2024年8月

ユーザー様向け PEAKS 12 変更点及び注意点

2024 年 7 月に Bioinformatics Solutions 社から、PEAKS 12 がリリースされました。ここでは、 PEAKS 既存ユーザー様向けに、PEAKS 12 の主な変更点をご紹介いたします。 ご不明な点がございましたら、インフォコム株式会社までお問い合わせ下さい。



最初に。。。

PEAKS 12 での推奨環境は以下のとおりです。

- OS : Windows 10/11 (64bit)
- 最小構成
 - ♦ 16 threads, 32GB RAM
- 推奨構成
 - ♦ Desktop ライセンス
 - 30+ threads processors, 72GB+ RAM, compatible GPU
 - ♦ Workstation ライセンス
 - 60+ threads Processor, 128GB RAM、 compatible GPU
- BSI 社が推奨する理想的環境
 - ♦ Intel Core i7·i9/Xeon or AMD Ryzen 7/9/threadripper processors, 40 threads or more, 96-128GB RAM, compatible GPU

※DeepNovo を実行する場合、64GB 以上の空きメモリと、8 GB 以上の専用メモリを持つ NVIDIA CUDA compute capability ≥ 8 GPU を搭載したマシンをお勧めします。

※DIA データベース検索を行う場合、64GB 以上の空きメモリと、8GB 以上の専用メモリを持つ NVDIA CUDA compute capability ≥ 5 GPU を搭載したマシンをお勧めします。

※GPU は CUDA バージョン 12.3 以降に更新する必要があります。

① 旧バージョンプロジェクトとの互換性について

PEAKS12 では 11/11.5 で作成したプロジェクトはそのまま取り込めますが、PEAKS12 で追加された機能は自動的には反映されないため、新機能を含む解析結果を希望する場合は再計算が必要です。

また、10.5 以前のバージョンで作成されたプロジェクトとの互換性が無く、開く事ができません。 PEAKS 12 ヘアップグレード後、10.5 以前のバージョンを継続利用されたい方は、別フォルダに インストールしてください。

旧バージョン PEAKS のご利用も希望される場合は、同じ PC で PEAKS12 と旧バージョン PEAKS の両方を使用することが可能です。

V11/11.5 で作成された Enzyme/PTM/Database のユーザー設定ファイル等を移行する方法については、「PEAKS12 アップグレード手順書」をご覧ください。

② What's New PEAKS 12

本バージョンの PEAKS Studio は、DDA と DIA を両方解析できる all-in-one ソフトウェアソリュー ションで、各種ベンダーからの Raw データと共通フォーマットをサポートするベンダーニュートラルなプラット フォームです。PEAKS 12 では、Targeted プロテオミクスワークフロー、遺伝子とクロモゾームのサポート によるペプチドーム機能の強化、DIA 機械学習探索アルゴリズムの大幅な改善、Graph ニューラルネッ トワークに基づく 2 段階の *de novo* シーケンシングアルゴリズムが導入されました。

[トピックス]

- ① ライセンスタイプの計算可能な Thread/Core 数がアップされました
- ② DIA ワークフローが改善されました
- ③ DeepNovo ワークフローが改善され、更に FDR 推定機能が導入されました
- ④ DeepNovo Peptidome ワークフローが改善されました
- ⑤ Label-Free 定量機能が改善されました



次ページ以降で、詳細な最新機能をご紹介します。

© 2024 Infocom Corporation All rights reserved

① ライセンスタイプの計算可能な Thread/Core 数がアップされました

Desktop ライセンス及び Workstation ライセンスの、Thread/Core 数がアップしました。

- Desktop ライセンス: 24 threads, up to and across 24 cores (16→24)
- > Workstation ライセンス: 48 threads, up to and across 48 cores (32→48)

※保守期間内ユーザーの方は、PEAKS12 にアップすると自動的に計算可能な Core 数上限がアップ します。

② **DIA ワークフローが改善されました**

PEAKS12 では、DIA ワークフローにいくつか改善が加えられました。アルゴリズムはより正確で感度の高い結果を提供するよう調整されており、Protein/Peptideの同定及び定量が10%程度増加することが期待できます。

DeepNovo Peptidome ワークフロー

DeepNovo Peptidome ワークフローでも DIA データの解析が可能になりました。

Analysis Wizard	×							
Project Creation Workflow Selection								
Create New Workflow Select Your Workflow								
Identification Data Spectral Library Search Database Search De Novo QC								
O Quantification Data Spectral Library Search Database Search Quantification QC								
DeepNovo Peptidome Data DeepNovo Peptide Database Search Quantification QC								
< Back Spectral Library Finish	Cancel							

・Q オプションをお持ちの場合、LFQ 解析まで実施が可能です。

・Peptide Search 結果において、FDR 推定機能が導入されました。

PRM/Hybrid DIA ワークフローの導入

Acquisition 対応として、PRMとHybrid-DIAが追加され、それぞれ専用のワークフローが導入されました。

	Enzyme		Instrument		Fragm	ient	Acquis	sition
	Trypsin	-	Orbitrap (Orbi-Orbi)	-	HCD	-	hyb	•
xml							DDA	
i							DIA	
							PRM	
							hybrid	-DIA

・PRM を選択した場合は以下のワークフローが可能です。



- Q オプションをお持ちの方のみ利用が可能です。
- 実行する際には、事前に DIA データの LFQ 解析を実施し、そこで作成した Transition リストが 必要です。Transition リストは、 DIA データの LFQ 結果→Proteins タブを開き、右上の Export ボタンをクリックし、「RPM Transition List TSV」を実行してください。

						_					
			Accession	Gene	Cluster	Тор	Significance	Coverage(%)	#Peptides	#Unique	PTN
		1	ABRF-1 ABRF2016-1		46	true	200.00	54.49%	48	48	CDO
		2	ABRF-3 ABRF2016-3		470	true	200.00	22.03%	9	9	С
		3	ABRF-4 ABRF2016-4		1487	true	200.00	41.08%	6	6	
		4	ABRF-2 ABRF2016-2		2002	true	122.28	19.05%	2	2	
	•	5	Q13033-2 STRN3_HUMAN		2096	true	115.97	11.22%	5	4	
	•	6	Q13573 SNW1_HUMAN		2449	true	112 Export	t Protein Table			
	•	7	O00170 AIP_HUMAN		1768	true	100				
	•	8	O60343-3 TBCD4_HUMAN		2322	true	94	Protein CSV			
	•	9	Q02809 PLOD1_HUMAN		801	true	93 🦳 🤅	Support Peptide CSV			
	•	10	Q09161 NCBP1_HUMAN		522	true	93 🔽 I	PRM Transition List TSV			
	•	11	O14561 ACPM_HUMAN		1321	true	88	MRM Transition List TSV			
		12	Q9Y3C6 PPIL1_HUMAN		1747	true	83				
	•	13	Q8N3U4-2 STAG2_HUMAN		1307	true	83 Save	e into: C:¥Users¥xyx00700¥Desktop¥	11_Demo Proje	ct - DIA \	Browse
4										Export	Cancel
		Co	Verage Pentides								

© 2024 Infocom Corporation All rights reserved

- PRM Quantification ステップでは、Calibration グループと Quantification グループをそれぞれ割り当て、Base サンプルを指定し、保存済の Transition リストも取込みます。



- 解析結果は、Summary・Peptidesの2種類のタブで見ることが出来ます。

Summary タブ

通常の LFQ 解析同様、HeatMap や Volcano プロットが表示されます。



Peptides タブ



Sample/Group Profile や Ratio などに加えて、Calibration Curve なども表示されま す。また、定量された Area と Amount など詳細な標的定量結果を見ることが出来ます。 このワークフローでは、事前の検索を実施せず、読み込んだ Transition リストに含まれてい る、Compound・Formula・m/z・Charge・RT・Window に対して計算しています。以 下は Transition リストの例です。

Compound	Formula	Adduct	m/z	Charge	RT Time (min)	Window (min)
KRAS_WT	LVVVGAGGVGK		478.3004	2	37.74	4.0
KRAS_G12D	LVVVGADGVGK		507.3031	2	38.8	4.0
KRAS_G12V	LVVVGAVGVGK		499.3239	2	45.39	4.0
BRAF_WT	IGDFGLATVK		510.7898	2	52.07	4.0
IGDFGLATVK	IGDFGLATEK		525.7769	2	46.85	4.0

・Hybrid-DIAを選択した場合は以下のワークフローが可能です。

PEAKS Hybrid Quantification Data

- これは DIA および PRM の両方を含むデータファイルとした、探索と標的定量の複合メソッドです。
- 最初の2ステップはDIA DBとLFQを用いたDIA Quantification ワークフローに似ており、3 番目のPRM ステップは前述のPRM ワークフローステップに似ています。DIA DB 及びLFQ ステッ プでは、DIA MS2 スキャンのみが使われ、PRM ステップではPRM スキャンのみを使います。
- Qオプションをお持ちの方のみ利用が可能です。
- 実行する際には、事前に DIA データの LFQ 解析を実施し、そこで作成した Transition リストが 必要です。Transition リストは、 DIA データの LFQ 結果→Proteins タブを開き、右上の Export ボタンをクリックし、「RPM Transition List TSV」を実行してください。

		Prot	ein View Filter	1659 prot	ein groups	total 2099	2 proteii	accessio	n contains	•		Q †	↓ No	result
Iary			A	ccession	Gene	Cluster	Тор	Significance		Coverag	je(%)	#Peptides	#Unique	PT
		1	ABRF-1 ABRF201	6-1		46	true	200.00			54.49%	48	48	CDO
ō		2	ABRF-3 ABRF201	6-3		470	true	200.00			22.03%	9	9	С
		3	ABRF-4 ABRF201	6-4		1487	true	200.00			41.08%	6	6	
		4	ABRF-2 ABRF201	6-2		2002	true	122.28			19.05%	2	2	
	۰.	5	Q13033-2 STRN	3_HUMAN		2096	true	115.97			11.22%	5	4	
	•	6	Q13573 SNW1_H	IUMAN		2449	true	112 Export	t Protein Ta	able				
	•	7	O00170 AIP_HUI	MAN		1768	true	100						
1	•	8	O60343-3 TBCD4	4_HUMAN		2322	true	94	Protein CS	V				
	•	9	Q02809 PLOD1_	HUMAN		801	true	93	Support Pe	ptide CSV	_			
	•	10	Q09161 NCBP1_	HUMAN		522	true	93 🔽	PRM Trans	ition List TS	v			
	•	11	O14561 ACPM_H	IUMAN		1321	true	88	MRM Tran	sition List TS	SV			
än		12	Q9Y3C6 PPIL1_H	UMAN		1747	true	83						
epi	•	13	Q8N3U4-2 STAG	2_HUMAN		1307	true	83 Save	into: C	¥Users¥xyx	00/00¥Desktop¥1	1_Demo Proje	ct - DIA V	Browse
-													Export	Cancel
		Co	verage	Peptides										

- DB Search ステップでは、DIA の DB Search と同様に、Target データベース(FASTA)を含めた検索パラメータを設定します。
- Quantification ステップでは、グループ情報を指定し、RT Range など定量解析に必要なパラメ ータを設定します。(通常の LFQ での設定と同様です)
- PRM Quantification ステップは、PRM ワークフローと似ていますが、Calibration グループ設定 は不要で、Quantification グループを指定します。Transition リストや Base Sample なども 指定が必要です。

Noject Wizard		×
Project Creation Workflow Selection DB Search Quantification	PRM Quantification	
Target Options Labelling Method: SILAC-2plex (R10,K6) View Transition list: F\shared\PEAKS Studio Test Share\Data Files\Hybrid DIA\Phospho\prm_si	Concentration: 5 ppm -	
Sample Group Select All Unselect All	Quantification Groups	Remove All
→ ▲ → ▲	Group 1 > 10ug_01 > 10ug_02 > 10ug_03 > 10ug_04 ✓ Group 2 > 20ug_01 > 20ug_02 > 20ug_03 > 20ug_04	
	Base Samp	le: 10ug_01 +
	< Back Report Finish	Cancel

- 解析結果としては DB Search・Hybrid-LFQ・Hybrid-PRM の 3 種類が作成されます。 DB Search、Hybrid-LFQ の結果は、これまでの DIA 結果の見方と同様です。
- Hybrid-PRM 結果は、Summary・Peptides の 2 種類のタブで見ることが出来ます。 Summary タブ



ここでは、HeatMap や Volcano プロット、Box プロットが表示されます。

© 2024 Infocom Corporation All rights reserved

Figure 3. The Boxplot for Peptide log2ratio vs base sample.



Peptides タブ

Sample/Group Profile や Ratio などに加えて、Area なども表示されます。



Peptide Details には、定量されたペプチドの詳細が表示されます。左側の表には正規化さ れた light are、light area、heavy area が順に表示されます。Ratio は Base サンプル に対して計算された値です。このテーブルは、Precursor profile と Fragment ion XIC 描画に使われる Feature を選択するコントロールとしても使われます。

③ DeepNovo ワークフローが改善され、更に FDR 推定機能が導入されました

ワークフロー選択において、明確に DeepNovo ワークフローが表示されるようになり、Compatible GPU が搭載されている PC では、以下のように De novo/DeepNovo のどちらも選択することが可能 になりました。(Compatible GPU が搭載されていない PC の場合は、DeepNovo ワークフローはグ レイアウトされ、選択することはできません)



DeepNovo 結果を確認するにあたり、これまでの DeeoNovo Score (ALC) に加えて、新たに FDR (False discovery rate) が追加されました。

Figure 1. False discovery rate (FDR) curve. X axis is the number of DeepNovo candidates being kept. Y axis is the corresponding FDR. *Q*



・FDR curve は、DeepNovo ワークフローの Report ステップにおいて FDR が選択された場合にの み有効で、decoy 融合計算が追加され FDR が推定されます。

Project Creation	Workflow Select	ion 🔰 Data Refine	DeepNovo	Report
Report Filter				
DeepNovo Filt	ter			
FDR (%)	1.0	O Score (%) ≥	30.0	

・閾値は Summary タブの上部のフィルターで変更することが可能です。

Sta	art Page	🚠 Deepl	lovo	×				
ary	🔵 Deep	Novo Score ≥		Ŧ	• FDR (%)	1.0	•	Apply Notes

・DeepNovo Peptidome ワークフローにおける DeepNovo 結果には FDR curve は表示されません。

© 2024 Infocom Corporation All rights reserved

インフォコム株式会社

また、最新の GraphNovo アルゴリズムによって強化された新しい DeepNovo では、第1段階で最適なパスを見つけ、第2段階での配列予測を実施することで、フラグメントイオンの欠損による予測エラーを軽減し、大幅に感度が高く正確な候補配列を提供することが可能になりました。

※参考論文

Mitigating the missing-fragmentation problem in de novo peptide sequencing with a two-stage graph-based deep learning model Nature Machine Intelligence 5 (2023) 1250. Mao *et al.*

※詳細は下記ページをご覧ください https://www.bioinfor.com/peaks-deepnovo/

④ DeepNovo Peptidome ワークフローが改善されました

PEAKS12 では、DeepNovo Peptidome ワークフローに、Quantification(LFQ)機能と QC 機能が追加されました。更に、Proteomics と Genomics 間の Gap を埋めるための Gene support 機能や、non-canonical レファレンスサポートなどが追加されました。



※Qオプションが無い場合は、LFQ 解析は出来ません。

PEAKS11/11.5 でのワークフロー



Peptide Search に関して

<u>1. Gene サポート機能</u>

PEAKS12 では、Peptidome DDA ワークフローの Peptide Search において、包括的な遺伝子テーブルを統合することで、Proteomics と Genomics のギャップを埋めるよう改善されました。

Genome 情報を確認するステップは以下の通りです。



- ・検索対象の FASTA データベース登録時に gene 情報設定が必要です
- Configuration 画面でデータベース登録の際、下図青枠のように gene 情報及び Gene site を抜き出すためのルールが追加されました。Gene 情報を表示させるためには必ずここで設定をして ください。
- v11/11.5 などで登録済のデータベースでは、Gene 情報が付与されていませんので、再度設定し Update を実施してください。

Configuration				×			
😳 General	Database List						
😽 Enzyme	Sprot_2023011						
	Crap						
Instrument	Contaminant						
\prec Modifications	Sprot_20240110						
TMT/iTRAQ Q Method							
K SILAC Q Method							
	Database Detail						
o Database	FASTA format dat	tabase:	UniProtKB (Swiss-Prot, TrEMBL,)	•			
📃 Taxonomy	Basic Options						
Coostrol Library	Database name: Sprot_20240110						
Spectral Library	Database path:	C:\DB\	Sprot\Sprot_20240110\uniprot_sprot.fasta	Browse Validate			
👼 Glycan Database	Advanced Options						
- Workflow	Rule to parse acc	ession/i	d from FASTA title:				
	^>((tr\)(sp\))?(\S+) cription	from titlo:				
		сприоп	nom uue.				
	Rule to parse gen	e from t	tle:				
	(2<=GN\=)[^\s]+						
	Rule to parse gen	e site fr	om title:				
	(?<=gene_site\=)[^\	S]+					
				571282 sequences			
				1			

Gene 情報設定済の Database を使って Peptidome Search を実行すると、結果には
 Gene 情報が含まれ、新たに Gene タブが作成されます。

※v11/11.5 で計算済の Peptidome Search は Gene 情報が含まれませんので、再度計算してく ださい。

※Gene 情報を設定したデータベースに対して、通常の DB 検索を実施した場合も Gene 名のみは Proteins タブに表示されます。 ・Gene タブで遺伝子情報が確認できます。

		Ger	e View Filter	6949 Canonic	al Genes, total 7903 Genes							
			(Sene	Gene Site	Coverage (%)	# Peptides	# DeepNovo Tags	# Proteins		PTM	
l ü	•	766	CAPN3		chr15: 42359498 - 42412949	3.60	7	2	5	0		
Sul			NC_315045-REF	CAPN3-REF	chr15: 42359498 - 42412949	1.24	3	0	1	0		
			NC_72551-REFIC	APN3-REF	chr15: 42359498 - 42412949	1.01	1	0	1			
	1	767	CAPN7		chr3: 15206152 - 15252916	1.11	1	1	1			
e		Cov	verage	Support Peptide	s DeepNovo Tags							
Ger	ch	r150										
	C/	APN3 C	Canonical Proteins	s: 5 Non-Canonica	l Proteins: 2						Se	arch Sequence
eptide		De	DB Peptides sepNovo Tags	0 29 1	09						890	
	Ŧ	Canoni	cal									
		P2080	7 CAN3_HUMAN					MPTVISASVAP	RTAAEPRSPGPV	PHPAQSKAT	EAGGGNPS	40
	P2	20807-	2 CAN3_HUMAN					MPTVISASVAP	RTAAEPRSPGPV	PHPAQSKAT	EAGGGNPS	40
de	P2	20807-	3 CAN3_HUMAN					MPTVISASVAP	RTAAEPRSPGPV	PHPAOSKAT	EAGGGNPS	40
epti	P2	20807-	4 CAN3 HUMAN									0
L L	P2	20807-	5 CAN3 HUMAN									0
5			_	29							109	
		Non-Ci	anonical									
	315	5045-R	EF CAPN3-REF			MTWRSVQMS	SRRSLTQS					17
	72	2551-R	EF CAPN3-REF	SHSLAALI	RKVRNSNNSGTFSSR							52
				29							109	
	Ŧ	Peptide	•									
		HLA	IpT1185B_R1 🖣				_					
		HLA	IpT1185B_R2 🖣	•								
	v	DeepN	ovo									
		HLA HLA	IpT1185B_R1 • IpT1185B_R2 •	29							109	

Gene タブには、検出された遺伝子、各サンプルからの Coverage、その遺伝子に含まれるタンパク質 を確認することが出来ます。この機能により、ペプチドの同定と対応する Genome データとのシームレ スな接続が容易になります。

画面上部にはデータベースで定義されている Gene 名とヒトクロモゾーム上の Gene Site が表示されます。

ene View Filter	6949 Canonic	al Genes, total 7903 Genes					
Gen	e	Gene Site	Coverage (%)	# Peptides	# DeepNovo Tags	# Proteins	PTM
CAPN2		chr1: 223701593 - 223776018	4.00	3	2	2	
CAPN3		chr15: 42359498 - 42412949	3.60	7	2	5	0
NC_315045-REFICAP	PN3-REF	chr15: 42359498 - 42412949	1.24	3	0	1	0
NC_72551-REF CAPM	N3-REF	chr15: 42359498 - 42412949	1.01	1	0	1	
67 CAPN7		chr3: 15206152 - 15252916	1.11	1	1	1	
i8 CAPNS1		chr19: 36139953 - 36150353	3.36	2	2	1	
	CAPN2 CAPN3 CAPN3 NC_315045-REF[CAF NC_72551-REF[CAPI CAPN7 CAPN7 CAPN51	Gene Gene CAPN2 CAPN3 NC_315045-REF[CAPN3-REF NC_72551-REF[CAPN3-REF CAPN7 CAPN51	Gene Gene Site CAPN2 chr1: 223701593 - 223776018 CAPN3 chr1: 42359498 - 42412949 NC_315045-REF[CAPN3-REF chr15: 42359498 - 42412949 NC_72551-REF[CAPN3-REF chr15: 42359498 - 42412949 CAPN7 chr3: 15206152 - 15252916 CAPN3 chr19: 36139953 - 36150353	Gene Gene Site Coverage (%) CAPN2 chr1: 223701593 - 223776018 4.00 CAPN3 chr15: 42359498 - 42412949 3.60 NC_315045-REF[CAPN3-REF chr15: 42359498 - 42412949 1.24 NC_72551-REF[CAPN3-REF chr15: 42359498 - 42412949 1.01 CAPN7 chr3: 15206152 - 15252916 1.11 CAPN51 chr19: 36139953 - 36150353 3.36	Gene Gene Site Coverage (%) # Peptides CAPN2 chrl: 223701593 - 223776018 4.00 3 CAPN3 chrl5: 42359498 - 42412949 3.60 7 NC_315045-REF[CAPN3-REF chrl5: 42359498 - 42412949 1.24 3 NC_72551-REF[CAPN3-REF chrl5: 42359498 - 42412949 1.01 1 CAPN7 chr3: 15206152 - 15252916 1.11 1 CAPNS1 chr19: 36139953 - 36150353 3.36 2	Gene Gene Site Coverage (%) # Peptides # DeepNovo Tags CAPN2 chrl: 223701593 - 223776018 4.00 3 2 CAPN3 chrl: 223701593 - 223776018 4.00 3 2 NC_315045-REF[CAPN3-REF chrl: 42359498 - 42412949 3.60 7 2 NC_72551-REF[CAPN3-REF chrl: 42359498 - 42412949 1.01 1 0 CAPN7 chri: 5206152 - 15252916 1.11 1 1 CAPNS1 chrl: 9: 36139953 - 36150353 3.36 2 2	Gene Gene Site Coverage (%) # Peptides # DeepNovo Tags # Proteins CAPN2 chrl: 223701593 - 22377601 4.00 3 2 2 CAPN3 chrl5: 42359498 - 42412949 3.60 7 2 5 NC_315045-REF[CAPN3-REF chrl5: 42359498 - 42412949 1.24 3 0 1 NC_72551-REF[CAPN3-REF chrl5: 42359498 - 42412949 1.01 1 0 1 CAPN7 chr3: 15206152 - 15252916 1.01 1 1 1 1 CAPN51 chr19: 36139953 - 36150353 3.36 2 2 1 1

16

2. CAA(%)信頼度情報の追加

Peptide に対して、信頼性をチェックする Confident Amino Acid percentage (CAA %) が新たに追加されました。これは、DeepNovo の結果に対する信頼度を確認するために使われます。

(ALC スコアに似ています) PEAKS は、MSMS 内のアミノ酸を定義するイオンペアをチェックます。基本的に、各アミノ酸には % ion intensity が与えられ (this is percent of ion intensity compared to base/highest peak in the given MSMS spectrum)、ペア内の 2 つのイオン のうち低い方が割り当てられます。

これにより、指定された閾値を超える強度を持つフラグメンテーションイオンによってサポートされているペプ チドスペクトル内のアミノ酸の%を評価でき、ペプチド配列検証の信頼性が向上します。

以下の例の場合、% ion intensities は、 左から 5,20,36,15,4,4,6,5,5,5 (%) です。



通常設定される閾値は、2%(かなり厳格で高い信頼性があるとみなされます)です。もし、各アミノ酸がこの 2%閾値を超える一組のイオンで定義されている場合、%CAA はこの例のように 100%となります。

3. Non-Canonical データベース検索機能の追加

Peptide Search パラメータ設定の際、Non-Canonical データベース設定がレファレンスとして可能になり、Validation もしくは 2nd-round 検索を行うことが出来るようになりました。

Database

Target Database: Hur	man_withCDSvalidated	New Taxonomy: all species Set/View 42491 sequences
Non Canonical Databas	se: non_can_circRNA_val	New Taxonomy: all species Set/View 166702 sequences
	🔵 Validation Only 💿	Second Round Search
Contaminant Database	: N/A	✓ Peptide Length: 7

標準的な Canonical reference データベースでは見逃されがちな変異体や変更された配列をチェック することが可能になります。

LFQ 解析機能が追加されました

Qオプションをお持ちの場合、Peptidome ワークフロー内でラベルフリー定量解析が可能になりました。

※詳細は下記ページをご覧ください https://www.bioinfor.com/deepnovo-peptidome/

⑤ Label-Free 定量機能が改善されました

PEAKS12 では LFQ 解析において、いくつかの新機能が追加されました。

1. Feature Based LFQ

Feature ベースのアラインメントを使うオプションが追加され、また、Feature タブにおいて With Identification/Without Identification 両方の feature vector を確認することが出来るようになりました。

Identification-based

- 1. Feature detection
- 2. Feature identification association
- 3. Retention time (RT) alignment and feature matching
- 4. Relative abundance calculation
- 5. Significance assessment

Feature-based

- 1. Feature detection
- 2. Retention time (RT) alignment and feature matching
- 3. Relative abundance calculation
- 4. Significance assessment
- 5. Feature identification association

・Feature-based 実施方法

LFQ 解析パラメータ設定の際、ID Directed Feature Alignment オプションが追加されました。



チェックを入れた場合(デフォルト)→ Identified-based(同定された Feature のみが定量化) チェックを外した場合 → Feature-based(未同定の Feature も含めた定量化) で計算が実行されます。

・Feature-based 実施後の解析結果で、同定された Feature のみを見たい場合 LFQ 結果において Feature タブに移動し、画面上にある「Feature View Filter」でフィルタリングが 可能です。"With identification"にチェックを入れると、同定された Feature のみをリストアップ することが可能です。

\Lambda Feature View Filte			
Vith Identification			
Significance ≥	0		•
Fold change ≥	1		*

2. PCA(主成分分析)の Score プロットの追加

LFQ 結果の Summary タブにおいて、Group 毎・Sample 毎に主成分分析 (PCA) の Score プ ロットが表示されるようになりました。

Figure 5. PCA Plot (a) By Group (b) By Sample



3.3 グループ以上の解析に対応した Volcano プロットの改善

Summary タブでは、①Max Ratio と Base group、②1st Group と Base Group の 2 種類の Volcano プロットが表示されるようになりました。

また、Proteins タブにおいて Volcano プロット部分に、Group を選択するオプションが追加されました。 Group を切り替えた場合は、横の Update Plot ボタンをクリックすることで、プロットが更新されます。



4. Coefficient of Variation 図の追加

Summary タブに、Coefficient of Variation 図が追加されました(Figure 6)。これは Protein CV(coefficient of variation)とタンパク質の数をプロットした図です。このプロットは、全てのグルー プに少なくとも 2 つのサンプルが含まれる場合に表示され、Protein フィルタ設定によって更新されます。



※詳細は下記ページをご覧ください <u>https://www.bioinfor.com/quantification/</u>

6 <u>その他新機能</u>

● データベースチェック機能

Configuration のデータベース設定の際、長さが 30,000 以上のタンパク質、無効な ID を持つ タンパク質、重複するタンパク質を削除する機能が追加されました。 Database path ボックスの横にある Validate ボタンをクリックして下さい。 データベースチェックにおいて、いずれかのエラーが見つかった場合は、validated.fasta というファイ ルが新たに作成されます。

- 画像ファイルの保存形式 ほとんどの画像を SGV 形式でエクスポートするオプションが追加されました。
- RIQ Box プロットの追加
 TMT/iTRAQ 定量解析結果の Summary タブに RIO Box プロットが追加されました。各チャンネルの強度の Box プロットを表示し、サンプル間の分散と範囲を素早く判断するのに役立ちます。
- 切断部位前後のペプチドを考慮した csv エクスポート機能 データベース検索結果の Protein タブにおいて結果を Export する際、Support Peptide CSV をクリックすると、切断部位前後のペプチドも csv リストに加わるように改善されました。

● Fragment イオン設定の改善

Project 作成の際、Fragment イオン選択肢に NONE が追加されました。リスト内に設定が無いイオンタイプの場合に選択して下さい。

Sample	Enzyme		Instrument		Fragment		Acquisition	
👗 Sample 1	Trypsin	•	Orbitrap (Orbi-Orbi)	•	HCD	*	DDA	•
🕂 Add data files					CID			
🕂 Add sample					HCD			
					ETD			
					MIX			
					PQD			
					IRMPD			
					ETHCD			
					EAD			
					NONE			

- MSFragger スペクトルライブラリをサポート
 Spectral Library の対応フォーマットに MSFragger (FragPipe libraries : .tsc) が追加されました。
- バッチサブミッションオプションの追加 ほとんどのワークフローにおいて、Report 設定の際に Perform Batch submission オプションが 追加されました。ワークフロー内の各 Sample に対して個別の分析を実行することが出来るように なります。また、自動 Export オプションが追加され、タスクが完了すると、それぞれの結果の全ての CSV ファイルがエクスポートされます。

各機能の詳細につきましては英語 User-Guide をご覧ください。

お問い合わせ先:

インフォコム株式会社 ヘルスケアサービス部 ライフサイエンスグループ TEL:03-6866-3860 メール:support-science@infocom.co.jp 〒107-0052 東京都港区赤坂 9-7-2 ミッドタウン・イースト 10F