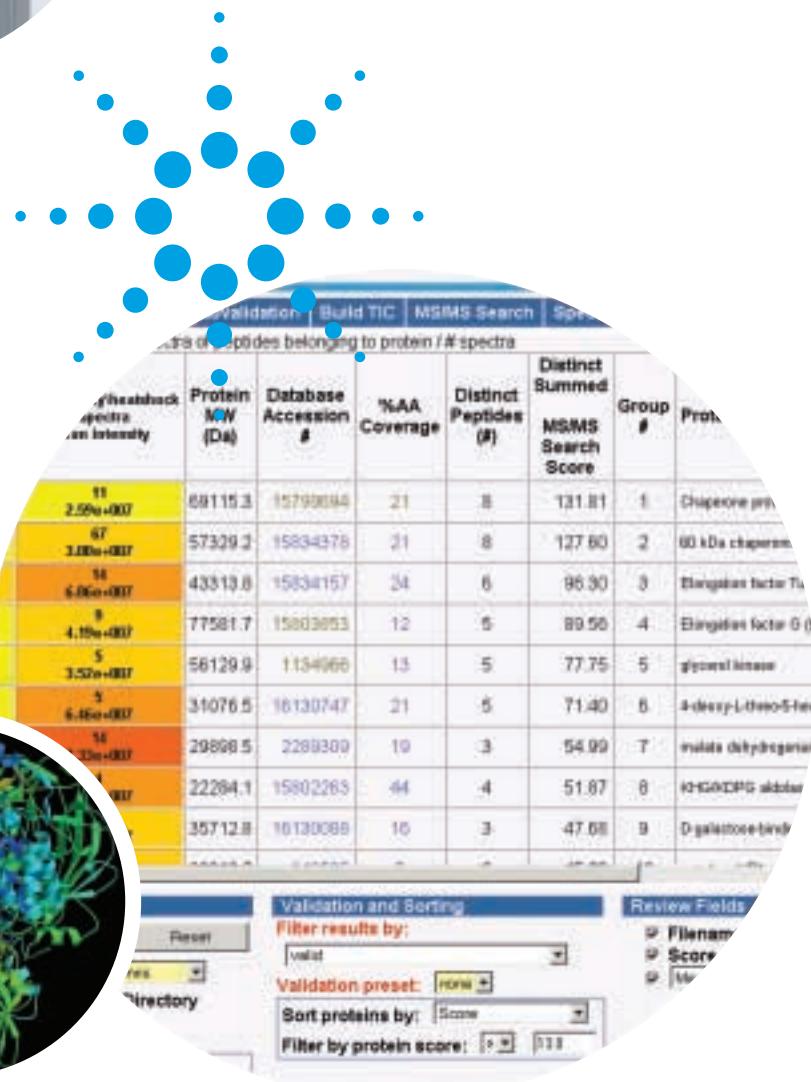




スペクトルミル  
MSプロテオミクスワークベンチ

## MS プロテオミクス データ解析ツール



Agilent Technologies

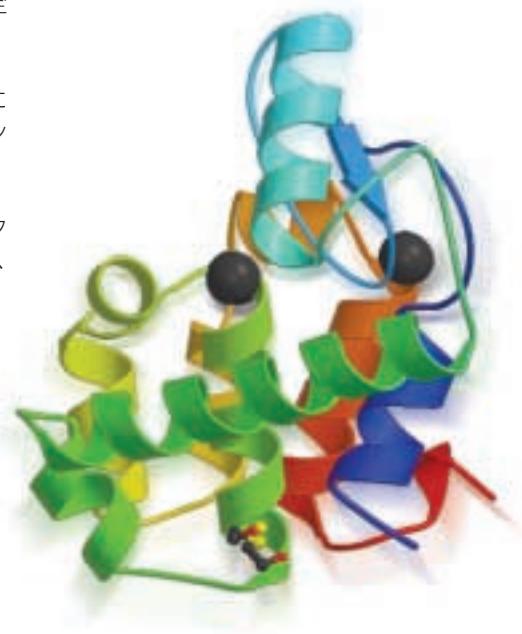
# プロテオミクスデータ解析の難問を解決

マススペクトロメトリーはプロテオミクス研究にとっての中核技術ですが、大規模なプロテオーム研究では膨大な量のMSデータが発生します。このデータを意味のある生物学的情報に変換することは、オリジナルデータを取得することと同様にかなり難しいものです。AgilentのスペクトルミルMSプロテオミクスワークベンチは、MSおよびMS/MSスペクトルの処理、タンパク質の同定と発現レベルの決定、そして重要なクロスサンプルとクロス実験の結果サマリの作成を目的とした、一連の包括的なソフトウェアツールです。次のような機能を備えています。

- データベース検索からノイズと不十分な品質のデータを排除する、MS/MSスペクトル抽出と品質アセスメントのツール
- 多様なデータ形式、さまざまな機器メーカーに対応
- 変異、翻訳後修飾(PTM)、化学修飾の同定を伴うMSやMS/MSデータのデータベース検索

- パラメータ、モード(同定、ホモロジー、PTMとのホモロジー性)あるいはデータベースによる自動および対話形式による結果のバリデーションと再検索
- 質量ベースの一次発見レベルの比較半定量解析および完全なICAT定量サポート
- クロス実験の結果サマリ
- データベースに存在しないタンパク質に由来するペプチドのde novoシーケンシング

これらの機能が、MSプロテオミクスデータ解析用の強力なソリューションとして、丁寧にまとめられています。



**Agilent Technologies Spectrum Mill MS Proteomics Workbench**

**Help:**

- Spectrum Mill Basics
- MS/MS Search
- PMF Search
- Protein Databases
- Server Administration

**Useful Tables:**

- Mutation Mass Shifts
- Dipeptide Masses

**Manuals:**

- Quick Start Guide
- Application Guide
- Familiarization Guide

**Mass Spectral Interpretation Tools**

- Data Extractor
- MS/MS Search
- Spectrum Matcher
- de novo Sequencing
- PMF Search

**Result Summary Tools**

- Protein/Peptide Summary
- Spectrum Summary
- de novo Summary
- PMF Summary

**Utilities**

- Tool Bell
- Protein Databases
- Peptide Selector
- MS Digest
- MS Edman
- MS Product
- MS Comp
- MS Isotope

スペクトルミルワークベンチは、一般的なウェブブラウザを利用してアクセスできるウェブサーバです。

## インテリジェントなスペクトル抽出によるタンパク質同定の高速化

スペクトルミルワークベンチがタンパク質データベースを検索する際の速度と効率は、大部分が検索を始める前のデータの知的な抽出と品質アセスメントに依存します。スペクトルミル抽出ソフトウェアは、シーケンスタグの長さとS/N規準に基づいてMS/MSスペクトルの品質を評価します。評価規準を満たさないスペクトルはデータセットから削除されます。

データセットサイズを縮小し検索時間を短くするために、抽出ソフトウェアは：

- ・特定のタイムウインドウの中でスキャンをマージして、同じプレカーサからの重複スペクトルを排除します。
- ・生データにモノアイソトピック質量を割り当てます。
- ・可能であれば、荷電状態を決定します。



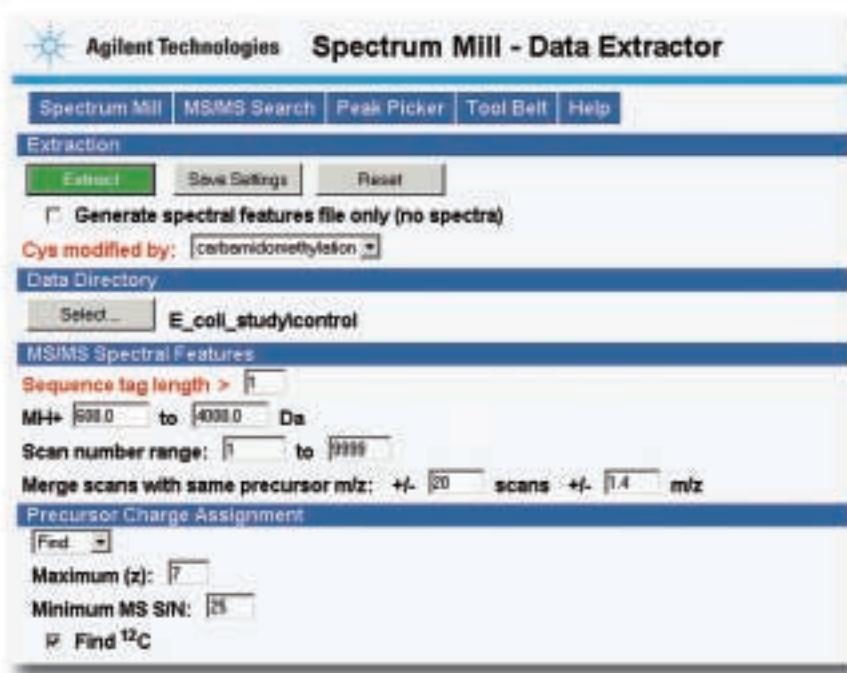
不十分な品質のスペクトルを除き不要な重複を減らすことによって、検索速度は飛躍的に向上します。また、このことで知的なスペクトル抽出を使用しないプログラムに多く見られる、偽陽性の数も減少します。

複数の機器と複数のデータ形式に対応するデータ抽出機能

追加ソフトによるデータ抽出機能はAgilent以外のデータ形式の処理に利用できます。

- ・.RAW (Thermo Finnigan)
- ・.wiff (ABI/MDS-SCIEX)
- ・.pk1 (一般的なピークリスト - Waters/Micromassおよびその他)

抽出機能モジュールは、データを生成した質量分析計の種類に固有のマススペクトルの特徴に合わせて最適化されています。



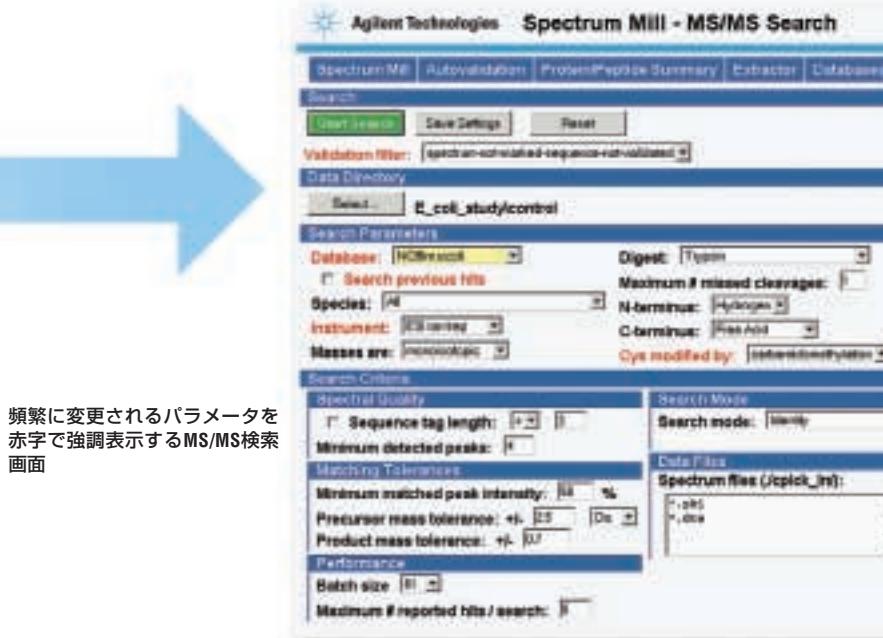
代表的なデータ抽出機能設定。頻繁に変更されるパラメータは赤字で強調表示されます。

# 多くのオプションによるタンパク質同定の柔軟性

スペクトルミルMSプロテオミクスワークベンチは、タンパク質の同定とキャラクタリゼーションに向けた多くのオプションを用意しています。スペクトラムMillワークベンチは、イオントラップおよび連結した質量分析計からのMS/MSスペクトルを検索します。また、ペプチドマスフィンガーブリント (PMF) を使用して、MALDI-TOFや他種質量分析計からのMSスペクトルを処理することもできます。

スペクトルミルの革新的なMS/MSデータベース検索アルゴリズムは、質量範囲と荷電状態でグループ化してスペクトルの知的な並列処理を行うため、複雑なクエリであっても巨大な索引ファイルを作成することなく迅速な (~200msec/スペクトル) 答えを供給します。スペクトルミルは、修飾されていないペプチドを見出す同定モード、あるいは変異、翻訳後修飾および化学修飾を探査するホモロジーモードで作動します。

スペクトルミルMS/MS検索のスコアはスペクトルに関する情報内容（スコア化されたピーク強度、フラグメントイオンのタイプなど）に基づくもので、確率ではありません。ここでは検索されるデータベースから独立したスコアを記録します。

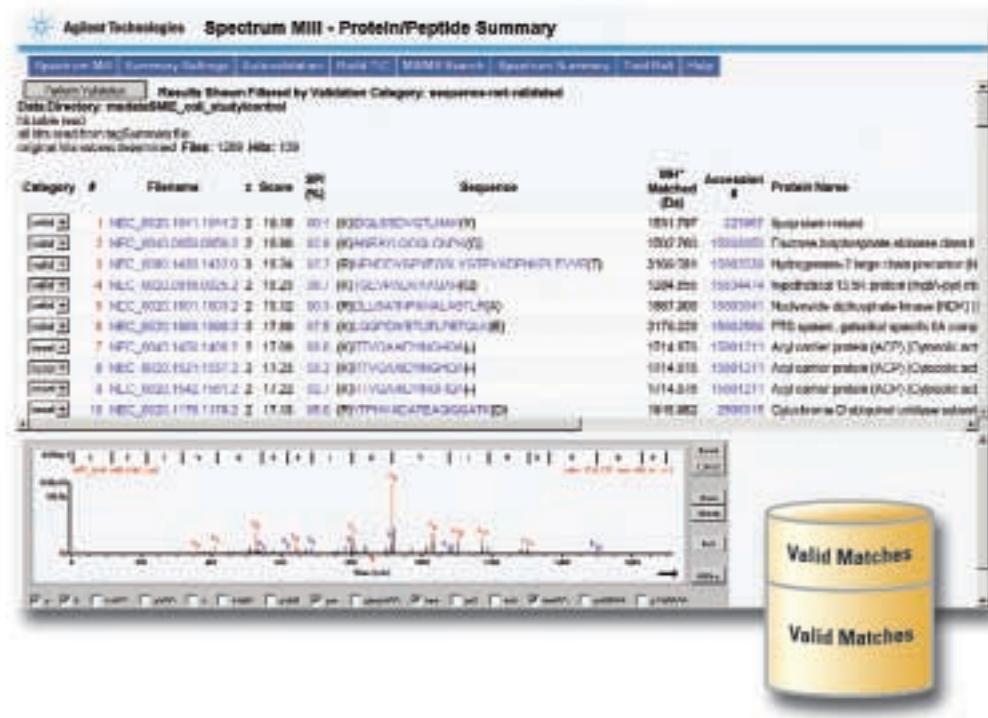


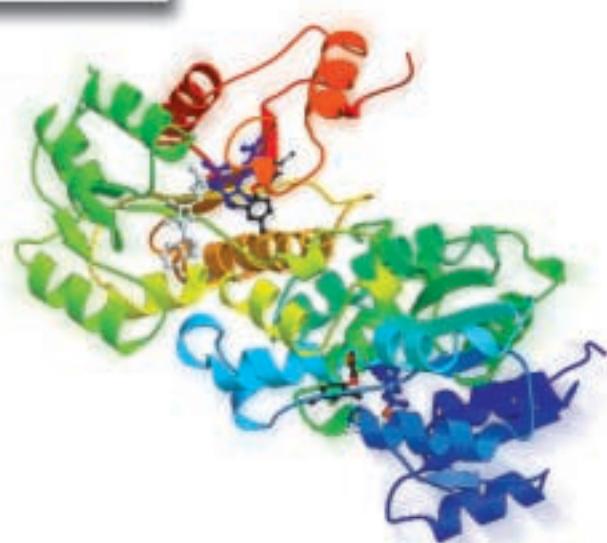
頻繁に変更されるパラメータを赤字で強調表示するMS/MS検索画面

有効なマッチングがない状態のスペクトルは、別のパラメータかデータベースを使用して再検索することができます。有効なマッチングのないスペクトルだけの繰り返し検索なので、この検索は少ないスペクトルで済み、速くなります。

データベースとうまくマッチしないものの質の良いスペクトルには、強力なde novoシーケンシングプログラム (8ページ) を適用するオプションがあります。

**Manual validation (手動バリデーション)** では自動的にフラグメントイオン情報の注釈が付き、マッチ候補と実際のMS/MSスペクトルとの比較を容易にします。





#### 対話形式のマッチングバリデーション

さらに、有効な一致のないデータとスペクトルを対話形式で再検討して、バリデーションすることもできます。レビュー担当者が認めたマッチングは、以前にバリデーションしたマッチングに加えられます。手動のスペクトルレビューさえも迅速かつ簡単にできるように、多数の機能が含まれています。



#### 自動バリデーション機能

スペクトラムMillワークベンチは独自の自動バリデーション機能を特徴とします。総合的なスコアおよびスコアをパーセントで表わしたピーク強度に対する特定の値を適用して、ソフトウェアはデータベースとのマッチ度を評価して、明らかに正しいマッチングにマークを付けます。ここでマッチしたスペクトルは、有効なマッチングのないスペクトルから単離されます。

Agilent Technologies Spectrum Mill - MS/MS Autovalidation

Help

Automatic Validation

Validate File Save Settings Reset

Mode: Protein details Filter proteins by score: 80.0

Data Directories:

Selected: E\_coli\_study\control Search result files: \*.apo

Protein Rules:

- Precursor charge: 1+ Filter by score: > 80.0 Filter by % SP!: > 70.0
- Precursor charge: 1+ Filter by score: > 80.0 Filter by % SP!: > 70.0
- Precursor charge: 1+ Filter by score: > 80.0 Filter by % SP!: > 70.0
- Precursor charge: 1+ Filter by score: > 80.0 Filter by % SP!: > 70.0

Data Directory: E:\SpectrumMill\metadata\SMRE\_col\_study\control  
Number of Files to validate: 222

Validated Hits:

- 1 NEC\_0000\_1629\_1832.2.pkl.apo valid
- 2 NEC\_0010\_1599\_1409.2.pkl.apo valid
- 3 NEC\_0010\_1420\_1439.0.pkl.apo valid
- 4 NEC\_0010\_1441\_1446.2.pkl.apo valid
- 5 NEC\_0010\_1818\_1838.2.pkl.apo valid
- 6 NEC\_0010\_1639\_1654.2.pkl.apo valid

Valid Matches

Autovalidation（自動バリデーション）は、マッチスコアに基づく最高品質の一一致度を自動的にバリデーションすることでデータレビューを高速化します。

# 複雑なデータも理解しやすく

スペクトルミルワークベンチの最も有力な利点の1つは、単純なサンプルや複雑な研究であっても、質量分析専門家だけでなく生物学者や生化学者が情報を理解しやすい方法で結果をまとめて相互に連付けるその能力にあります。例えば、MS/MS検索の結果は多様な方法で表示することができます。

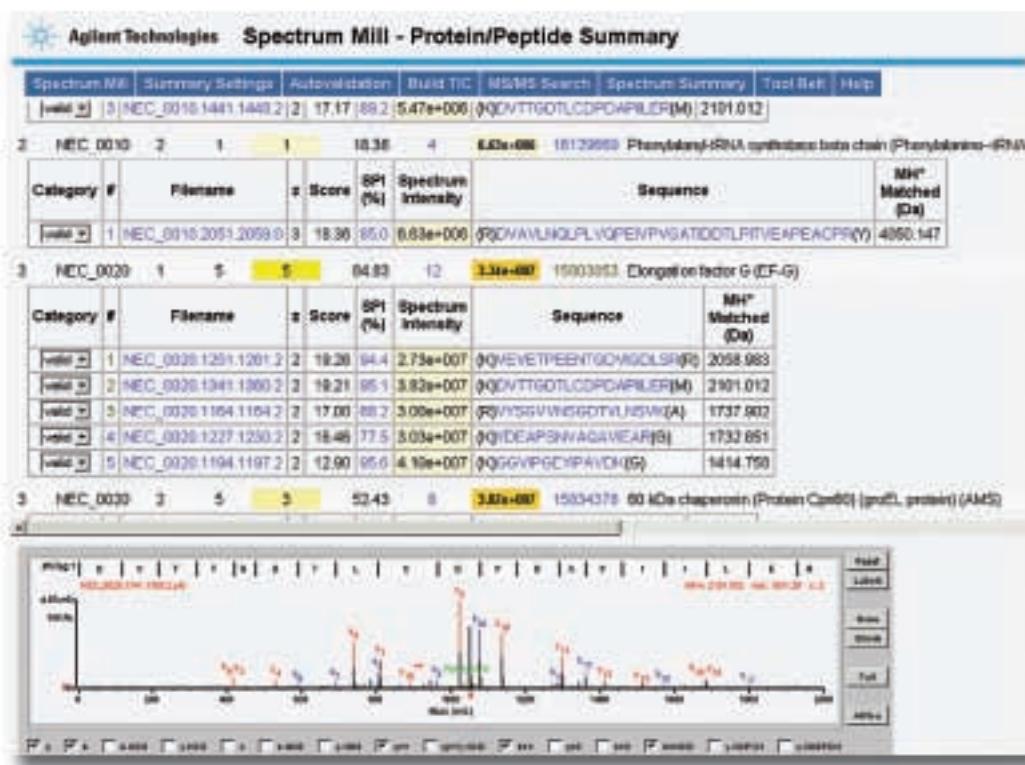
ペプチドモードでは、質量分析専門家は、ペプチドの質量とマススペクトル、タンパク質の同定と分子量、さらにはペプチドの相対存在量を表示させて、マッチ度順にペプチドマッチングを見直すことができます。

タンパク質モードを使用して、生物学者はタンパク質名、マッチ度スコア、カバーレージパーセント、データベース受入番号、および様々なタンパク質の相対存在量を表示させて、同じサンプルを再検討することができます。

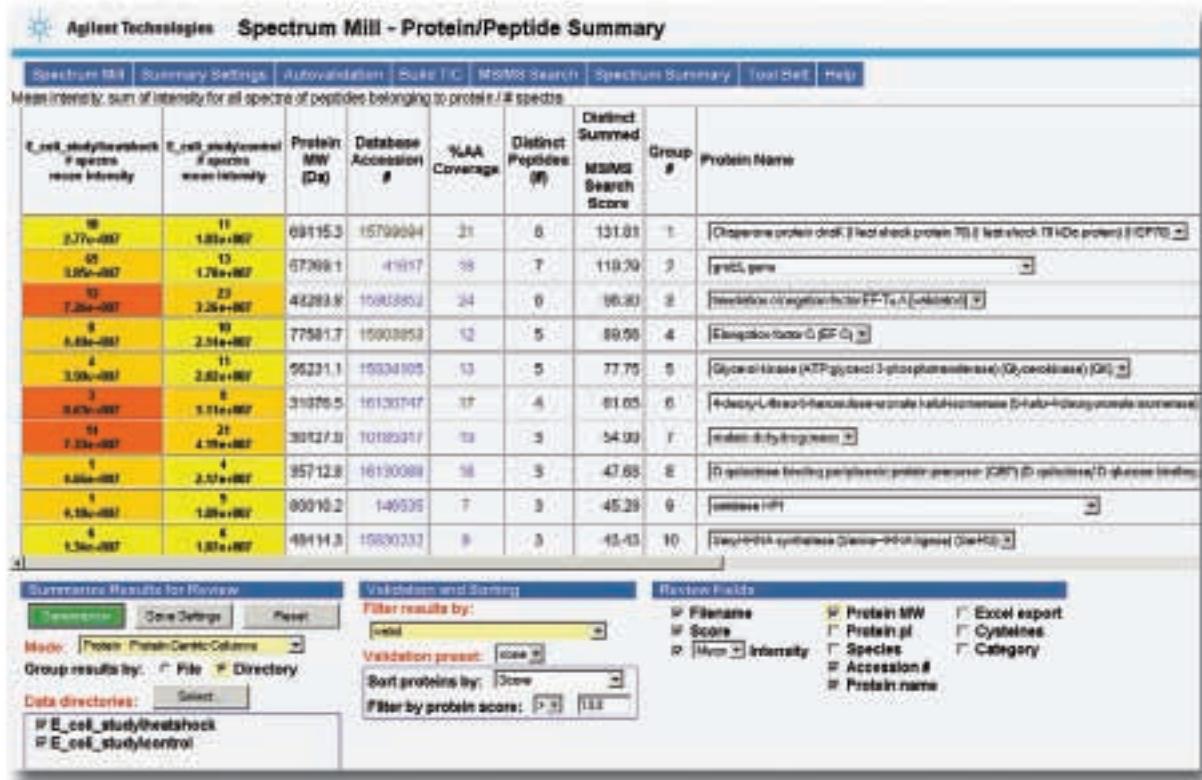
また、ユーザは発現レベルのような情報を比較して、複数のサンプルを再検討することもできます。大きなデータセットを複数の実験を通して比較することができ、結果をタンパク質レベルで容易にまとめることができます。

## 定性情報だけでなく定量情報も

同定および変異もしくは修飾はプロテオミクス研究から求められる情報の一部に過ぎません。これと同時に、同定されたタンパク質の発現レベルも重要です。スペクトルミルワークベンチは、発現レベルを決定するために必要となる多様なツールを提供します。



Peptide summary（ペプチドサマリ）は、注釈スペクトルを含む結果をMS中心の形式で表示します。



Protein summary（タンパク質サマリ）では、色分け表示された相対存在量情報を含む複数のサンプルによるデータ比較が可能です。

### 速くて簡単な半定量解析

スペクトルミルワークベンチには、ペプチドとタンパク質の相対存在量を比較するための独自の機能があります。スペクトル抽出の間、それぞれのペプチドブリカーサイオンについてイオンクロマトグラムを抽出し、ピーク面積を決定します。ここで同定された各タンパク質の構成ペプチドの平均ピーク強度は、サンプル中の当該タンパク質の相対存在量のおよその量を示します。これらの強度は、タンパク質/ペプチド結果サマリで色分けされて表示されます。

実際は半定量的であっても、抽出イオンクロマトグラム (EICs) を基にしたタンパク質存在量の比較は、相対濃度の2倍から5倍の変化を明らかにするには十分なものです。

### ICAT完全サポート

半定量的なアプローチが十分正確でないアプリケーションにおいては、より正確な定量を達成するために、同位体コード化アフィニティタグ (ICAT) を使用することができます。スペクトルミルワークベンチはICAT解析を完全にサポートします。Cys修飾にはD<sub>0</sub>/D<sub>8</sub>、<sup>12</sup>C/<sup>13</sup>C、または混合ラベルが含まれます。



## どのデータベースでも一致しないペプチドに適したde novoスペクトル解析

どのデータベースでも一致しないタンパク質は、プロテオームをより深く理解する大きな妨げになるかもしれません。手動のスペクトル解析には広範囲にわたる知識と経験が必要で、しかも、非常に困難で時間も消費します。様々な数学的アルゴリズムを使用するde novoシーケンシングが、一定の成功率で適用されています。de novo MS/MSスペクトル解釈における大きな難題は、ペプチドが各アミノ酸の間で均一に断片化しないという事実から生じるもので、不完全なスペクトル情報をもたらします。

スペクトルミルワークベンチでは、高度なグラフ理論を使用するSherenga de novoシーケンシングアルゴリズムを採用しています。ここでは非現実的な解決策を捨て、可能性のあるペプチドシーケンスのランク付けリストを生成します。スペクトルミルde novoシーケンシングプログラムは、ノイズや不完全なフラグメンテーションなどの一般的なスペクトルの問題を補正します。また、予期されるイオンによる肯定的なスコアリングと特徴的でないスペクトルパターンによる否定的なスコアリングのどちらも加味した厳密なスコアリングルーチンも採用しています。

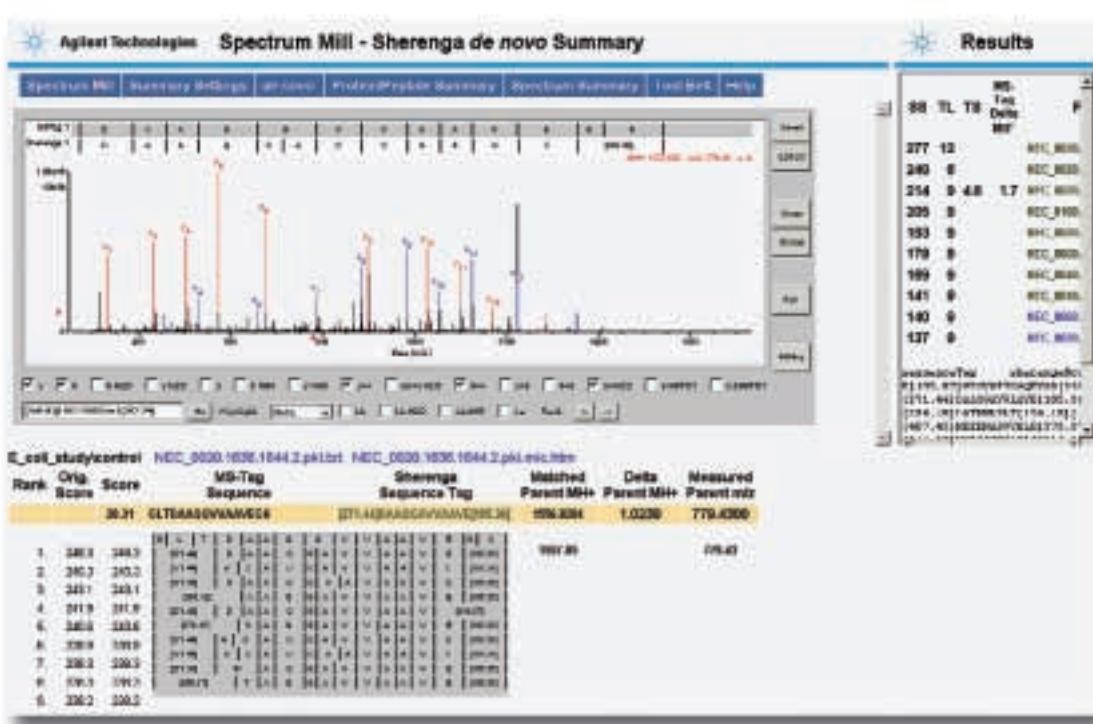
スペクトルミルde novoシーケンシング結果レビューでは、データベース検索結果とde novo結果の両方を同時に表示するこども可能です。

## 詳しい情報

Agilent スペクトルミルMSプロテオミクスワークベンチに関する詳しい情報は、フリーダイヤル1-800-227-9770（米国とカナダ）でお問い合わせください。

米国とカナダ以外の国の場合は、地元のAgilent Technologiesライフサイエンス・化学分析営業所またはAgilent Technologiesの代理店までお問い合わせください。日本国内からは、フリーダイヤル0120-477-111をご利用ください。

また、<http://www.agilent.co.jp/chem/yan>からも我々を訪問できます。



結果テーブル、および解釈案に対応するフラグメントに注釈の付いたMS/MSスペクトルが表示される  
de novoスペクトル解釈の結果

Agilent Technologiesのライフサイエンス製品は、ISO 9001に登録された品質システムの下で設計され、製造されています。

この刊行物に記載の情報、内容、および仕様は、予告なしに変更されることがあります。

© Agilent Technologies, Inc. 2003

Printed in the U.S.A. May 30, 2003  
5988-9443JAP