

Ⅲ. 平成 13 年度分担研究報告書

厚生科学研究費補助金（特定疾患対策研究研究事業）

分担研究報告書

オリゴヌクレオチドアレイ法（GeneChip）による試料解析法に関する検討
マイクロダイセクションより採取される微量 RNA 試料解析法の検討

分担研究者 油谷浩幸 東京大学先端科学技術研究センター教授

研究要旨 ヒトの組織あるいは特定の細胞種についての遺伝子発現プロファイルを解析する際には、得られる検体量が限られることが多く、均一な細胞種からの解析を行うためには、より微量の検体からより quality のよい RNA を十分量に増幅させることが望まれる。ヒト組織からの特定な細胞の選択的な収集にマイクロダイセクション法を用い、その過程に伴う RNA の品質の変化の評価を行った。またこうして得られた微量な RNA より、オリゴヌクレオチドアレイ解析に使える量と quality を保持した RNA に増幅するため、T7 RNA ポリメラーゼを用いた in vitro 転写反応を含めた複数の方法で、2回の増幅反応をした後、cRNA の伸張度についてマイクロキャピラリーを用いた電気泳動により検討した。アレイ解析に必要な RNA の採取と増幅に重要な影響を持ついくつかのポイントが同定され、改良の余地があることが示された。

研究協力者

筆宝義隆 東京大学先端科学技術研究センター
一博士研究員

谷口浩和 東京大学医学系大学院大学院生
石川俊平 東京大学医学系大学院大学院生

ロファイル解析を目的として条件検討を行った。

B. 研究方法

マイクロダイセクションによる RNA quality の変化 ヒト組織からの特定な細胞の選択的な収集にはマイクロダイセクション法を用いた。装置は Arcturus 社の LM200 を用いた。麻酔後5分以内で凍結したラット組織からマイクロトーム（Leica 社製）を用いて切片を作成し、固定、染色を施し、マイクロダイセクションできうる状態の切片より、total RNA を回収（Qiagen 社製 RNeasy）し、その quality（18S 及び 28S ribosomal RNA の比）をマイ

A. 研究目的

ヒトの組織あるいは特定の細胞種についての遺伝子発現プロファイルを解析する際には、得られる検体量が限られることが多く、均一な細胞種からの解析を行うためには、より微量の検体での解析が望まれる。本研究ではマイクロダイセクションにより均一の細胞集団より取り出した微量 RNA についての発現プ

クロキャピラリーを用いた電気泳動装置 (Agilent 社 bioanalyzer) を用いて検証した。まず薄切による RNA quality への影響を調べるため、厚さ (7 及び 14 μm)、肉眼による切片の状態 (きれいに切れたものおよび鋸歯状になったもの)、及び刃角 (標準およびそれより鋭角、鈍角) の条件を変え、染色せずにそのまま RNA を回収した。

ついで染色過程に過程における RNA への影響を調べるため、7 μm に薄切した切片より 75%エタノールで固定し、20 秒という短時間で H.E に比する染色性をもつ染色液 Histogene (Acturus 社) によって染色、脱水し、切片より RNA を回収した。続いて、上記の反応を on ice で行ったもの、RNase inhibitor (1U/ μl SuperAse Ambion 社)を染色液中加入したもの、また染色過程のみ省き固定、脱水のみ行ったものより RNA を回収し評価した。

最後にマイクロダイセクションにかかる時間の影響を評価するため、上記により固定、染色、脱水した切片を常温室内で、0分、50分、3時間放置した後 RNA を回収した。

微量 mRNA の増幅

原理の異なる Ambion 社、Acturus 社の kit を用い、RNA 増幅方法について検討した。Ambion 社のものは T7 RNA ポリメラーゼを用いた in vitro 転写反応を含めた増幅法であり、1回目の増幅時には oligodT primer を用いて mRNA より cDNA が作られるが、2回目の増幅時に random primer を用いて cRNA より cDNA を作るため、最終産物の cRNA の長さが短くなることが予想される。Arcturus

社の反応試薬は原理が多少異なると推定されるが公表されていない。28s/18s 比 2.0 の high quality total RNA 2 μg 、および (Ambion 社 kit については)10ng、ついで 28s/18s 比 1.4 前後の total RNA 2 μg より増幅した。10ng からの増幅については RT 反応と in vitro 転写反応に mineral oil を用いたものも検証した。増幅産物を、Agilent 社 bioanalyzer を用いて評価した。

C. 研究結果

マイクロダイセクションによる RNA quality の変化

cryostat で薄切したマウス肝臓からそのまま抽出した場合、RNA の 28s/18s 比は約 1.1 であった。刃角、肉眼的切片の状態、薄切厚いずれも quality に影響が見られなかった。薄切後組織染色せずに固定、脱水のみでマイクロダイセクション可能な切片にした場合は約 0.6、染色液で組織染色した後、固定、脱水、マイクロダイセクション可能な切片にした場合は約 0.4 となり (図 1)、また RNA quality の低下は on ice で行っても、RNase inhibitor を加えても大きな変化はなかった。また脱水後の切片を、50分室温に放置した後 RNA を回収しても影響は見られなかったが、3時間後に回収したものではわずかに quality の変化が見られた。

微量 mRNA の増幅

28s/18s 比 2.0 の high quality total RNA 2 μg 開始からすると、2回増幅後の Ambion 社 kit の収量は mRNA を total の 1% とすると約 80000 倍の増幅、一方 2回増幅後の Arcturus

社 kit の収量は約 68000 倍の増幅であった。Ambion 社 kit の増幅産物のピーク値は 1 回増幅後では 1100bp, 2 回増幅後で 600bp であったが (図 2), Acturus 社 kit の 1 回増幅, 2 回増幅後では各々 350bp, 300bp であった。一方, 同じ high quality RNA 10 ng より増幅した Ambion 社 kit の 2 回増幅後の収量は約 60000 倍の増幅であり、の 1 回増幅後のピーク値は約 500bp, 2 回増幅後のピーク値は約 350bp であった。Mineral oil を反応に加えると、ピークの長さは大きく変わらなかったが、収量は 220000 倍に増加した。28s/18s 比 1.4 の total RNA 2 μ g より Ambion 社 kit を用いて増幅した産物は 収量は 28s/18s 比 2.0 より行ったときと変わらなかったものの、1 回増幅後のピーク値は 600bp, 2 回増幅では 450bp と低下が見られた。

D. 考察

マイクロダイセクションの過程においては、まず薄切という過程で RNA の分解が起こっていること、そしてその後のステップにおいては染色過程で切片が水相の中にいる時間が RNA の分解を最も進めているであろうことが示唆された。

RNA 増幅の過程では、最終産物の cRNA

の quality は反応前の RNA の量、と quality に大きく依存することが判明した。また反応産物の収量には反応液の蒸発が非常に大きな影響を及ぼすことが示された。

E. 結論

マイクロダイセクションよりとられた、微量検体からの RNA 増幅過程において、最終産物の量、quality に重量な影響を及ぼす要因がいくつか判明した。そのうちいくつかはコントロール可能なものであり、さらなる改良の糸口となりうる。また増幅過程においては、個々の mRNA がその相対的比率を保ちながら増幅されるか検討することも必要であろう。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

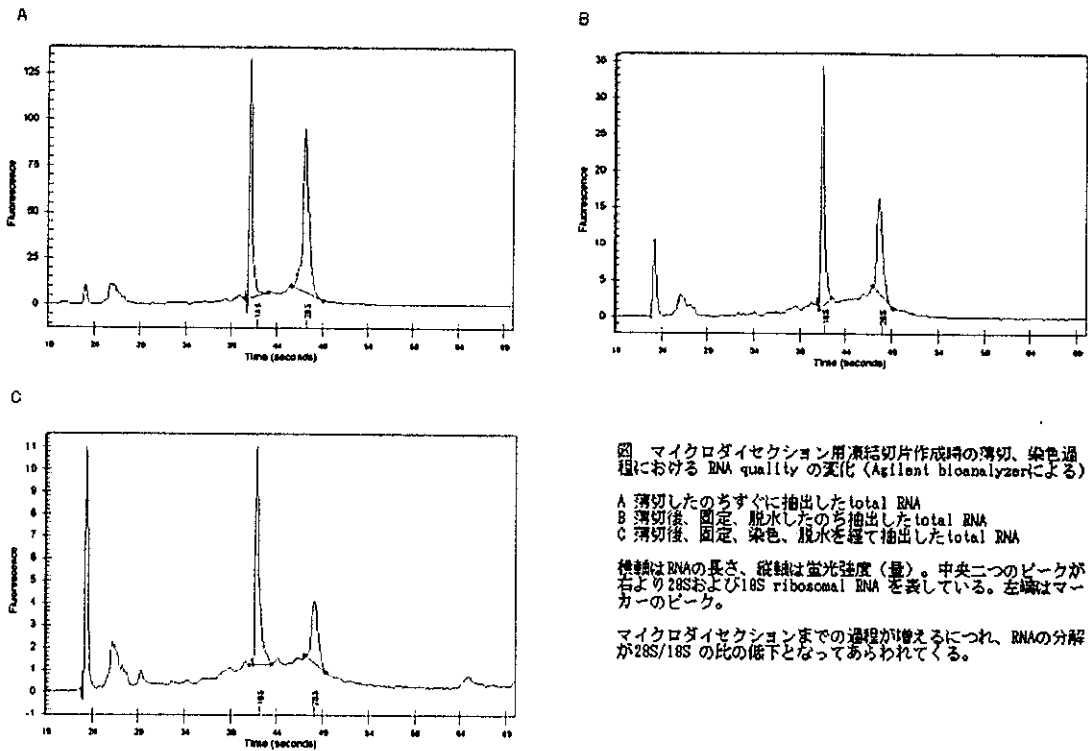


図 1 薄切、染色過程における RNA の品質の変化

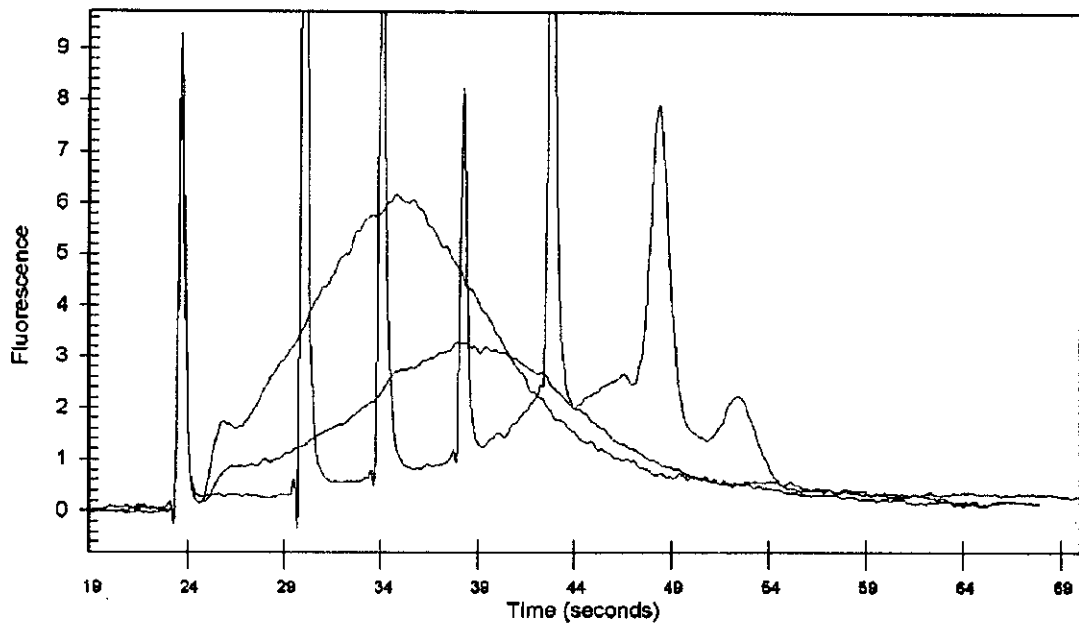


図 2 増幅による cRNA の平均長の変化

発現プロファイルデータベースの構築に関する研究

分担研究者 油谷浩幸 東京大学先端科学技術研究センター助教授

研究要旨 ヒト、マウス、ラットの遺伝子について最新の Unigene 番号への更新や最新のアノテーションの参照ができるような統合データベース化を行い、遺伝子発現データを遺伝子毎に種々の細胞や臓器での発現レベルを一覧できるようなインターフェースを作成した。遺伝子発現プロファイルのデータベースを公開した。

研究協力者

堤 修一 東京大学医学系大学院大学院生

A. 研究目的

膨大な量の遺伝子発現プロファイルのデータを効率的に保存するため、また遺伝子に最新の Unigene 情報などを得るために、統合データベース化を進める。またインターフェースも新たに開発、または既存のソフトウェアを利用し、遺伝子発現データを遺伝子、臓器を検索して一覧表示できるようにする。最終的にはデータ公開用サーバーを準備する。

B. 研究方法

1) データベース

膨大なデータ量が得られる遺伝子発現プロファイリング解析ではデータベース上にデータを保存、取得することが必須となる。第一に Affymetrix 社により提供される LIMS システムに全データを登録し、Sun 社のサーバー (R420) 上に連携データベースを作成した。イントラネットで

はクライアントソフトウェアを利用して、すべてのプロファイルデータを利用できるようにする。時系列データなど、一連にまとまった実験結果についてはセットとして一覧できるよう改良する。

2) 発現プロファイルデータの拡充

第3年度においても引き続き発現プロファイルデータの充実を行った。ヒトについては、FL アレイあるいは U95A アレイを使用した。前者では約 5,600、後者では約 12,000 の遺伝子の解析が可能である。マウスについては U74A、ラットは U34A アレイを用いて、それぞれ 12,000、8,000 遺伝子の解析を行った。

3) 遺伝子発現プロファイルデータ公開用サーバー

GeneChip は単一の組織の遺伝子発現量に相当する値が得られるため、データの互換性がある。全てのアレイデータの中でコントロールデータなど一部のデータについては公共に公開することでデータを他の施設と共有できるため、研究の発展に有用と考えられる。

C. 研究結果

1) データベース

任意の実験と遺伝子の組み合わせについて、実験データを呼び出すことができ、発現量による並び替え(ソート)、カラー表示、他の解析ソフトへのデータ書き出しが可能であるインターフェース(BioPump®)を既に開発し、利用している。遺伝子データベースからアレイ上に存在する EST 等をもとにしたプローブに対する情報も連結して保存されているため、特定のキーワードにより関連する遺伝子のプローブを検索も可能となっている。加えて、注目している遺伝子セットを保存、読み込みできるよう改良した。

cDNAマイクロアレイデータの保管には三井情報開発(株)らと共同で開発しているシステム(GenomicProfiler®)を用いた。

まとまった一連の遺伝子発現プロファイルデータの表示、および解析結果の表示にはSilicon Genetics社のGeNet™をベースとして公開用のシステムを構築した。

2) 発現プロファイルデータの拡充

新たに解析を行った試料は別表の通りであり、プロファイリングを行い、データベース化を進めた。

3) 遺伝子発現プロファイルデータ公開用サーバー

研究者あるいは臨床家にも理解しやすい形でデータを閲覧できるサーバーの準備を継続して進めた。公開サーバーについては、Web ベースでアクセスしてデータが得られるようにした。

公開データは表示方法を2つに分けて表示できるようにした。指定した遺伝子についての臓器あるいは細胞別の発現プロファイルデータが得られ

るシステムと、一連の基本的解析結果を表示できるシステムの構築を行った。前者は

<http://www2.genome.rcast.u-tokyo.ac.jp/dgenom/>にてデータ公開を開始している。また後者は<http://157.82.78.239/>にて公開中である。

D. 考察

大量の発現プロファイルデータを高速に処理するためには、情報管理システム(Laboratory Information Management System, LIMS)が必要である。Affymetrix 社より LIMS が提供されているが、WindowsNT マシンをベースとした管理システムであり、高速検索には不向きであり、カスタマイズができないため、新たに Oracle と SUN 社のサーバー機を用いてメインサーバーとした。LIMS に保管されたデータに最新の Unigene 情報を付加したデータベースが稼動し、BioPump を利用してデータファイルを抽出することができる。これらのデータは様々なツールにより解析されるのが通常の処理過程であり、かつその結果も GeNet ベースのサーバーへ蓄積されることとなり、共用が可能である。

GeneChip のプローブは特定のバージョンの Unigene 番号に基づいてデザインされているが、Genbank データの更新に伴って Unigene 番号も変更されることが頻繁に行われる。また、デザイン当時は EST であった配列についてもゲノム情報の充実に伴い、遺伝子配列が決定されつつある。そこで、個々の遺伝子に関する情報の更新も必須である。デザインに用いられた Genbank の配列に対して自動的に最新の Unigene 番号を付け替えるツールも開発した。これらのデータについては発現データベースとリレーションを組んで

いる。研究室内でのデータ共有システムとして、多くの者が簡便にデータ検索や取得が行えることは労力の軽減の効果は大きいと考えられる。またデータが紛失する危険性を少なくすることができる。加えて、互換性があり、利用しやすい GeneChip 法の結果が公開されていることは、他の多くの研究室にとって利益となると考えられる。

E. 結論

大量な発現プロファイルデータについての保管及び検索システムを構築した。また、遺伝子発現プロファイルおよび解析結果の公開を行った。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

1) 第 60 回日本癌学会総会 (9/23-26, 横浜)

マイクロアレイ解析による癌の分類においてのデータ処理

11th Genome Informatics Workshop (12/18-19, 恵比寿)

Visualization For Comparison Between Gene Clusters Generated From Different Sources

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

表 データベース中に保存されている組織・細胞株の遺伝子発現プロファイル

| | |
|---|--|
| <p>ヒト GeneChip(Affymerix) HuFL または U95 アレイ</p> | <p>組織(19) 副腎、脳、胃、肝臓、心臓、精巣、マクロファージ、単球、リンパ球 胎児脳、胎児肝臓 骨芽細胞、骨細胞、滑膜細胞、色素細胞、臍帯静脈内皮、冠動脈内皮、冠動脈平滑筋、多核巨細胞</p> <p>細胞株(20) 胃癌由来細胞株(2M) 胃癌細胞株 MKN28 胃癌細胞株 FL18 大腸癌由来細胞株(T84) 大腸がん細胞株(SW480) 大腸がん細胞株(OUMS23) 結膜上皮由来細胞(CCL-20.2) 肝癌細胞株(HepG2) 卵巣がん細胞株(IGROV-1) melanoma 高色素性細胞株(Skmel23) 骨髄性白血病細胞(HL60) 単球由来細胞株(U937) 単球由来細胞株(THP1) Tリンパ腫細胞株(Jurkat) 冠動脈平滑筋由来細胞株(Co2) 神経芽細胞腫由来細胞(SH-SY5Y) 腎臓 mesangium 由来細胞株(HMCAA-1) 腎がん細胞株(RCC23) 膀胱癌細胞株 骨肉腫細胞株(MG63)</p> |
| <p>マウス GeneChip(Affymerix) Mu6500,11k または U74 アレイ</p> | <p>組織(21) 大腸、脳、腎臓、肝臓、骨格筋、心臓、大腿骨、臭球、小脳、海馬、小腸、胸腺、乳腺(未妊娠)、褐色脂肪組織、子宮周囲白色脂肪組織、涙腺、毛根、脾臓、皮膚 大動脈(胎児) 初代培養肝細胞</p> <p>細胞株(12) Mφ細胞(RAW) 3T3-L1 脂肪細胞 神経芽細胞腫由来細胞(HT22) 胃癌細胞株(Dunn) 皮膚がん細胞株 ES細胞 D3(129 strain) 白血病細胞 P19 teratocarcinoma cell 前駆脂肪細胞(10T1/2) 骨髄 Mφ 由来細胞株 胸腺上皮細胞(FTEC) C2C12</p> |

| | |
|------------------------------------|---|
| ラット GeneChip(Affymerix) U34 アレイ | 組織(12) 肝臓、海馬、前頭葉、心臓 脳毛細血管、大動脈、脳 Willis 輪血管、脳くも膜 心臓由来線維芽細胞、肝臓由来細胞、伊東細胞、大動脈培養平滑筋細胞 |
| | 細胞株(2) 神経芽細胞腫由来細胞(PC12) 骨格筋細胞(L6) |

図 Biopump 操作画面

横軸に実験名、縦軸に遺伝子名が並べられている。赤～水色のグラデーションで発現を表現している。遺伝子リストを登録できるなどの改良が施されている。

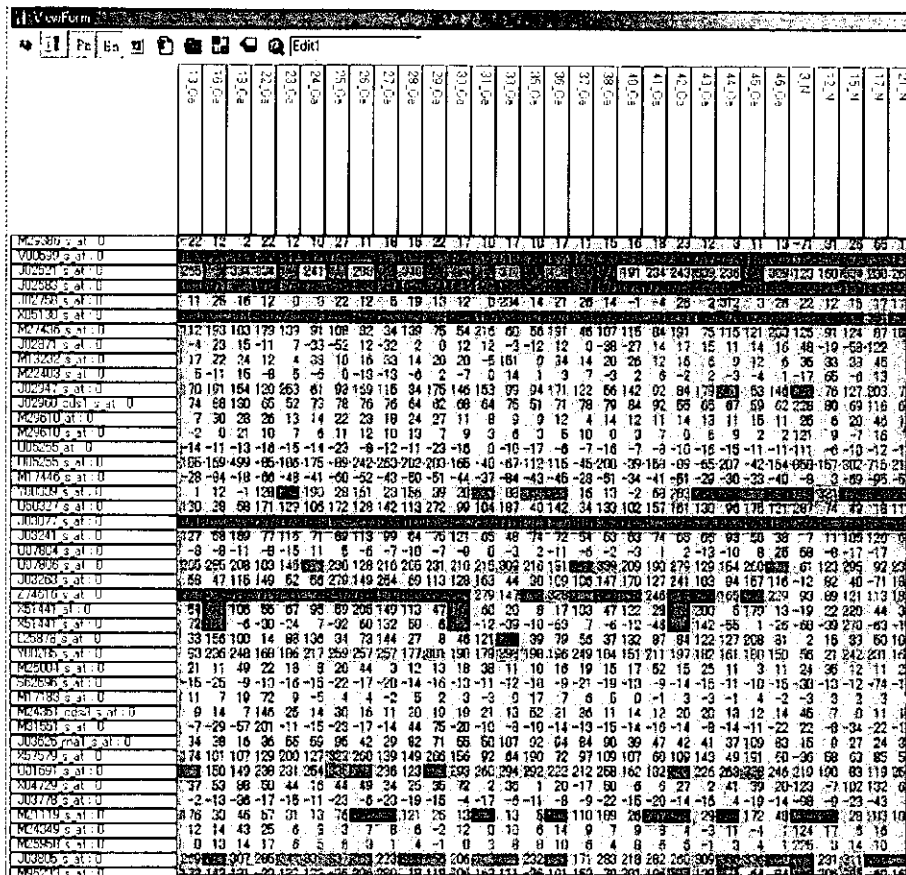
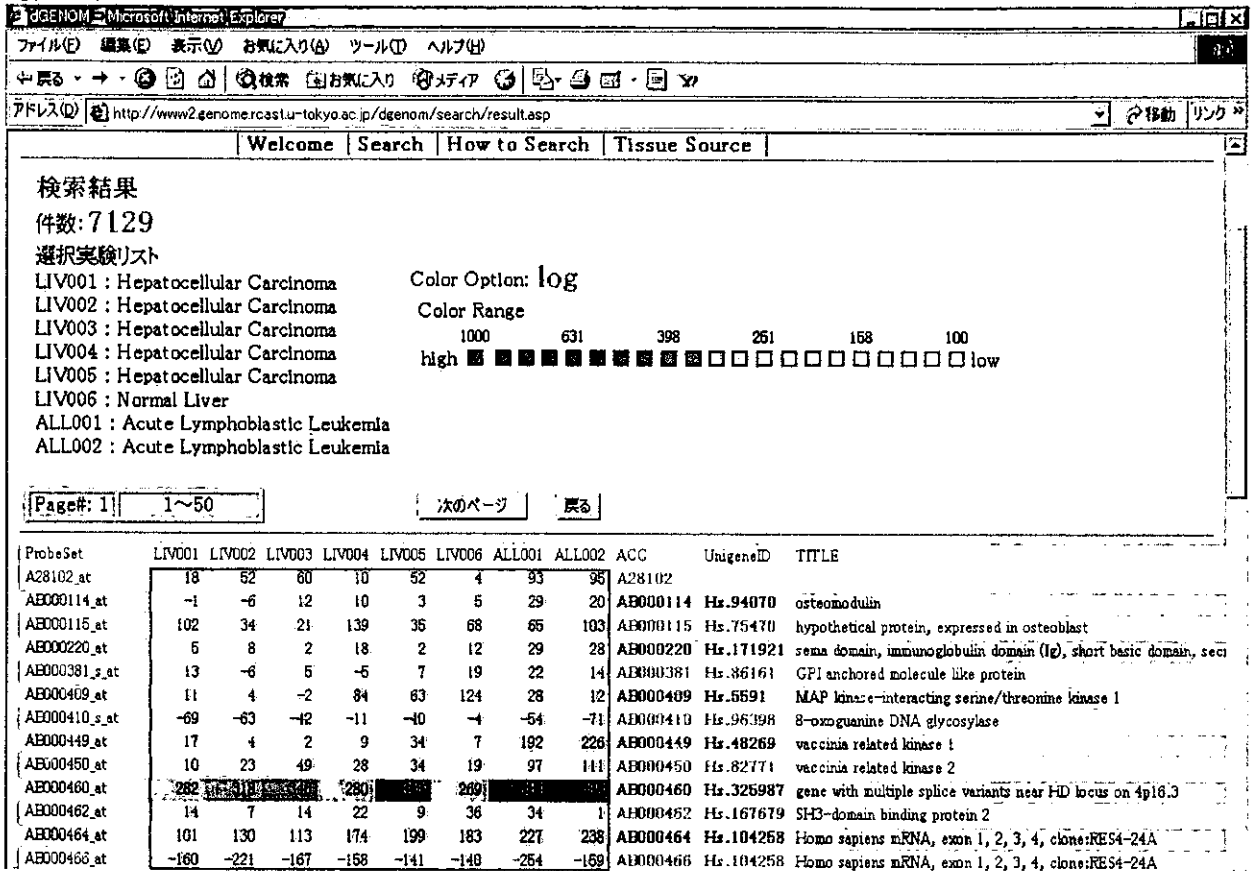
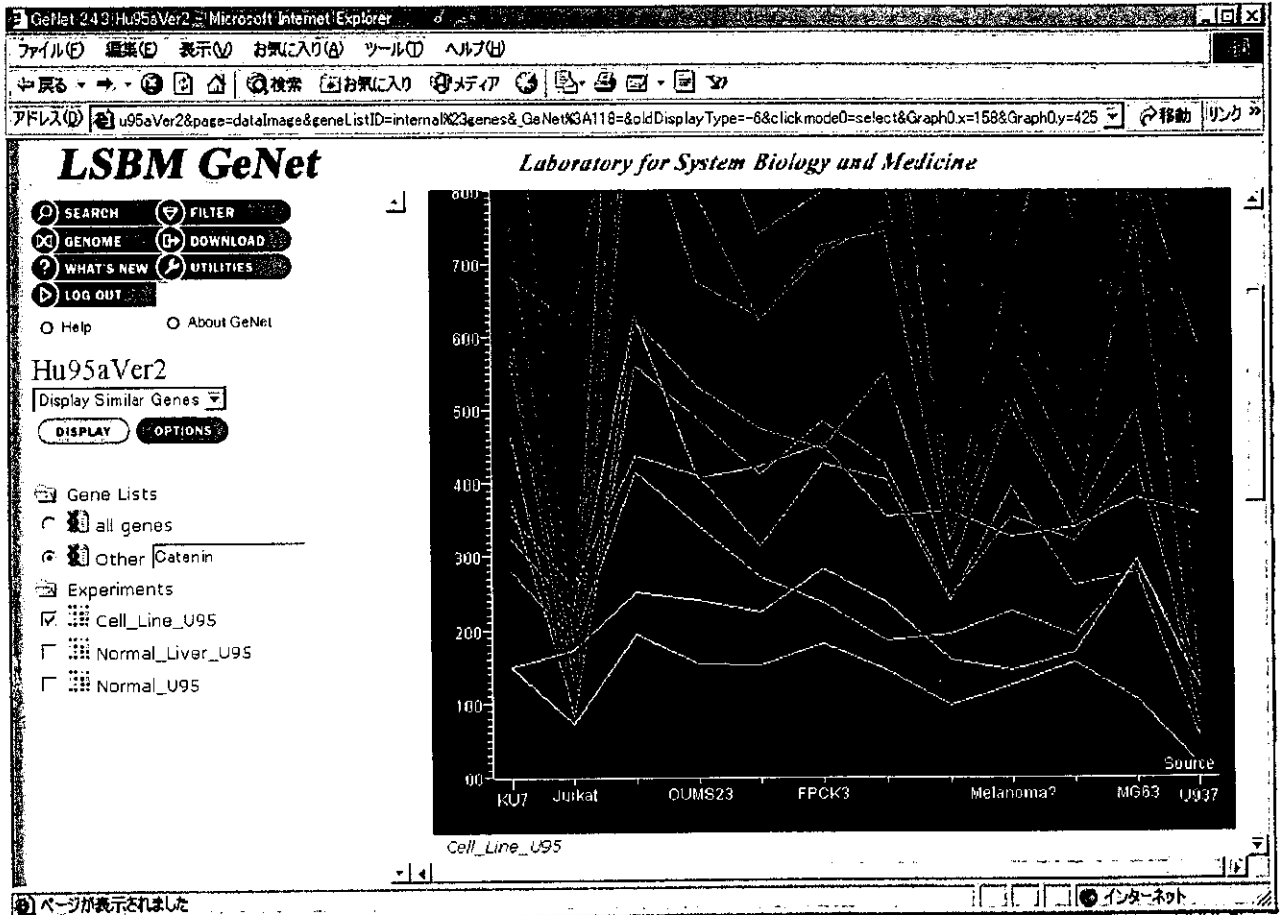


図 遺伝子発現データベース公開画面

1) Web 上で横軸に実験名、縦軸に遺伝子が配置されている。同様に赤～水色のグラデーションと数字で発現値が示されている。



2) GeNet をベースとした遺伝子発現プロファイルの公開。解析結果の表示に適している。



厚生科学研究費補助金（特定疾患対策研究研究事業）

分担研究報告書

ヒト正常臓器の発現プロファイルの比較

分担研究者 油谷浩幸 東京大学先端科学技術研究センター 教授

研究要旨 臨床検体や病態モデル動物の解析においては、罹患した臓器について特定の遺伝子を中心に解析を進めることが多いが、遺伝子の機能を解明していく上では他の臓器における役割も重要である。すなわち、難病の中には全身的に多臓器にまたがる症状を呈する疾患も存在し、よいレファレンスとなるデータベースの拡充が望まれていた。DNA チップ技術によりヒトのほぼ全遺伝子の解析が可能となり、本年度はヒト正常 30 臓器についての 4 万個の遺伝子についてプロファイリングを行い、実験間のデータの標準化に関する検討及びハウスキーピング遺伝子の選択を行った。

研究協力者

堤 修一 東京大学医学系大学院 大学院生
葛 錫金 東京大学人工物センター 博士研究員

正常組織 RNA 試料については手術材料あるいは市販の RNA を用いた。脳神経組織など一部の組織については poly(A)⁺RNA である。トータル RNA については 5 µg、poly(A)⁺RNA については 1 µg を標識反応に用いた。報告の時点では 30 臓器（表 1）の測定が終了しており、引き続き子宮頸部、副腎、骨髄、肺、胎児肝、胎児脳、単球、マクロファージ、血管内皮、平滑筋についても進める予定である。

A. 研究目的

臨床検体や病態モデル動物の解析においては、罹患した臓器について特定の遺伝子を中心に解析を進めることが多いが、遺伝子の機能を解明していく上では他の臓器における役割も重要である。すなわち、難病の中には全身的に多臓器にまたがる症状を呈する疾患も存在し、よいレファレンスとなるデータベースの拡充を目指す。

遺伝子発現プロファイルの取得には Affymetrix 社の GeneChip Human U133 Array を使用した。U133 アレイは A,B の 2 枚のアレイにヒト遺伝子およそ 40,000 個が載せられたアレイである。

B. 研究方法

1) 解析した臓器

2) データの標準化

データベース化に際して発現プロファイル

データの標準化について検討を行った。類似の発現プロファイルを示す検体間での比較には、チップ全体からのシグナルの総和を一定化することにより標準化した。

C. 研究結果

1) 標準化 ハイブリダイゼーション反応にスパイクしたコントロール遺伝子のシグナル値はほぼ揃っていたが、一部の臓器ではばらつきが生じた (図 1)。類似の臓器間では全体のシグナルによる標準化でよいと考えられるが、異なる臓器間のデータの標準化は今後の課題である。

2) 臓器別データの解析

臓器の発現プロファイルによる類似性 (図 2) 29 臓器について発現プロファイルに基づいてクラスタ解析を行った。なお、アレイ毎に標準化を行った。脳神経系の組織はタイトなクラスタを形成し、精巣と近い関係にあった。

臓器に特異的な遺伝子 (表 2) 組織特異的 (tissue-specific) 遺伝子は Microarray Suite ソフトウェアによって一つの臓器でのみ “Present call”、他の臓器では “Absent call” である遺伝子を集計した。組織選択的 (tissue-selective) 遺伝子は遺伝子発現量 (signal 値) が全臓器の平均に比較して 4 S.D. 以上高い遺伝子を集計した。皮膚、肝臓、精巣、胎盤には特異的発現を示す遺伝子数が多いことが認められた。

housekeeping 遺伝子 (表 3) 29 臓器間で発現量の C.V. 値が低い遺伝子を抽出した。従来よく使われる β actin 遺伝子や G3PDH 遺伝子

についてはある程度組織間での発現量にばらつきがあることが示され、今後のアレイデータの標準化には新たに選択された遺伝子群が有用であることと思われる。

D. 考察

個々のサンプルの遺伝子発現データには、生体の個体差や生体内の状況から、いくつかの遺伝子の発現において変動が存在する。コントロールとしての正常組織においても同様である。個々の遺伝子発現プロファイルの差異を検索することも重要であるが、ある組織、群毎に共通して上昇または低下して発現量が異なっている遺伝子を効率よく検索することもまた重要である。

アレイ間の標準化は大きな課題であるが、スパイクしたシグナルは一部の臓器を除いては安定しており、標準化の目安になると考えられた。スパイクコントロール遺伝子のシグナルが高値となった臓器についてはいくつかの遺伝子の RNA の絶対量を測定することにより、実験による誤差であるのか組織の RNA 量によるのかが判明すると期待される。また、従来使われている β actin 遺伝子や G3PDH 遺伝子などのコントロール遺伝子よりもばらつきが少ない遺伝子が選び出されたので、今後のアレイ解析に用いてさらに検討を加える予定である。

E. 結論

29 臓器について 40000 遺伝子の発現プロファイルデータを取得し、従来の β actin 遺伝子や G3PDH 遺伝子よりも発現量に変動が

少ない「ハウスキーピング」遺伝子を同定した。

F. 健康危険情報
なし

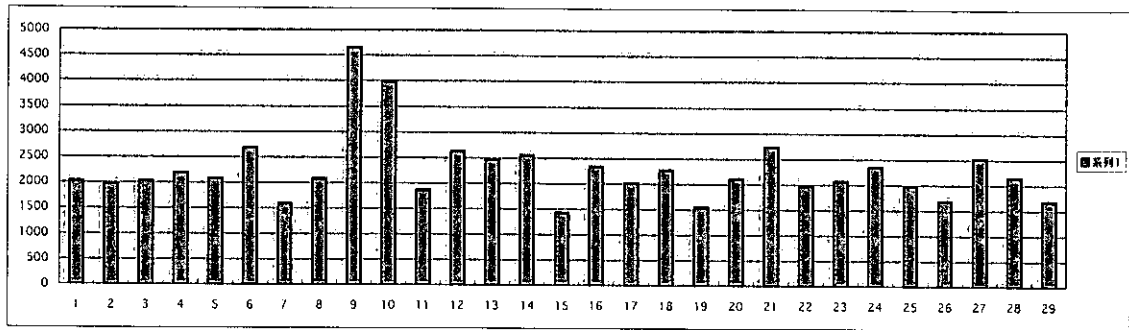
G. 研究発表

1. 論文発表
なし

2. 学会発表
なし

H. 知的財産権の出願・登録状況
なし

図1 スパイク遺伝子 (AFFX-CreX-5_at) のシグナル



検体番号は表2に準じる。9: salivary gland 10: thymus においては値が高い以外はおよそ安定している。

図2 組織の発現プロファイルによるクラスタリング

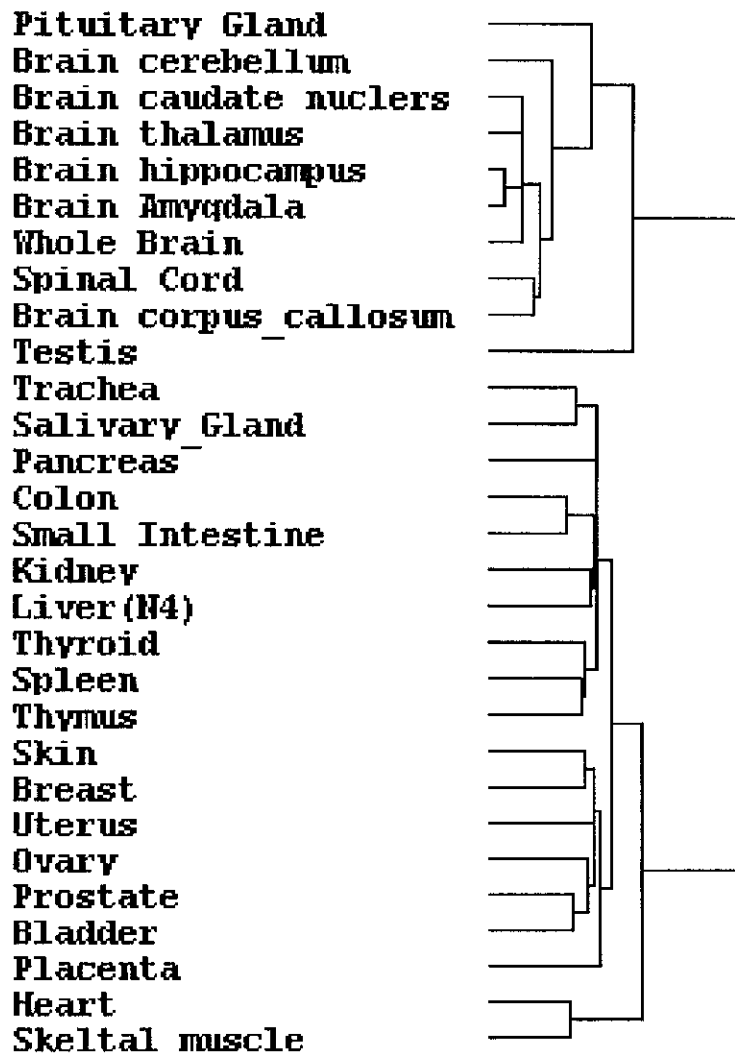


表1 発現プロファイルを解析した臓器

| 臓器名 | RNAの種類 | |
|-------------------|-----------|-------------------|
| Heart | Total RNA | Ambion7966 |
| Thymus | Total RNA | Ambion 7964 |
| Spleen | Total RNA | Ambion 7970 |
| Ovary | Total RNA | Ambion 7974 |
| Kidney | Total RNA | Ambion 7976 |
| Skeltal Muscle | Total RNA | Ambion 7982 |
| Pancreas | Total RNA | Ambion 7954 |
| Prostate | Total RNA | Ambion 7988 |
| Small Instesine | Total RNA | Ambion 7984 |
| Colon | Total RNA | Ambion 7986 |
| Placenta | Total RNA | Ambion 7950 |
| Bladder | Total RNA | Ambion 7990 |
| Breast | Total RNA | Stratogene 735044 |
| Uterus | Total RNA | Stratogene 735042 |
| Thyroid | Total RNA | Stratogene 735040 |
| Skin | Total RNA | Stratogene 735031 |
| Salivary gland | Total RNA | Clontech 64026-1 |
| Trachea | Total RNA | Clontech 64091-1 |
| Brain, Cerebellum | Total RNA | Clontech 64035-1 |
| Brain, Whole | Total RNA | Clontech 64020-1 |
| Testis | Total RNA | Clontech64027-1 |
| Liver | Total RNA | 手術材料 |
| Stomach | Total RNA | 手術材料 |
| amygdala | PolyA RNA | Clontech 6574-1 |
| caudate | PolyA RNA | Clontech 6575-1 |
| corpus callosum | PolyA RNA | Clontech 6577-1 |
| hippocampus | PolyA RNA | Clontech 6578-1 |
| thalamus | PolyA RNA | Clontech 6582-1 |
| pituitary gland | PolyA RNA | Clontech 6584-1 |
| spinal cord | PolyA RNA | Clontech 6593-1 |

表2 組織特異的遺伝子

| | Tissue | Tissue-specific | Tissue-selective |
|----|-----------------------|-----------------|------------------|
| 1 | Whole_Brain | 169 | 890 |
| 2 | Brain_Amygdala | 0 | 53 |
| 3 | Brain_caudate_nuclers | 2 | 87 |
| 4 | Brain_corpus_callosum | 1 | 163 |
| 5 | Brain_hippocampus | 1 | 67 |
| 6 | Brain_cerebellum | 22 | 431 |
| 7 | Brain_thalamus | 2 | 66 |
| 8 | Pituitary_Gland | 17 | 212 |
| 9 | Salivary_Gland | 4 | 340 |
| 10 | Thymus | 18 | 282 |
| 11 | Thyroid | 11 | 168 |
| 12 | Trachea | 11 | 84 |
| 13 | Breast | 6 | 69 |
| 14 | Skin | 46 | 219 |
| 15 | Spinal_Cord | 2 | 57 |
| 16 | Skeltal_muscle | 13 | 608 |
| 17 | Heart | 5 | 271 |
| 18 | Liver(N4) | 75 | 624 |
| 19 | Spleen | 19 | 332 |
| 20 | Kidney | 9 | 147 |
| 21 | Pancreas | 13 | 211 |
| 22 | Small_Intestine | 19 | 227 |
| 23 | Colon | 9 | 112 |
| 24 | Bladder | 4 | 91 |
| 25 | Prostate | 4 | 42 |
| 26 | Testis | 175 | 987 |
| 27 | Ovary | 2 | 138 |
| 28 | Placenta | 35 | 329 |
| 29 | Uterus | 3 | 70 |

表3 housekeeping 遺伝子

| Probe_Set | UG_Title | UG_Symbol | Mean | SD | CV |
|-------------|--|-----------|-------|-------|--------------|
| 229356_x_at | hypothetical protein KIAA1259 | KIAA1259 | 625 | 72.1 | 0.115 |
| 200630_x_at | SET translocation (myeloid leukemia-associated) | SET | 644 | 97.0 | 0.151 |
| 200870_at | unr-interacting protein | UNRIP | 634 | 99.6 | 0.157 |
| 200007_at | signal recognition particle 14kD (homologous Alu RNA binding protein) | SRP14 | 1,045 | 172.9 | 0.165 |
| 201273_s_at | signal recognition particle 9kD | SRP9 | 819 | 137.8 | 0.168 |
| 56197_at | phospholipid scramblase 3 | PLSCR3 | 570 | 96.6 | 0.170 |
| 200097_s_at | heterogeneous nuclear ribonucleoprotein K | HNRPK | 531 | 94.5 | 0.178 |
| 208780_x_at | VAMP (vesicle-associated membrane protein)-associated protein A (33kD) | VAPA | 930 | 184.5 | 0.198 |
| 208781_x_at | sorting nexin 3 | SNX3 | 742 | 150.8 | 0.203 |
| 214288_s_at | proteasome (prosome, macropain) subunit, beta type, 1 | PSMB1 | 859 | 178.3 | 0.208 |
| 200627_at | inactive progesterone receptor, 23 kD | P23 | 719 | 150.7 | 0.209 |
| 208684_at | coatamer protein complex, subunit alpha | COPA | 509 | 109.2 | 0.215 |