

2013.8.12

TSENツール(GUI version)の 利用マニュアル

作成

国立環境研究所 頭士 泰之

TSEN.exeの動作環境について

- Windows XP, Vista, 7のOSで動作確認済みです。
- 英語版windows, 他社OSでは正しく動作しません。
- データ解析ソフト「R」のインストールが必要です。下記サイトからフリーダウンロード可能です。
- <http://cran.md.tsukuba.ac.jp/bin/windows/base/>
- Agilent, Waters, JEOLのnetCDFデータ(LC及びGC)に対して動作を確認済みです。
- 本ツールはAutoKey技術を利用しており、PCはプログラム実行中、自動キー操作されます。プログラム実行中(最初の1分程度)はPCに触れないでください。大事なファイル等も保存して、閉じてから本ツールを実行してください。

2つの実行ファイル(.exe)について

- 配布フォルダ中には、下記の2種類の実行ファイルがあります。
- 「TSEN_x32sp1.exe」: 32bitのOS用
- 「TSEN_x64sp1.exe」: 64bitのOS用
- メモリ使用量の関係上、基本的には64bitOS環境下のみでしか動作しません。物理メモリも10GB以上ある事が望ましいです。
- GCxGC-HRTOFMSのデモ用データは、下記サイトからダウンロード可能です。
- <http://www.nies.go.jp/analysis/member.html#downloads>

起動画面と操作方法について

The screenshot shows the T-SEN exe special edition (64 bit version) window. It has a blue title bar and a light beige background. The interface is divided into several sections with numbered steps on the left:

- ①** - Choose files -
Select .cdf file for T-SEN processing
- ②** Select database .csv file for T-SEN processing
- ③** - Select save files position -
Select save folder and input file name. Two chromat pictures (.jpg) and a result file (.csv) are created.
- ④** - T-SEN Package installation -
☐ Install Packages. Check that you are online!
☒ Package T-SEN and ncdf are installed
- ⑤** - Check your R version -
R-2.14.2 Input your R version for using.
☐ Place of R folder is [Program files]. Check off if C drive directly
☐ R is 32 bit version. T-SEN with spetial edition is needed.

Below these steps are two tabs: "Separation parameter" (selected) and "Mass parameter". Under "Separation parameter", there is a dropdown menu set to "Two-dimensional" with the text "Select dimension." below it. Below the dropdown are several input fields with labels:

- BaseIS.search: Search range of base IS for RT correction in entire chromatogram (±sec).
- Range.correct: The degree of peak range correction after peak finding (±sec).
- search.range.x-axis: Search range in first GC (±sec). Rounded to MPereod each in 2D.
- Search.range.y-axis: Search range of a peak in second GC (±sec). 2D only
- MPeriod: The modulation time period.
- Phase.shift: The time of phase shift.

At the bottom right of the window is a button labeled "T-SEN run".

①解析するデータ(CDF)を選びます。

②抽出する化合物の入力されたデータベースファイル(csv)を選びます。

③解析結果を出力するフォルダとファイル名を設定します。

④初回の場合、必要なプログラムをインストールする必要があるので、上の○を選んで下さい。

⑤「R」を呼び出すためのパス設定をします。インストールされたRのバージョンを入力し、「R」フォルダがCドライブ直下にあるか、それ以外かを指定してください。Rが32bit版の場合もチェックボックスをonにしてください。

起動画面と操作方法について

☐ R is 32 bit version. T-SEN with special edition is needed.

Separation parameter Mass parameter

 Select dimension.

 BaseIS.search: Search range of base IS for RT correction in entire chromatogram (\pm sec).

 Range.correct: The degree of peak range correction after peak finding (\pm sec).

 search.range.x-axis: Search range in first GC (\pm sec). Rounded to MPeriod each in 2D.

 Search.range.y-axis: Search range of a peak in second GC (\pm sec). 2D only

 MPeriod: The modulation time period.

 Phase.shift: The time of phase shift.

- 測定データの分離パラメータを設定します。1Dデータか2Dデータかを選んで下さい。
- 1Dデータの場合「Search.range.y-axis」,「Mperiod」,「Phase.shift」は解析時特に利用されません。
- LCデータの場合「search.range.x-axis」や「Range.correct」は大きな値に設定するなど変更してください。デフォルトはGCxGC用の設定になっています。

起動画面と操作方法について

✓ R is 32 bit version. T-SEN with special edition is needed.

Separation parameter **Mass parameter**

Accurate MS Select MS type.

5 CountMS: The number of MS counting for searching/assignment of target compounds.

Tolerance (m/z) = HRwide.order × HRwide.order.fluc

0.01 HRwide.order: The decimal point position in accurate mass.

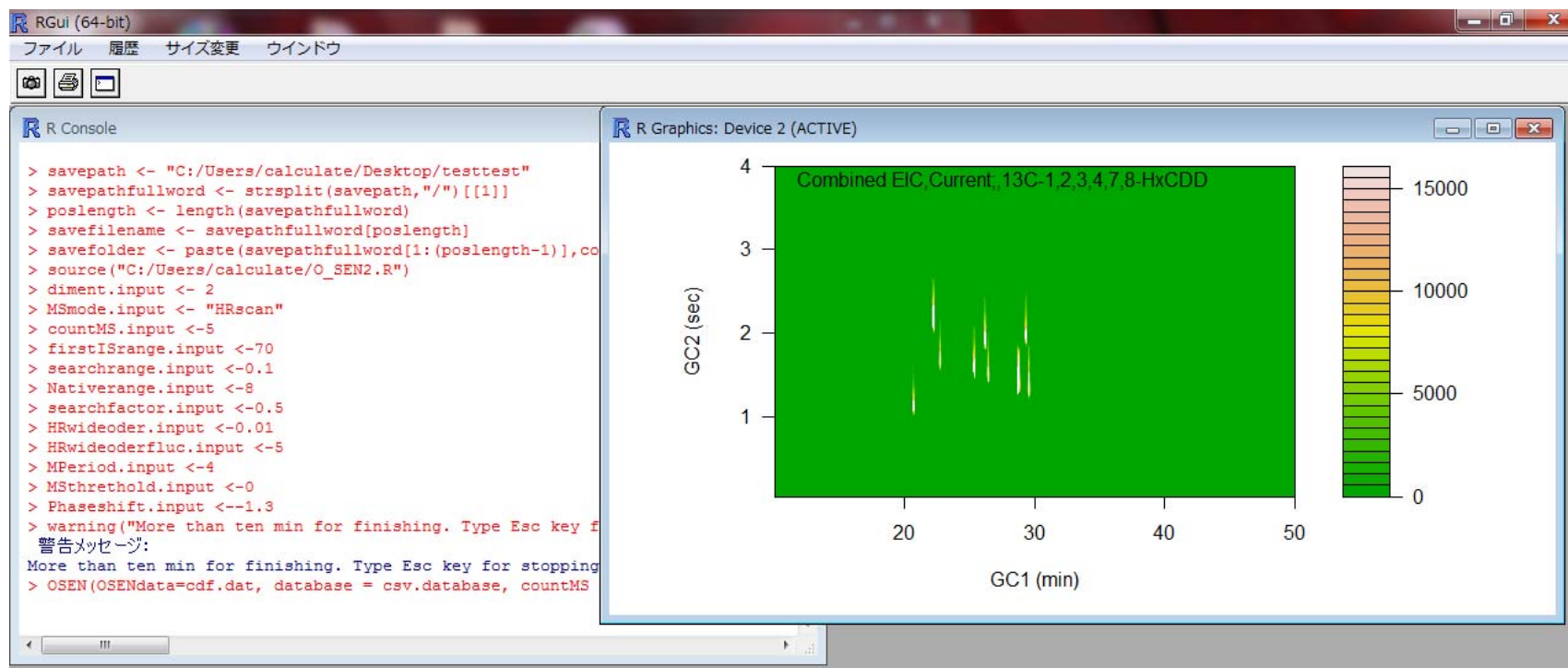
5 HRwide.order.fluc: The degree of fluctuation.

0 MSthreshold: The minimum threshold of ion intensity.

T-SEN run

- 測定データのMSパラメータを設定します。
- 整数MSか精密MSかを選んで下さい。
- 整数MSを選んだ場合、「HRwide.order」、「Hrwide.order.fluc」は解析に利用されません。
- 全ての設定が終わったら、「T-SEN run」ボタンを押してください。

解析実行中の画面



- 正しく設定が行われると、「R」が起動し、設定に従ったコードが読み込まれます。
- 「R」に全てコードが渡されると、化合物の抽出作業が順次始まります。
- GCxGCデータに対する標準設定では1化合物の抽出に4秒程度かかるので、100化合物程度では計算終了まで10分程度待つ必要があります。
- 解析終了後、保存先に設定したフォルダに、「TIC画像」、「抽出画像」、「積分結果」が作成されます。

積分結果出力ファイルについて

イオン強度の合計値
イオン強度の計算法について
は下記を参照してください
Analytica Chimica Acta, 778,
(17), 54–62, 2013

ピークが見つかった座標(phase.shiftやpaddingが考慮
されていないので、実際の画像表示と異なります)

データベースで設定した対応ISと
Nativeとの比

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M		
1		Compound	Combined	SN	Noise	canc	Noise	num	RT1 (min)	RT2 (sec)	peak top	ICIS/Native	ID of IS	ISratio	ISratio_fitting
2	1	13C-2,3,7-	300909.6	165.5138	8	71	22.21	2.02	18534	1	0	0	0	0	0
3	2	13C-1,3,6-	372666	2145.417	5	59	20.68	1.19	16190	1	1	0	0	0	0
4	3	13C-2,3,7-	551239.8	1226.493	3	57	22.21	1.98	18533	1	2	0	0	0	0
5	4	13C-2,3,7-	398560.1	4836.689	1	59	22.75	1.47	19328	1	3	0	0	0	0
6	5	13C-1,2,3-	456085.9	Inf	0	57	25.35	1.07	23257	1	4	0	0	0	0
7	6	13C-2,3,4-	496599.3	1372.298	4	55	26.15	1.35	24476	1	5	0	0	0	0
8	7	13C-1,2,3-	344504.9	721.0077	8	60	26.41	0.87	24868	1	6	0	0	0	0
9	8	13C-1,2,3-	719750.6	336.2663	3	74	28.75	0.52	28394	1	7	0	0	0	0
10	9	13C-1,2,3-	861053.5	337.5983	5	74	28.75	0.52	28394	1	8	0	0	0	0
11	10	13C-2,3,4-	418019.4	1365.074	4	73	29.28	1.03	29215	1	9	0	0	0	0
12	11	13C-1,2,3-	622425.3	Inf	0	71	29.55	0.36	29602	1	10	0	0	0	0
13	12	13C-1,2,3-	537917.3	129.2953	11	61	29.55	0.36	29602	1	11	0	0	0	0
14	13	13C-1,2,3-	351636.3	723.8645	8	61	29.75	0.63	29912	1	12	0	0	0	0
15	14	13C-1,2,3-	413853.1	1156.906	4	56	30.01	0.79	30320	1	13	0	0	0	0
16	15	13C-1,2,3-	369360.7	721.2165	6	66	31.35	0.2	32325	1	14	0	0	0	0
17	16	13C-1,2,3-	255620.4	3623.173	1	58	32.35	0.16	33839	1	15	0	0	0	0
18	17	13C-1,2,3-	369778.1	504.0314	1	70	32.81	0.24	34548	1	16	0	0	0	0
19	18	13C-OCDF	407048.6	3542.264	1	84	34.88	0.16	37677	1	17	0	0	0	0
20	19	13C-OCDF	443746.7	344.8065	6	61	35.01	0.2	37880	1	18	0	0	0	0
21	20	2,3,7,8-TC	2665337	5567.459	4	61	22.21	2.02	18534	0	2	4.835168	0	0	0
22	21	2,3,7,8-TC	2095995	1425.677	12	70	22.75	1.47	19328	0	3	5.258918	0	0	0
23	22	1,2,3,7,8-P	2480828	1882.569	6	67	25.35	1.07	23257	0	4	5.439389	0	0	0
24	23	2,3,4,7,8-P	2506915	5026.745	5	60	26.15	1.35	24476	0	5	5.048164	0	0	0
25	24	1,2,3,7,8-P	1571282	4949.105	2	65	26.41	0.87	24868	0	6	4.560985	0	0	0

- 化合物のアサイン結果と定量値(設定MS数のフラグメントパターンで測定MSフラグメントをクリーンにした後の第一MSの合計intensity)が出力されます。設定したISとの強度比も計算されます。

データベースについて

化合物ID

IDが0以下のものは定量計算に用いられません。RT補正用です。

RT補正

1: 最初のキャリブレーションです。
0: 補正に用いられません。

* どのISを参考にRT補正するか、また面積比を計算するか (Native化合物に対してISのIDを入力)

A		B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	Q	R	S	T	U	V	W
1	BlobID	Compound Abreviation	Group Name	Rtcorrect	Internal Standard	Peak I	Peak II	IS	Native ref	RT	Area	MS1	MS2	MS3	MS4	MS5	MS6	MS7	MS8	MS9	MS10	MS11	MS12
2	-2	13C-2,3,7,8-TCDF	PCDD	1		22.24	0.834		0	低分子	317.95283	315.94825	319.93246	318.92842	316.93021	321.92677							
3	IS									Rtc-対	15.265677	12.887926	9.9872899	4.4107563	2.5250874	2.3886481	1						
4	1	13C-1,3,6,8-TCDD	PCDD	0		20.63	0.001		1	高分子	333.9487	331.94479	335.93219	267.97001	269.96701	204.00319	3						
5										高分子	12.049672	10.114774	8.0782124	6.1127712	5.8802501	2.8517746	2						
6	2	13C-2,3,7,8-TCDF	PCDD	4		22.24	0.834		2	低分子	317.95283	315.94825	319.93246	251.9708	253.96762	182.03453	3						
7										低分子	15.265677	12.887926	9.9872899	4.4107563	2.5250874	2.3886481	1						
40	19	2,3,7,8-TCDF	PCDD	0		22.24	0.834		2		305.89596	303.89921	307.89436	240.9406	242.93661	171.00252	30						
41											22.536902	17.63751	10.841941	4.0036323	3.9958859	3.8846943	3						
42		7,8-TCDD	PCDD	0		22.24	0.834		3		321.89055	319.88321	323.88787	256.93117	258.92932	193.97054	31						

- リストの上の化合物から解析が始まります。ISから先に入力し、その後同じグループのNativeを入力してください。続いて次のグループのIS→そのグループのNativeといったように入力します。
- 2行で一つの化合物情報です。2行目にはMS相対強度比(合計100%となるように計算される値です)を入力してください。
- IセルからPセルは備考欄です。ご自由にメモをお書きください。
- 解析中、EセルのInternal Standardの情報 (IS=1, Native=0) でISか否かを判別します。
- Nativeの化合物にはHセルに、対応させたい(RT補正基準・定量に用いたい)ISのIDを入力してください。ISの化合物には特に入力する必要はありません。
- GCxGCの場合、パディングしない状態で読み取ったRTをF,Gセルに入力してください。

予想されるエラーと対処について

Q: 解析をスタートさせた所、エラーメッセージ「以下にエラー inherits(x, "data.frame"): オブジェクト 'ISref.result.box' がありません」が表示されました。

A: データベース内の化合物の入力リテンションタイムがCDFデータの取得領域内に収まっている必要があります。例えば測定データが1ー10分であるのに対し、溶出時間20分の化合物がデータベースにある場合、このような探索エラーとなります。→データベースを修正してください。

Q: 「T-SEN run」ボタンを押した後、T-SEN.exeがフリーズして解析が始まりません。

A: データ解析ソフト「R」のリンク先が誤って入力された可能性があります。→タスクバー右下にT-SENのアイコンが表示されているので、右クリックして一度Exitしてください。再度解析を際に、R.exeのファイルパスを確かめ、T-SEN.exeに正しく情報入力してください。詳しくは本マニュアルの「起動画面と操作方法について」を参照してください。

Q: 同じ設定でT-SENツールを実行しているのに、解析がうまく始まるときとエラーで終わるときがあります。

A: 自動キー入力が安定していない事が原因と考えられます。PCのその他処理信号と重複によるものかもしれませんので、うまく始まらなかった際には再度試してください。

注意事項について

- ソースファイルについて
- 配布フォルダ内にTSENソースファイル「T_SEN.R」があります。
- 「TSEN.exe」と同じフォルダ（もしくは同じ階層）に収めたままにしてください。
- License: Artistic License 2.0
- 免責：本ツールを利用したことにより生じた、いかなる不利益も補償されません。
- 本ツールの引用には *Zushi et al., Anal. Chim. Acta (2013) 778, 54-62.* をご利用ください。