

Mascot Server ver. 2.8 新機能紹介

I. Error Tolerant 検索 [2 段階拡張検索]に対する新しいアルゴリズムの適用

Error Tolerant 検索 [2 段階拡張検索、以降 ET 検索と表記] とは、1) 想定外の修飾、2) 非特異的切断を伴うペプチド、3) アミノ酸残基置換 の3つを検出する事ができる 2 段階検索です。ET 検索は便利な検索ですが、結果の信頼度に対する評価が難しいというのが難点でした。

Ver.2.8 では新たな統計モデルに基づくアルゴリズムが適用され、ET 検索の信頼度を上げたり、評価しやすくしたりするいくつかの改善が行われました。主な変更点は以下の通りです。

- 最初の検索で同定基準を超えなかった query のみを ET 検索するよう、仕様が変更されました。
- FDR と組み合わせて ET 検索をする事ができませんでしたでしたが、新たなバージョンでは可能となっています。FDR を判定基準として利用し、2 段階目の検索に回る query の選定と ET 検索の対象となるタンパク質の選別が行われます。
- ET 検索における同定基準スコアは 1 回目と 2 回目の検索を合わせた試行内容（この場合検索対象となるペプチド数）に基づき算出し、通常の検索よりも厳しくなります。期待値もそれぞれ算出された同定基準スコアをもとに計算されます。

Error tolerant 検索の結果表示。同定基準値が通常検索の結果より高くなります。新たな同定基準値をもとに算出された期待値も結果画面に表示されます

63	567.6566	1133.2987	1133.5499	-0.2511	0	45	0.007	▶1	■■■■	R_GNEVISVMNR.A + Oxidation (M)
66	614.2001	1226.3856	1226.6329	-0.2473	0	28	0.039	▶1	U ■	K_LGPEIPLAMDR.F + Oxidation (M)
100	653.2101	1304.4057	1304.6837	-0.2780	0	87	3.08e-07	▶1	■■■■	K_QNQTIGLSSDGR.L
124	710.2235	1418.4324	1418.7154	-0.2829	0	92	3.5e-06	▶1	U ■■■	K_ANPQTIGLSAAR.F + [+100.0160 at N-term]
126	726.1806	1450.3465	1450.6477	-0.3011	0	69				

- 「Protein Family Summary」レポートでは、ET 検索内容に対する信頼度に基づき表示内容を切り替える事ができます。

Error tolerant 検索の結果について、表示内容を指定する事ができます。

Error tolerant matches:

Reliable ▼

Reliable

None

All

Error Tolerant Search の詳細は以下 Help ページをご覧ください。

https://www.matrixscience.com/help/error_tolerant_help.html

2. Percolator の Sensitivity 改善

論文投稿などの際、検索エンジンから提供されているペプチド同定基準値については統計的観点などからその信頼度を検証する事(validation)が求められます。Percolator は、同定結果について検索エンジンのスコアに加えその他の各種要素を組み合わせて再ランク付けしつつ validation を行う事ができるアルゴリズムで、MASCOT をはじめ様々なプログラムで利用されています。Percolator の適用は、validation に加え Sensitivity, すなわち FDR を固定した際の同定ペプチド数、が大幅に向上します。

Mascot ver.2.8 では、搭載している Percolator を ver. 3.05 に更新しました。大幅に性能が向上し、ある例では Mascot ver.2.7 と比較して、1% PSM FDR の時感度が 100% 向上したケースもあります。また、Percolator の計算対象となる項目”features”も増えています。Percolator の計算についてはあらかじめ Server で設定変更できるほか、結果画面にてボタンをクリックする事で切り替える事が可能です。

Format	Significance threshold p<	0.003935	Max. number of families	AUTO	[help]
	Target FDR (overrides sig. threshold)	1%			
	Display non-sig. matches	<input type="checkbox"/>			
	Show Percolator scores	<input type="checkbox"/>			
	Preferred taxonomy	All entries			

“Format”にて Percolator に関連する各種項目を変更可能です

features 項目をはじめ、MASCOT における Percolator 使用の詳細は以下 Help ページをご覧ください。

http://www.matrixscience.com/help/percolator_help.html

3. MS/MS の検索速度向上

MS/MS データベースの検索速度が ver. 2.7 と比較して 20~35% 高速化しました。これまで検索のシングルスレッドだったファイル処理ステップ(本計算の前に行われる処理)がマルチスレッド対応になりました。入力データが大きな検索ほど高速化します。またドライブ高速化の影響も大きくなったため、現在 HDD で MASCOT をご利用のお客様は、今後高速な SSD などへの買い替えをお勧めします。

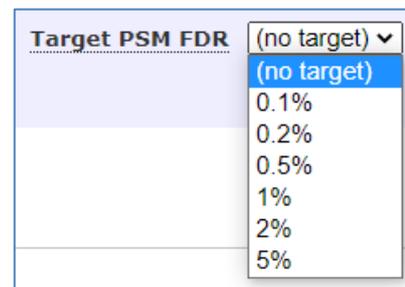
クロスリンクペプチドの検索速度も改善されています。これまで時間がかかっていた、数個のタンパク質をターゲットとした検索の速度が大幅に向上しました。またメモリ使用の効率化が行われ、数十個の架橋タンパク質を検索する場合におけるメモリ使用量が大幅に削減されました。

4. 検索結果画面:Protein Family Summary report がデフォルトに

Protein Family Summary レポート画面は Mascot ver. 2.3 で導入され、query 数が多い MS/MS 検索のデフォルトとして採用されました。**ver.2.8**からは、**query 数に限らずすべての MS/MS 検索で Protein Family Summary をデフォルトで表示**するになりました。これまでの Peptide Summary および Select Summary を利用する事もできますが、ペプチド同定からタンパク質同定の定義がより便利な Protein Family Summary を是非ご利用ください。

5. PSM の FDR を最初から同定基準として選択可能に

PSM(Peptide Spectrum Matches) FDR の数値を最初から同定基準値として利用できるようになりました。
検索パラメータ「Target PSM FDR」をご利用ください。



6. Percolator 計算の高速化とペプチド順位に関するパラメータの新設

Percolator の計算の一部(トレーニングステップ、pip 作成ステップ)がマルチスレッド対応となり高速化されました。また計算対象となるペプチドの選定ルールに関連した MASCOT の設定項目を 2 つ新設 しました。

- * デフォルトのペプチド選定ルールは、「rank1 すべて」と、「スコアが 20 以上でランク 1 との差が 20 未満の結果すべて」です。

7. データベース構築後の最初の検索について、タイムアウトに関する仕様の変更

Mascot の Monitor プログラム は、データベースを構築後直ちに最初のテスト検索を実行します。これまではその検索に対して timeout 閾値を設けていましたが、**ver.2.8**からこの閾値(MonitorTestTimeout) パラメータが削除され、**タイムアウトする事はなくなりました。**

8. mzIdentML ファイル出力の速度向上

検索結果を mzIdentML として出力する際、デフォルトで修飾位置に関する解析結果を出力しないようにする事で出力速度が一桁速くなりました。もし修飾位置に関する情報の出力を希望される場合、出力時のパラメータ選択画面から簡単に有効にする事ができます。

9. クロスリンクペプチド検索に関する設定画面：

これまで XML の直接入力のみ対応していたクロスリンクペプチド検索に関する設定について、各項目の設定がより簡単になる **ユーザーインターフェース**が追加されました。

10. クロスリンクされたマッチを CSV と XML 形式でエクスポート

クロスリンクペプチドの検索結果を CSV と XML 形式でエクスポートできるようになりました。

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



マトリックスサイエンス株式会社

support-jp@matrixscience.com

TEL : 03-5807-7895 FAX : 03-5807-7896

〒110-0015 東京都台東区東上野1-6-10 ARTビル1階