KnowItAll ソフトウェアトレーニング

KnowItAll GC Expert と SearchIt を使用した GC-MS 分析

自動デコンボリューションによる GC-MS 分析

自動デコンボリューションによる GC-MS 分析の実行方法

目的

これらの演習では、KnowltAll GC Expert を使用して GC-MS を自動的にデコンボリューション/分析する方法を示す。

目的

これらの演習で学ぶことは:

- ➤ KnowItAll GC Expert を使用して、GC-MS データを化学成分 MS スペクトルに自動デコンボリューションし、数百万のリファレンスに対して自動的に検索する方法。
- ▶ レポートの生成方法。

背景

GC-MS データは情報量が豊富である。分析には時間がかかることがあり、特に複雑な検体を検査する場合はなおさらである。我々は,高速かつ柔軟な自動デコンボリューションとデータベースの自動検索を組み合わせて,既知と未知を識別するコンピュータシステムを提案する。未知の化合物の構造的詳細を提案するために断片化と構造データを使用する MS Adaptive Search を適用することにより、新規化合物を同定し、構造特性を推定することができる。

このレッスンで使用するトレーニングファイル

C:\Users\Public\Documents\Wiley\KnowItAll\Samples\GC Expert フォルダファイル

KnowItAll 使用されるアプリケーション

KnowItAll GC Expert



GC-MS デコンボリューションアルゴリズム

本システムでは、複数のスペクトルにわたって個々の m/z 値を追跡し、個々の成分のデータから純粋なスペクトルを抽出しながら、重複する m/z 値のピークを持つ成分を分離しようとする。正確な m/z 値データが利用可能であり、ユーザーがこのデータを選択して単位 m/z 値の代わりに使用する場合、選択された機器精度(自動、ppm、固定値)が GC-MS 分析全体を通じて正しい m/z 値を決定するために使用される。生データの m/z 値は、機器の分解能を考慮して見つけた最も近い値に基づいて正確な値に変換される。補正された m/z の値は以下のデコンボリューションの基礎となる。

デコンボリューションステップでは、個々の m/z 値が複数の未加工スペクトルでトレースされ、m/z 値のピークが重なっている成分を分離しようとするときに成分スペクトルが抽出される。アルゴリズムの詳細は、以下の論文によって大きく要約されている 1-4。

低強度再構成総イオン電流(RTIC)クロマトグラフピークを有する成分が隣接成分から十分に分離できる限り、それらを自動的に検出するための追加ステップが追加された。

アルゴリズムは非常に複雑であるが、アルゴリズムの詳細は以下の論文によって大部分要約されている:

- 1. S. E. Stein。ガスクロマトグラフ/質量分析データからのスペクトル抽出および化合物同定のための統合メソッド。J am SoC Mass Spectrom 1999, 10, 770-781。
- 2. R. G. Dromey, M. J. Stefik, T. C. Rindfleisch, A. M. Duffield。ガスクロマトグラフィー/質量分析データからのバックグラウンドを含まない質量スペクトルおよび隣接成分寄与の抽出。*Analytical Chemistry*, 1976, **48(9)**, 1368-1375。
- 3. J. E. Biller, K. Biemann。再構成質量スペクトル: ガスクロマトグラフィー質量分析計データの活用に対する新しいアプローチ。 *Analytical Letters* 1974, 7, 515-28。
- 4. B. N. Colby。オーバーラップする GC/MS コンポーネントのスペクトルデコンボリューション。J am SoC Mass Spectrom 1992, **3**, 558-562。



MS スペクトル比較アルゴリズム

Research article

MASS SPECTROMETRY

Received: 5 October 2014

Revised: 16 February 2015

Accepted: 5 March 2015

Published online in Wiley Online Library

(wileyonlinelibrary.com) DOI 10.1002/jms.3591

Evaluation of mass spectral library search algorithms implemented in commercial software

Andrey Samokhin, a* Ksenia Sotnezova, Vitaly Lashin and Igor Revelsky

MS SEARCH

Composite algorithm $SI = \frac{N_U \cdot \left[\left(\sum_{L} W_L \cdot W_U \right)^2 \right]}{\sum_{L} W_L^2 \cdot \sum_{L} W_U^2} + \left[\sum_{L} \left(\frac{R_U}{R_L} \right)^n \right]}$

Dot-product algorithm

$$SI = \frac{\left(\sum W_L \cdot W_U\right)}{\sum W_L^2 \cdot \sum W_L}$$

Spectrum search type – identity (normal)

Presearch – default Included Libs – MainLib Apply limits – unchecked Use constraints – unchecked

Spectrum search type - similarity (simple)

Presearch – default Included Libs – MainLib Apply limits – unchecked Use constraints – unchecked

Samokhin, K. Sotnezova, V. Lashinb, I. Revelskya。商用ソフトウェアに実装された質量スペクトルライブラリ検索アルゴリズムの評価。J. Mass Spectrom。2015, 50, 820-825。



KnowltAll には 4 つの異なるアルゴリズムがあります:

場所

- 上の図のドット積(コサイン)-2番目の方程式
- Wiley Dot-Product (Cosine) (旧 KnowltAll アルゴリズム) ドット積計算を続行する前に、最大 16 個のピークのうち少なくとも 12 個とベースピークの一致を検証した古いフィニガンアルゴリズム。
- コンポジット P1-上の図の最初の方程式
- コンポジットP3-上の図の最初の方程式

P1 と P3 はピークの加重強度に加える電力によって異なった。

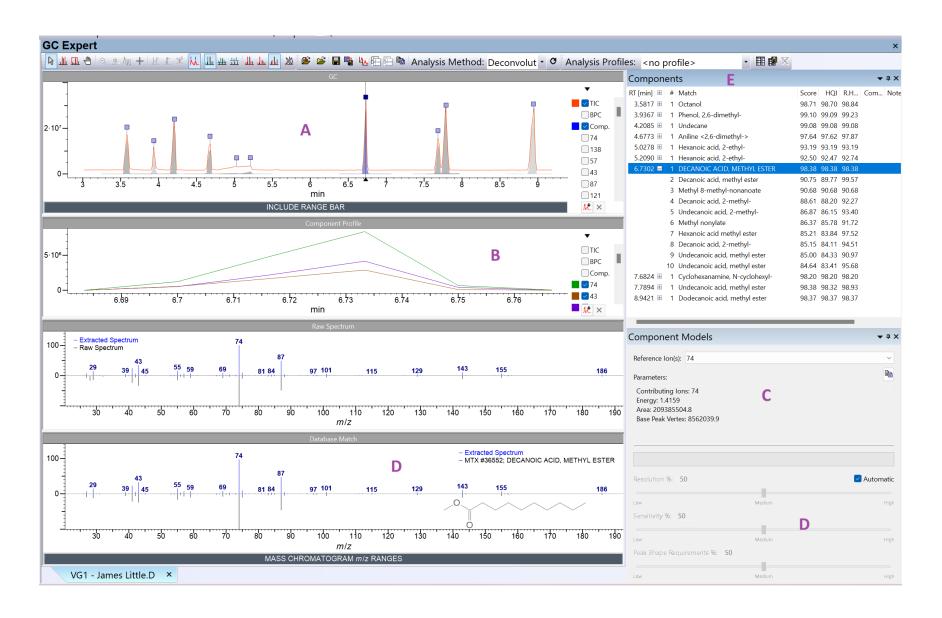
例 1: 単位 m/z 値の GC-MS

GUIの説明

下の画像は、単位 m/z のデコンボリューションされた GC-MS データと、大規模な Wiley GC-MS データベース内の各コンポーネントの検索結果を示している。

デコンボリューションされたコンポーネントのピークを示す A-GC パネル。GC パネルの右側にあるチェックボックスを使用して、クロマトグラム表示のオン/オフを切り替えることができる。クロマトグラムの選択された成分ピークに対応するボックスを選択すると、ボックスの色が暗くなる。

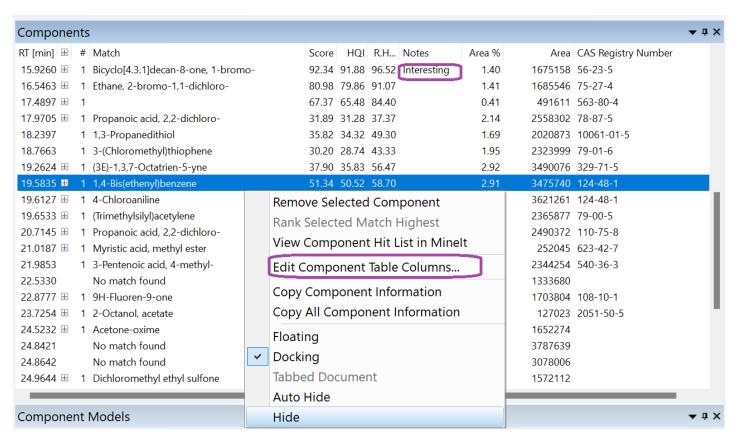
- B-コンポーネントプロファイルパネル(クロマトグラムの選択したイオンまたはコンポーネントを強調表示)。
- C-コンポーネントモデルパネル。コンポーネントのモデル化に使用される参照イオンを識別する。
- D-データベースマッチパネル。抽出されたスペクトル(上)とリファレンススペクトル(下)を表示する。
- E-コンポーネントパネル。ここでのスコアは、スペクトル検索および逆検索によるヒット品質指数(HQI)の合算値と、各コンポーネントのGC曲線下面積(AUC)値である。
- G-パラメータをアルゴリズムで調整できるパネル。



GC Expert の特徴

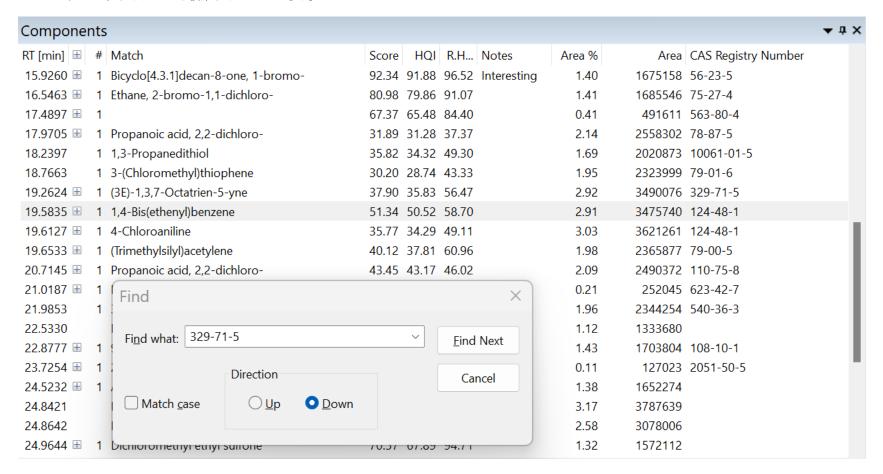
コンポーネント表(E)には、有用な情報が含まれています:

- 各コンポーネントの推定面積を示す。
- マッチに**メモ**を追加することができる。これは、関心のあるマッチしたコンポーネントの行で、「**Notes(メモ)」**欄の下のスペースをクリックすることで実行できる。
- 右マウスクリックで、ユーザーが実行できるアクションが表示される。コンポーネント列の編集(Edit Component Columns)では、表示を並べ替えることができる。

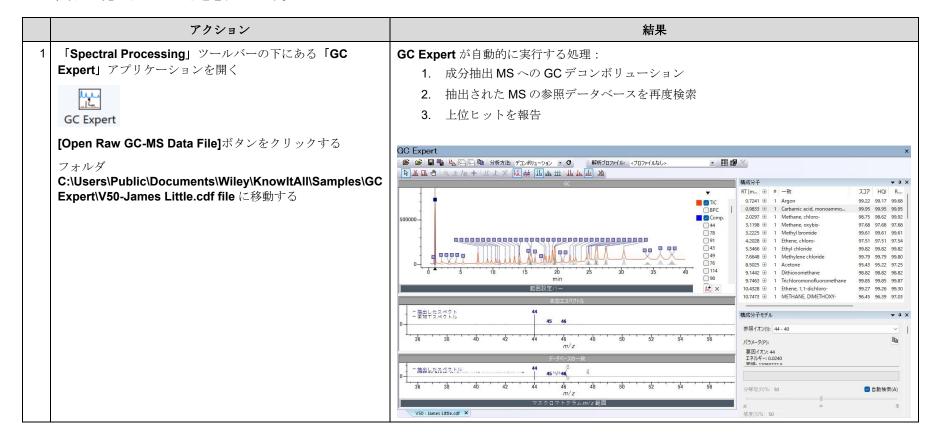




隠れた機能として、表示されているプロパティを [Ctrl] + [F] 操作で**検索することがで**きる。たとえば、Lookup 機能を使用して、CAS 番号 (例: CAS 番号 329-7105) に一致するデータを検索することができる。

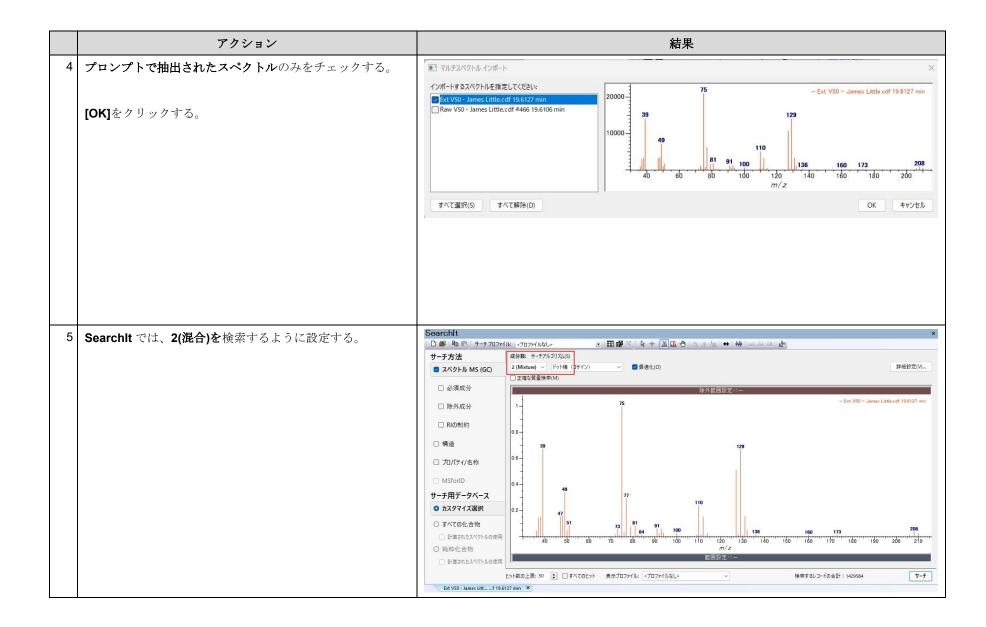


さて、我々は完全なプロセスを通過するだろう。



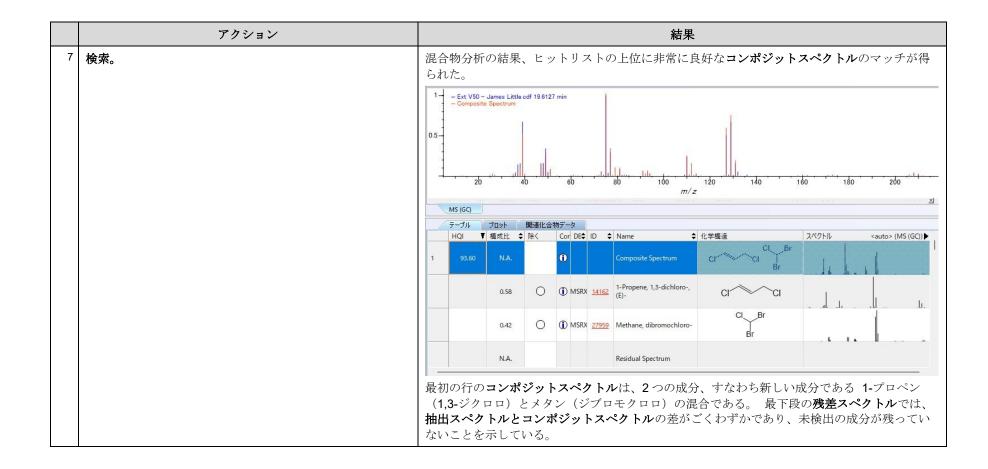


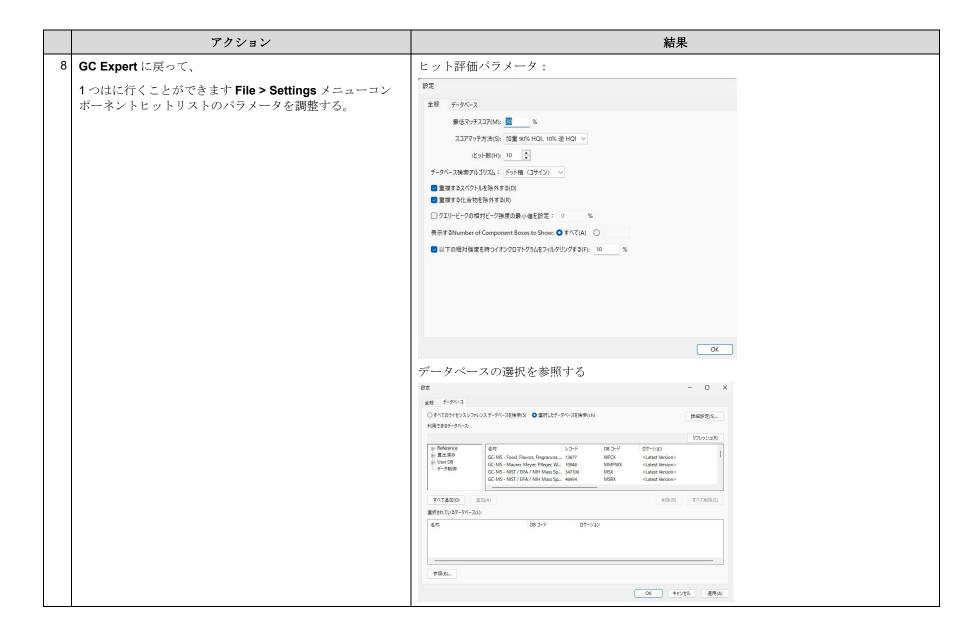
	アクション	結果					
2	Components テーブルのデコンボリューションされた各コンポーネントのヒットリストを調べる RT(MIN)19.6127 に進むと、このヒットのスコアは非常に低く、56.74 に注意する。	### ### ### #########################					
3	抽出したスペクトルを Searchlt に転送 2026 リリースの新機能: GC Expert からの参照データベースは、選択されたコンポーネント MS スペクトルが GC Expert から Searchlt に転送されるときに使用するデフォルトのデータベースとして Searchlt に送信される	KnowltAll Informatics System 2026, Analytical Edition ファイル(E) 編集(E) 表示(V) 解析(A) ライセンス(L) ヘルプ(H) ・ ・ 送り先: ◆ Reportit ・ Spectral Proces ▼ 4 GC Expert					



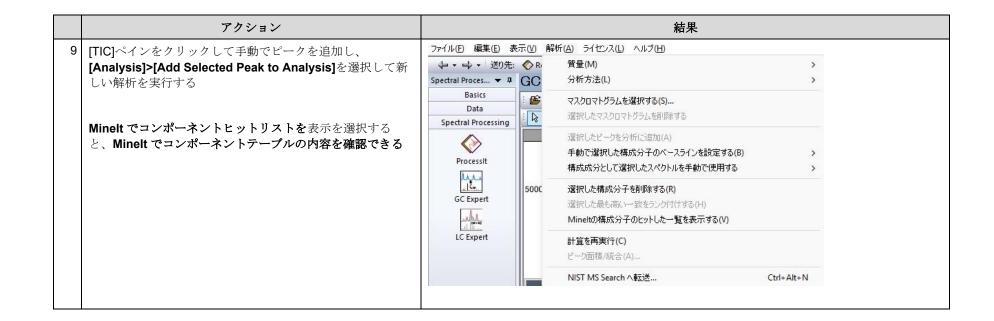








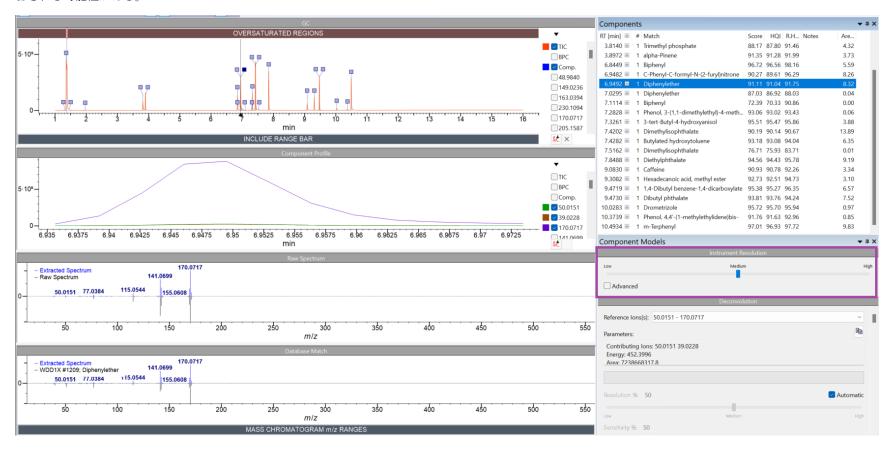




例 2: 高分解能 GC-MS

GUIの説明

アルゴリズムがデータの正確な m/z 値を自動的に計算するためには、装置の分解能が必要である。そこで、我々の研究では、質量(ppm)に応じて一定の値と変数値を持つデフォルト値として妥当と考えられるものを使用する。経験的には、これはほとんどの場合有効である。m/z 値の精度を高めすぎると、個々の m/z 値を1つの質量スペクトルピークに分割する危険性が生じる。m/z 値の精度を低くしすぎると、個々の質量スペクトルピークがマージされ、正確な m/z 値が誤って報告される可能性がある。





ユーザーがインストルメントの解決力を知っている場合は、その値をインストル**メント解像度**パネル(紫色のボックスで強調表示)に入力し、上の図の「Advanced (詳細)」をクリックして手動で値を入力する必要がある。

楽器の分解能をプロファイルの一部として保存することができ、そのプロファイルは楽器の種類に応じて選択することができる。ユーザーは異なる種類のデータ (および instrument) に対して異なる解像度設定を持つ複数のプロファイルを作成することができる。

GC Expert を使用した高分解能 GC-MS 分析-演習 1

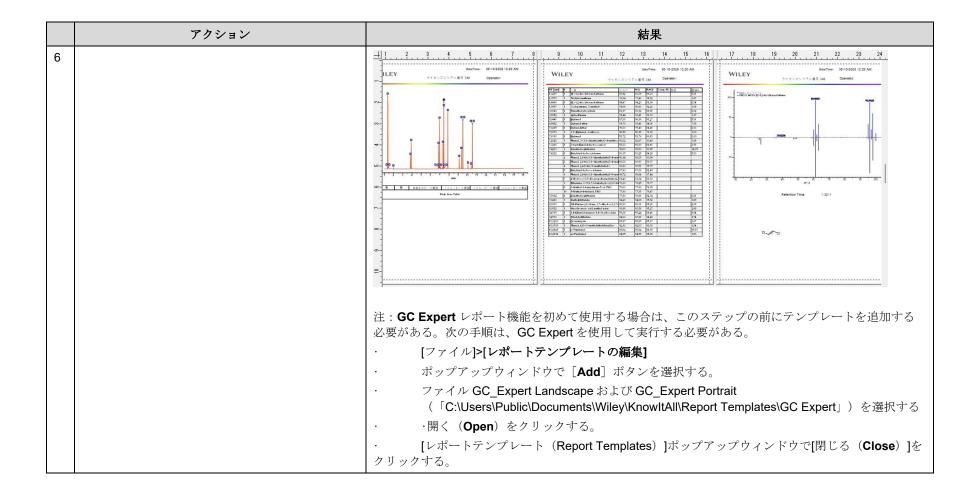
結果 アクション 注:前の演習で[ファイル]>[設定]を変更した場合 は、**[ファイル]>[設定]**に戻り、この演習でリセット する。 - 抽出したスペクト - 未加工スペクトル 170.0717 Open Raw GC-MS Data File ボタンをクリックし 141.0699 て、新しい解析を開始する。 77.0384 115.0544 39.0228 GC Expert □ GC-MS生データファイルを開く 100 50 150 GC-MS生データファイルを開く 次のフォルダに移動します: C:\Users\Public\Documents\Wiley\KnowItAII\Sa mples\GC エキスパート - 抽出したスペクトル - WMS3X #628305; Diphenyl ether 170.0717 ファイルを選択します: 77.0384 115.0544 Centroid Orbitrap HiRez - James Little.cdf 39.0228 注:ポップアップウィンドウが表示される。 「OK」をクリックして警告を無視する。 100 150 50 コンポーネントパネルを使用して、RT(MIN) 6.9482 を見つけ、そのコンポーネントをクリック する。 m/z の値 170.0717 は、この化合物ではわずかにずれている。

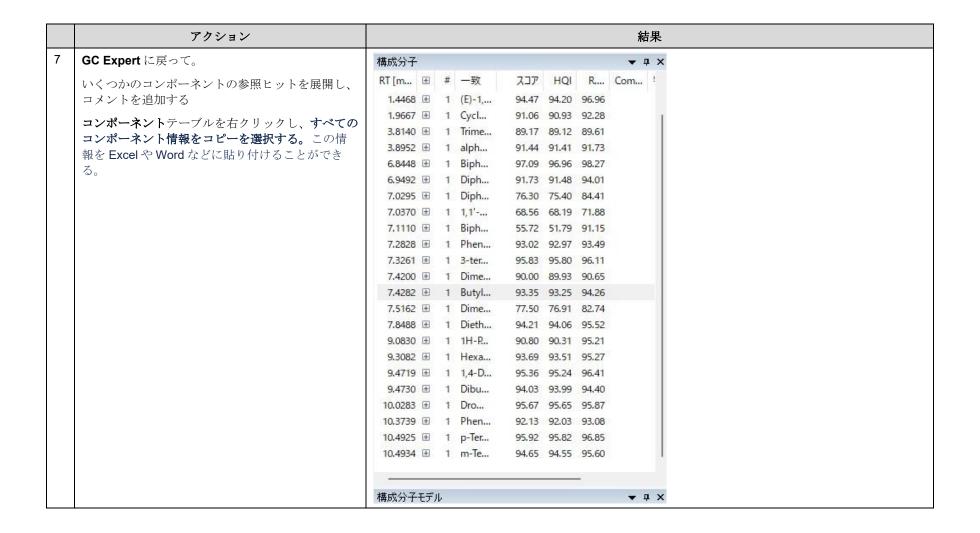
	アクション	結果
2	インストルメント解像度パネル で「 詳細」 をチェックする。	GC Expert はこれが高分解能データファイルであることを認識し、ユーザーが分解能情報を入力または調整できるようにしている。
	装置の分解能を3ppmに設定すると、	機器の解像度
	解像度の詳細設定	低中高
	機器の解像度(I): 3	高度な検索
	[OK]をクリックする。	
3		m/z の値は 170.0726 に修正される。これが正しい値である。この instrument resolution setup は永続的である。
		- 抽出したスペクト - 未加エスペクトル 141.0700 39.0228 77.0386 115.0544



	アクション	結果					
4	選択した一致のコンポーネントヒットを展開するに	構成分子			▼ 1	# ×	
	は、コンポーネント名の左にある(団)をクリックす	RT [m ±	#	一致	スコア		
	る。	1.3211 ⊞	1	(E)-1,2-bis(chloranyl)ethene	88.62	8	
	例えば、RT 7.4282 を持つコンポーネントを見つけ	1.3570 ⊞	1	Trichloromethane	78.34	7	
	る。(⊞)アイコンをクリックする。	1.4468 ⊕	1	(E)-1,2-bis(chloranyl)ethene	94.47	9	
		1.9667 ⊞	1	Cyclopentene, 3-methyl-	91.06	9	
		3.8140 ₺	1	Trimethyl-phosphate	89.17	8	
		3.8952 ₺	1	alpha-Pinene	91.44	9	
		6.8448 ⊞	1	Biphenyl	97.09	9	
		6,9492 ±	1	Diphenyl ether	91.73	9	
		7.0295 ±	1	Diphenylether	76.30	7	
		7.0370 ₺	1	1,1'-Biphenyl, 3-ethoxy-	68.56	6	
		7.1110 ⊞	1	Biphenyl	55.72	5	
		7.2828 ±	1	Phenol, 3-(1,1-dimethylethy	93.02	9	
		7.3261 ⊞	1	3-tert-Butyl-4-hydroxyanisol	95.83	9	
		7.4200 ±	1	Dimethylisophthalate	90.00	8	
		7.4282 🗏	1	Butylated hydroxytoluene	93.35	9	
			2	Phenol, 2,6-bis(1,1-dimethy	90.14	9	
			3	Phenol, 2,6-bis(1,1-dimethy	90.09	8	
			4	Phenol, 2,4,6-tris(1-methyle	88.63	8	
			5	Butylated hydroxy toluene	87.63	8	
			6	Phenol, 2,4-bis(1,1-dimethy	86.72	8	
			7	4-Hydroxy-3,5-diisopropylb	81.40	8	
			8	Ethanone, 1-(5,6,7,8-tetrahy	78.30	7	
			9	3-Methyl-1-benzofuran-5-o	78.00	7	







ピークピッキングによる GC-MS 分析の実行方法

目的

これらの演習では、KnowltAll GC Expert を使用してピークピッキングによって GC-MS データを分析する方法を示す。

目的

これらの演習で学ぶことは:

- ➤ KnowItAll GC Expert を使用してピークピッキングを使用して GC-MS を分析する方法。
- ▶ レポートの生成方法。

背景

GC-MS データはデコンボリューションせずにピークピッキングにより解析可能である。未知の化合物の構造的詳細を提案するために断片化と構造データを使用する MS Adaptive Search を適用することにより、新規化合物を同定し、構造特性を推定することができる。

このレッスンで使用するトレーニングファイル

 C:\Users\Public\Documents\Wiley\KnowItAll\Sa mples\GC-MS\Barbiturate GC-MS.d

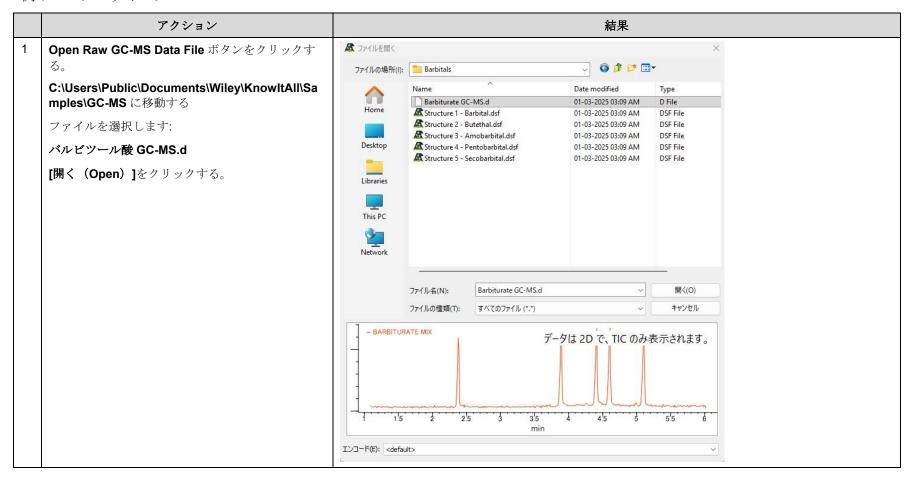
KnowltAll 使用されるアプリケーション

KnowItAll GC Expert

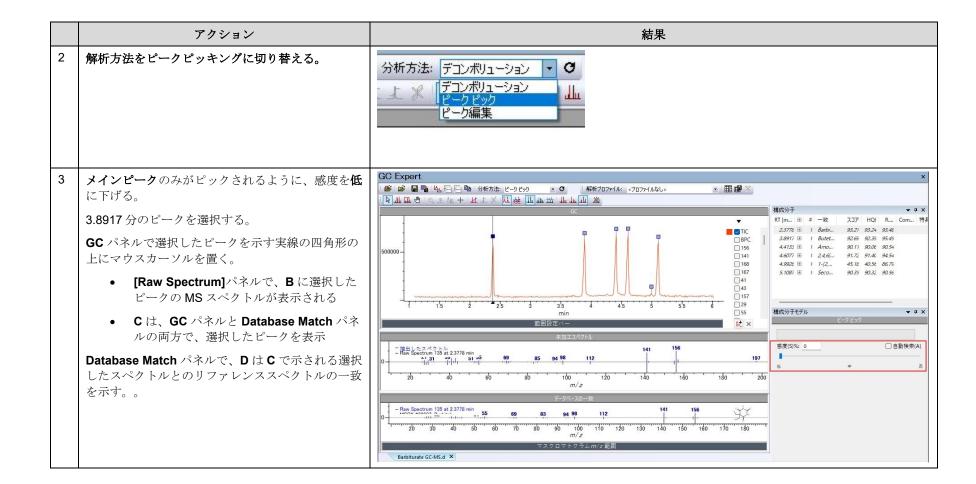


KnowItAll GC Expert はデフォルトでデコンボリューションを実行します。しかし、特に GC が成分を十分に分離する場合には、ピークピッキングオプションを使用して GC-MS データを分析することもできる。

例:ピークピッキング









GC-MS データを手動で分析する

GC-MS データを手動で分析する方法

目的

これらの演習では、KnowltAll GC Expert を使用して GC-MS データを手動で分析する方法を示す。

目的

これらの演習で学ぶことは:

▶ KnowItAll GC Expert を使用して GC-MS データを手動で分析する方法

背景

KnowltAll GC Expert は GC-MS データを調べ、スペクトル減算を行うことができる。 減算されたスペクトル に一致するものが参照データに対して検索される。

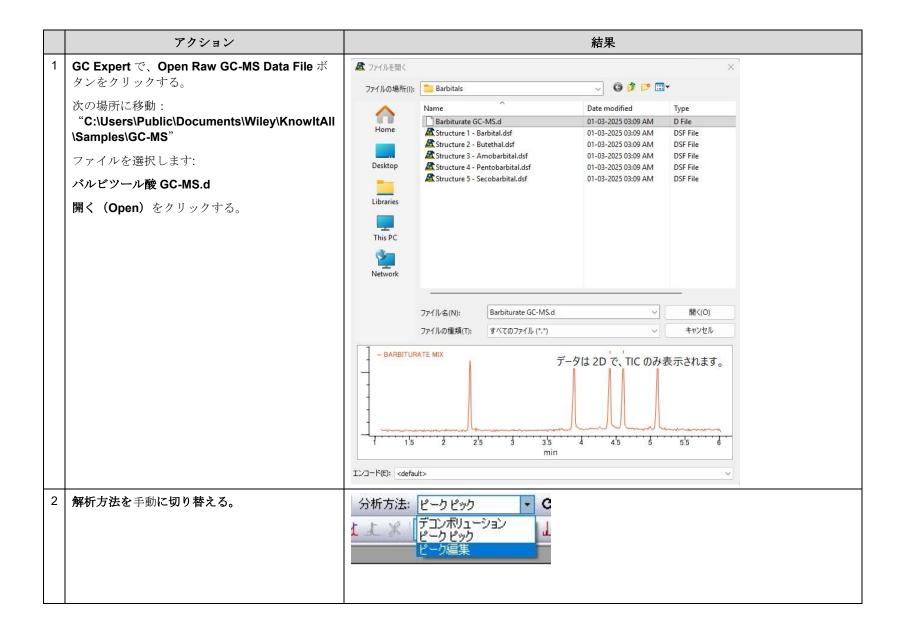
このレッスンで使用するトレーニングファイル

• C:\Users\Public\Documents\Wiley\KnowItAll\Sa mples\GC-MS\Barbiturate GC-MS.d

KnowltAll 使用されるアプリケーション

• KnowItAll GC Expert

例:手動分析





アクション 結果 Average Range Bar (A) を使用して、MS クロ サブトラクションされたバックグラウンドを持つ MS スペクトル(C)と、対応するマッチング マトグラムの選択した領域を定義する。 されたリファレンス MS スペクトル(D)が下部パネルに表示される。 • **平均範囲バー**に沿ってマウスカーソルを RT [m... 日 # 一致 237 HOI R.... Com... 1.1653 □ 1 1-Azi... 69.75 69.01 76.76 **■ ■** TIC 600000-クリックしてドラッグする。 2 2-Azi... 68.81 68.04 75.66 3 Carb... 67.27 67.01 69.54 4 Azod... 62.45 62.21 64.56 400000-• 必要な範囲をいくつでも選択できる。 5 1,3-D... 62.35 62.16 64.50 6 Airw... 60.76 59.26 74.26 ___41 ___43 7 Fura... 60.14 57.74 81.73 バックグラウンドレンジバー(B) を使用して、 & Acet... 59.25 59.03 61.26 クロマトグラムの選択したバックグラウンド領域 構成分子モデル を定義する。 • **背景範囲バー**に沿ってマウスカーソルを - Raw Spectrum 512 at 6.0172 min - Raw Spectrum 9 at 1.1653 min クリックしてドラッグする。 必要な範囲をいくつでも選択できる。 Barbiturate GC-MS.d X