

cDNA 4933433D23 gene (NM 026232), Adenylate kinase 4 (NM 009647), Neuregulin 4 (NM 032002), Dopachrome tautomerase (NM 010024), X-linked lymphocyte-regulated 3b (NM 011727), Cytokine inducible SH2-containing protein (NM 009895)などの遺伝子の発現変動量が大きかった。これらのおおくは金属結合蛋白の遺伝子や障害蛋白認識・除去にかかわる蛋白の遺伝子であった。

1-III-2 染色体毎の解析

Aldh2^{+/+}と *Aldh2*^{-/-}の遺伝的背景の差は、遺伝子改変マウス作成の手順により 129 系統由来の染色体が *Aldh2* 遺伝子の存在する第 5 番染色体 (Fig 1-III-2-1) では相同組み換えによる入れ替えしか生じないために一番多く存在し、X 染色体 (Fig 1-III-2-2) では完全に C57BL/6 系統由来の染色体に組み変わっているため遺伝的背景の差がないと考えられる。遺伝子発現の変化のベクトルの方向性にいずれかの染色体 (Fig 1-III-2-1~21) において、特定の傾向が強く観察されることは無かった。

1-III-3 機能別の解析

一連の機能的遺伝子群全体として遺伝子発現に変化を生じていないか確認するために機能別の遺伝子発現変化を以下に項目について解析した。アセトアルデヒド毒性による反応を確認するために Apoptosis に関与する遺伝子 (Fig および Table1-III-3-1)、DNA Damage Signaling に関与する遺伝子 (Fig および Table1-III-3-2)、Cell Cycle に関与する遺伝子 (Fig および Table1-III-3-3)、Stress Response および Cell Damage に関与する遺伝子 (Fig および Table1-III-3-4)、Stress、および薬物代謝に関与する遺伝子 (Fig および Table1-III-3-5)、Drug Metabolism に関与する遺伝子 (Fig および Table1-III-3-6) に関し検討した。アセトアルデヒドによる毒性が細胞表面蛋白を傷害する可能性があるため、Extracellular Matrix および Adhesion 関連遺伝子 (Fig および Table1-III-3-7)、Toll-Like Receptor Signaling Pathway 関連遺伝子 (Fig および Table1-III-3-8)、Endothelial Cell 関連遺伝子 (Fig および Table1-III-3-9) に関して検討した。アセトアルデヒドによる肝障害の機序として炎症細胞浸潤が観察されたので、Common cytokine 遺伝子 (Fig および Table1-III-3-10)、Inflammatory Cytokines & Receptors 遺伝子 (Fig および Table1-III-3-11)、Th1-Th2-Th3 関連遺伝子 (Fig および Table1-III-3-12) に関して検討した。さらに *Aldh2* 活性を失活していることで Dehydrogenase 酵素遺伝子 (Fig および Table1-III-3-13) が代償的に発現変化を生じていないか検討した。おおきな発現変動を Methallothionein 1 Ubiquitin C で認めたので一連の機能として大きな発現変動がないか Metal Transport と Homeostasis に関連する遺伝子 (Fig および Table1-III-3-14)、Ubiquitin 関連遺伝子 (Fig および Table1-III-3-15) に関して検討した。さらにヒト疫学調査において *Aldh2* 遺伝子型で罹患率の異なる可能性のある疾患に関与する遺伝子群、CardioVacularDisease に関連する Biomarker 遺伝子 (Fig および Table1-III-3-16)、Diabetes に関連する遺伝子 (Fig および Table1-III-3-17) に関し検討を行った。特定の機能的遺伝子群で全体に大きな発現変動を生じているものは見い出されなかった。

1-IV 考察

1-IV-1 大きな発現変動が観察された遺伝子

アセトアルデヒド曝露の結果、ALDH2 活性によらず共通して生じる遺伝子発現の変化を、脂質代謝、第 2 相薬物代謝にかかわる遺伝子およびホルモン・ミネラル結合蛋白の遺伝子の一部に認めた。

ALDH2 活性の有無によりアセトアルデヒド曝露の結果、遺伝子発現に差を生じる遺伝子として、金属結合蛋白の遺伝子および障害蛋白認識・除去にかかわる蛋白の遺伝子の一部が認められた。これらの遺伝子はアセトアルデヒド以外の化学物質曝露における毒性発現の機序に関与しているため、アセトアルデヒド曝露の感受性の相違を生じる機序に関与している可能性がある。また、昨年度の実験結果より 500ppm 曝露における血中アセトアルデヒド濃度の差は 5 倍以下であった。これに対して一部の遺伝子の発現量は 5 から 10 倍以上の差を示しており、血中アセトアルデヒド濃度の測定よりも鋭敏な健康影響のバイオマーカーとして使用できる可能性がある。

1-IV-2 *Aldh2*^{+/+}と *Aldh2*^{-/-}の遺伝的背景の違い

Aldh2^{+/+}と *Aldh2*^{-/-}の遺伝的背景は組み替えを実施した第 5 番染色体に多く残存し、X 染色体では遺伝的背景の差はないと考えられる。染色体別に解析を行った結果、アセトアルデヒド曝露により *Aldh2*^{+/+}と *Aldh2*^{-/-}間で発現量が異なる遺伝子は、第 5 番染色体に集中してはならず、今回の結果は遺伝的背景によるものは考えにくい。

1-IV-2-1 戻し交配を実施しても標的遺伝子の存在する染色体には残存遺伝子が存在する

マウス染色体上に存在する機能遺伝子は約 3 万と考えられる。使用したマウスは 11 代~12 代の戻し交配を実施しているので遺伝子残存率は単純計算すると $(1/2)^{11\sim 12}$ なので 0.05%~0.02%の遺伝子の残存が存在すると考えられる。すなわち、11~12 代の戻し交配で残存している遺伝子の差異は 7~15 個と考えられる。

しかし遺伝子は染色体構造上に存在する。遺伝子改変した遺伝子の存在する染色体を除く全ての染色体は 11 代~12 代の戻し交配で C57BL/6 となっていると考えられる (Fig1-IV-2-1)。Aldh2 遺伝子の遺伝子改変は、129P2 系統マウスの EC 細胞に遺伝子組み換えを行い、C57BL/6 とキメラ化、戻し交配を実施している。Aldh2 遺伝子は第 5 番染色体の 65.0cM に位置しているため、この前後で相同組み換えが生じないと染色体は C57BL/6 系統由来のものに組みかわらない (Fig1-IV-2-2)。C57BL/6 マウスへの均一化は第 5 番染色体に関しても、ある程度の期待はできると考えられる。しかしそれでも対象となった Aldh2 遺伝子の特に近傍の遺伝子は相同組み換えを被る確率は非常に低いと考えられる。では 11 回の戻し交配で Aldh2 遺伝子組み換えマウスは何遺伝子くらいが、129P2 系統の染色体を残存しているのだろうか。Aldh2 遺伝子より 1cM の距離で相同組み換えが起こる確率は 11 回の戻し交配で 19.83%、10cM の距離では 90.15%である。20~25cM 以下で 1cM は物理距離 1000kbp にほぼ等しく、Aldh2 遺伝子 1000kbp 以内に存在する遺伝子数は 21 あり。従って 210 遺伝子異なる可能性が 90%、21 遺伝子しか異なる可

能性は 20%と推算される。さらに計算すると、95%の確率で 12.7cM---266 遺伝子、99%の確率で 18.9cM---387 遺伝子、99.9%の確率で 26.9cM---566 遺伝子が 129 系統由来の染色体であると推定される。つまり、おおよそ 300~600 遺伝子（第 5 番染色体の 20%程度）にわたって 129P2 系統由来の染色体を第 5 番染色体に残存していると考えられ、第 5 番染色体は全遺伝子の約 5%が存在するので約 1%の遺伝子が 129 系統の染色体由来と考えられる。

1・IV・2-2 残存遺伝子が存在すれば、遺伝子改変の影響だけでなく遺伝背景の違いも観測される
従って 129P2 系統と C57BL/6 系統間で遺伝子発現量が異なってくる allele や、遺伝子発現に重要な働きを行っている転写因子等の機能的 allele が第 5 染色体上の *Aldh2* 遺伝子の近傍に存在しているとき、これらによる遺伝子発現量の差は *Aldh2* 遺伝子型に連鎖した形で残存していると考えられる。つまり、単純に発現遺伝子の比較を行っただけでは、*Aldh2* 酵素活性欠損の効果のほかに、第 5 染色体に残存している 129P2 系統の遺伝的背景による違いも観測し、これらは区別ができない。

1・IV・2-3 標的遺伝子の機能に関与する機能的負荷は、残存遺伝子のフィルターとなる

マウスの全遺伝子数は 3~5 万程度と考えられる。アセトアルデヒド曝露により発現に影響を受ける遺伝子は、今回の実験より多くても約 1 割と推定された。また今回の cDNA Array で解析対象となった遺伝子は約 4500 であるので、アセトアルデヒド曝露に影響される第 5 番染色体の遺伝子数は 3~6 個程度と考えられる。遺伝的背景が異なり発現差を観測されるのをこのうち 1 割と考えると、0.3~0.6 個程度の遺伝子に関して遺伝的背景の違いを *Aldh2* 遺伝子型による影響として観測してしまう可能性がある。しかし、今回の解析で候補に挙げた遺伝子は、

- (1) *Aldh2* 遺伝子の存在する第 5 番染色体には位置していないもの。
- (2) 一連の機能遺伝子の family で発現変動を伴っているもの。

がほとんどであり、*Aldh2* 遺伝子近傍に転写調節に影響を与え、かつ 129 系統と C57BL/6 系統で遺伝子多型が報告されている遺伝子はない。したがって、*Aldh2* 遺伝子型による機能的差異をアセトアルデヒド曝露により篩い分けできていると考えられる。

1・IV・3 解析方法に関して

1・IV・3-1 時間軸が 2 点しかないこと

本研究の目的は有効な影響のバイオマーカー候補遺伝子を検索、アセトアルデヒド曝露により毒性の差を生じる機序の検索が目的である。そのため、高濃度曝露、急性影響は検討せずアセトアルデヒド 2 週間吸入曝露の影響を検討した。時間軸を 2 点しかとっていないので、毒性影響の初期の影響は検討対象外である。

1・IV・3-2 発現量変化がわずかな時間（1 時間以内）の差で生じる遺伝子発現変化を、試料の採取（屠殺にいたるまでの時間から切除肝の凍結保存）による実験誤差の結果、*Aldh2*^{+/+}と *Aldh2*^{-/-}

の遺伝子発現量の違いとして誤って捕らえてしまう可能性は無いのか？

実験誤差による遺伝子発現量の差異を、*Aldh2*^{+/+}と *Aldh2*^{-/-}の遺伝子発現量の違いとして捕らえている可能性は存在する。これは試料の採取方法の検討、解析回数の増加で解析上防止でき、さらにさまざまな遺伝子発現量を検討した論文の文献的に検討することにより凡そ予測がつく。一般に転写因子等の核内タンパク質遺伝子(*fos*,*jun*,*myc* など)や Heat Shock たんぱく質遺伝子などの発現量はわずかの時間で変動するといわれている。今回の解析で抽出された遺伝子は、このような急性の発現変動が報告されている以外のものが多く、試料の採取を由来とした実験誤差のみを捕らえている可能性は小さいと考えられる。

1-IV-3-3 クラスタリングや主成分分析などの手法を用いず解析は実施できるのか？

目的および実験条件が適切であれば、相違点は解析手法の違いだけであり問題ないと考える。

クラスタリングおよび主成分分析は、DNA Microarray の解析において隠れた因果関係や相互関係を見出すために用いられる。クラスタリングは複数の実験を元に、発現量変化をパターン分類し解析する手法である。主成分分析は複数の実験結果から得られた発現量変化を多変量データの持つ情報とみなし、これらを合成関数で表現できる群に分けられると仮定し、少数個の総合特性値に要約する手法である。いずれも恣意的抽出法を極力排除し数学的に相互関係を抽出・篩い分けしようとする手法であるが、どの程度のグループ分けを選択するかの妥当性および合理性は解析後に検討し、実験系あるいは遺伝子の機能による分類によるところが大きい。

これに対して本解析方法は Direct Comparison (直接比較) 法に分類される手法である。本解析では遺伝子型による影響および曝露による影響を軸とし、発現量変化をベクトル表現することにより、ベクトルの方向および大きさでグループ分けおよび篩い分けを予め規定している。また、本実験は *Aldh2* 遺伝子型により影響を受けた遺伝子の発現変化の比較を、*Aldh2* が主に代謝するアセトアルデヒドを吸入曝露することにより、*Aldh2* 活性を失った影響による遺伝子の発現変化としてより増幅して観測していると考えられ、実験条件がすでに有効な篩い分け機として機能していると考えられる。これらの特徴により実験結果はクラスタリングや主成分分析に比して解釈しやすい結果となっていると考える。

1-IV-3-4 解析方法 (Oligo DNA Microarray の使用ではないこと、対象遺伝子数が少ないこと) に関して

今回は検討遺伝子数約 4500 の cDNA Microarray を用いた。cDNA Microarray よりも、対象遺伝子数が出来るかぎり多い OligoDNA Microarray を使用したほうが、実験誤差が小さくかつ検索漏れも少ないことが報告されており、OligoDNA Microarray のほうが信頼性が高い。しかし本研究では、これは目的のための本質的問題ではなく技術的問題であると以下 4 点の理由により考え cDNA Microarray を使用した。

- ① 予算的制約がある下での研究なので、安価な cDNA Microarray が現実的であった。
- ② 使用した cDNA Microarray は交差 hybridization が少ない配列が選択されていること、多く

の使用実績のある商品の1つであることから実験結果の信頼性はcDNA arrayの中でも高いと考えた。

- ③ Oligo DNA Microarray は専用の解析ソフトを用いないと解析不可能なものがある。また、対象遺伝子数が増えるほど解析する際の技術的および時間的負担が重くなる。
- ④ バイオマーカー候補の検索に際し、実用化および発展的検討へなど次段階の研究進展には、既知の機能の知られている遺伝子や商業ベースで遺伝子産物の検討が可能なものの方が試料を得やすく、検討し易い。このため遺伝子数を絞ったほうが研究の効率的進展を見込めた。

今後、①複数回実験による再現性の確認、②定量 RTPCR 法による実験結果の確認、③タンパク質や代謝産物レベルでの検討で、候補遺伝子の発現量変化の確認、蛋白レベルでの解明を進めていきたい。

1-IV-4 実験誤差

遺伝子型により発現に差がなければ、アセトアルデヒド非曝露群でも 500ppm 曝露群でも発現量に差はないので、

x 軸 : アセトアルデヒド非曝露群の *Aldh2*^{+/+}と *Aldh2*^{-/-}の発現差

$$\log_2 \frac{x_1}{x_2}$$

y 軸 : アセトアルデヒド 500ppm 曝露群の *Aldh2*^{+/+}と *Aldh2*^{-/-}の発現差

$$\log_2 \frac{y_1}{y_2}$$

とすれば、座標 (0,0) に全ての点は集合するはずである。

この条件でグラフを描く (Fig 1-IV-4)と、今回全座標の平均は((0.029±0.365, 0.043±0.416) (Average±STD))とほぼ(0, 0)に位置しており、原点から離れた点はあまり多くないことがわかる。つまり、多くの遺伝子の発現に関しては、アセトアルデヒド曝露の有無にかかわらず *Aldh2* 遺伝子型による発現量の差は生じていないと考えられ、ばらつき具合が実験の際の発現量観測の誤差の方が大きいと考えられる。誤差の正確な評価は同一実験間のサンプル間での比較だが、観測点が十分多く、アセトアルデヒド曝露の有無により発現量が変化する遺伝子は少数と考えられるた。このため、実際の誤差は本想定よりも小さいと考えられるが、今回の 2 解析結果のばらつきを実験毎の誤差として 1 STD=0.4 とし Scatter Plot 上で準用できる。

Fig. 1-1-1 使用した total RNA の品質

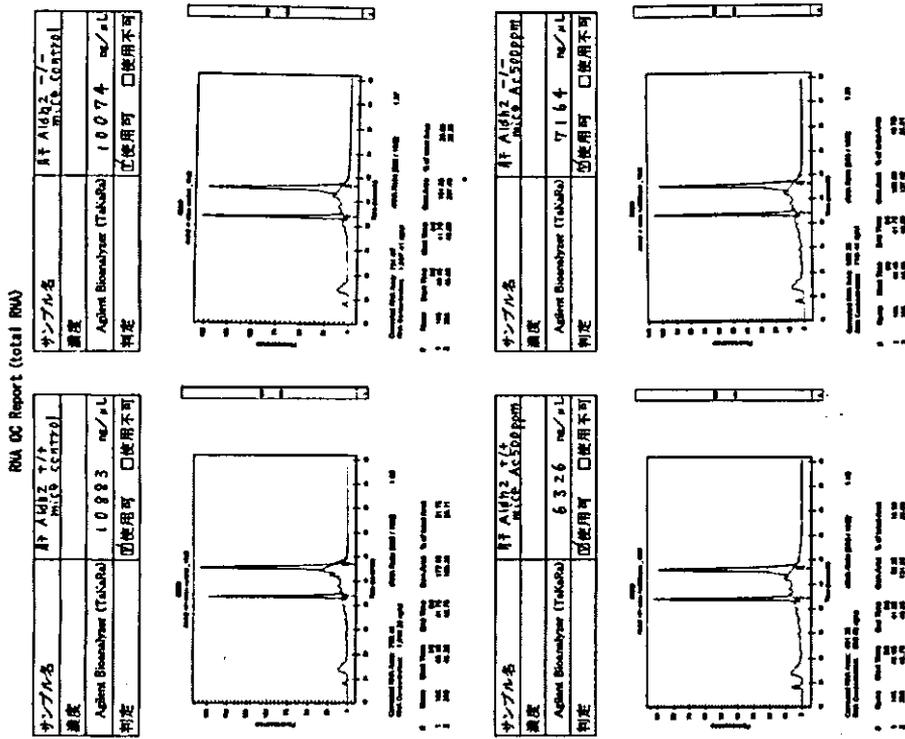
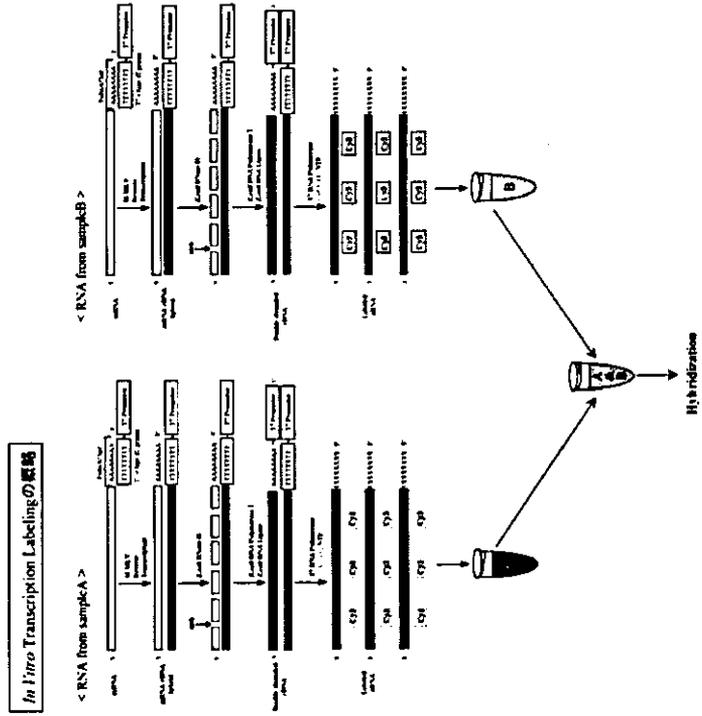


Fig. 1-1-2 実験方法の概略図

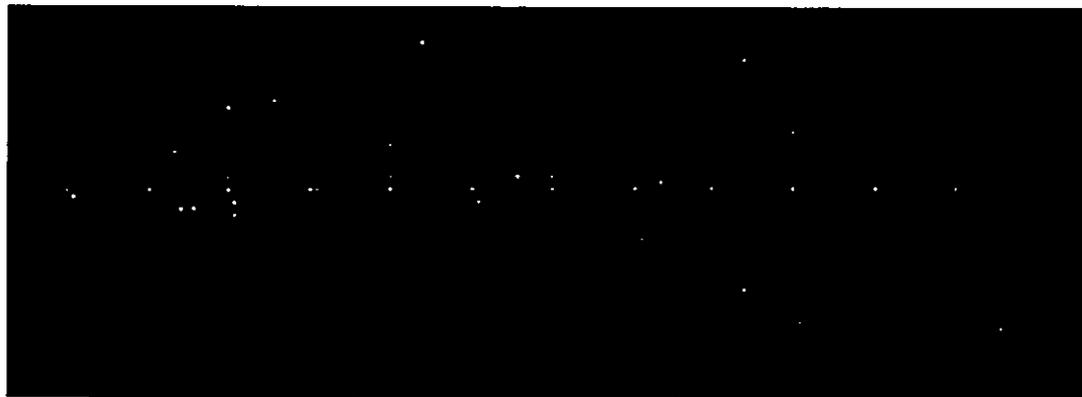


* MAMV逆転写酵素とT7プロモーター配列を持つMycoplasma T7 Δpro dT primerを用いて、1st strand cDNAを合成する。
 * E. coli RNase H で、mRNA-cDNAハイブリッド中のRNA鎖を除去し、2nd strand cDNAを合成する。
 * 合成したT7プロモーター配列を有する二本鎖cDNAを精製し、SITを構築して、in vitro transcription反応においてT7 RNAポリメラーゼを用いて、一本鎖RNAを合成する。
 * cDNAはGTAを合成する。GTAはGTAを合成する。GTAはGTAを合成する。GTAはGTAを合成する。GTAはGTAを合成する。

Fig 1-I-6-1 非曝露群の cDNA Microarray スキャニング画像



Fig 1-I-6-2 500ppm 曝露群の cDNA Microarray スキャニング画像

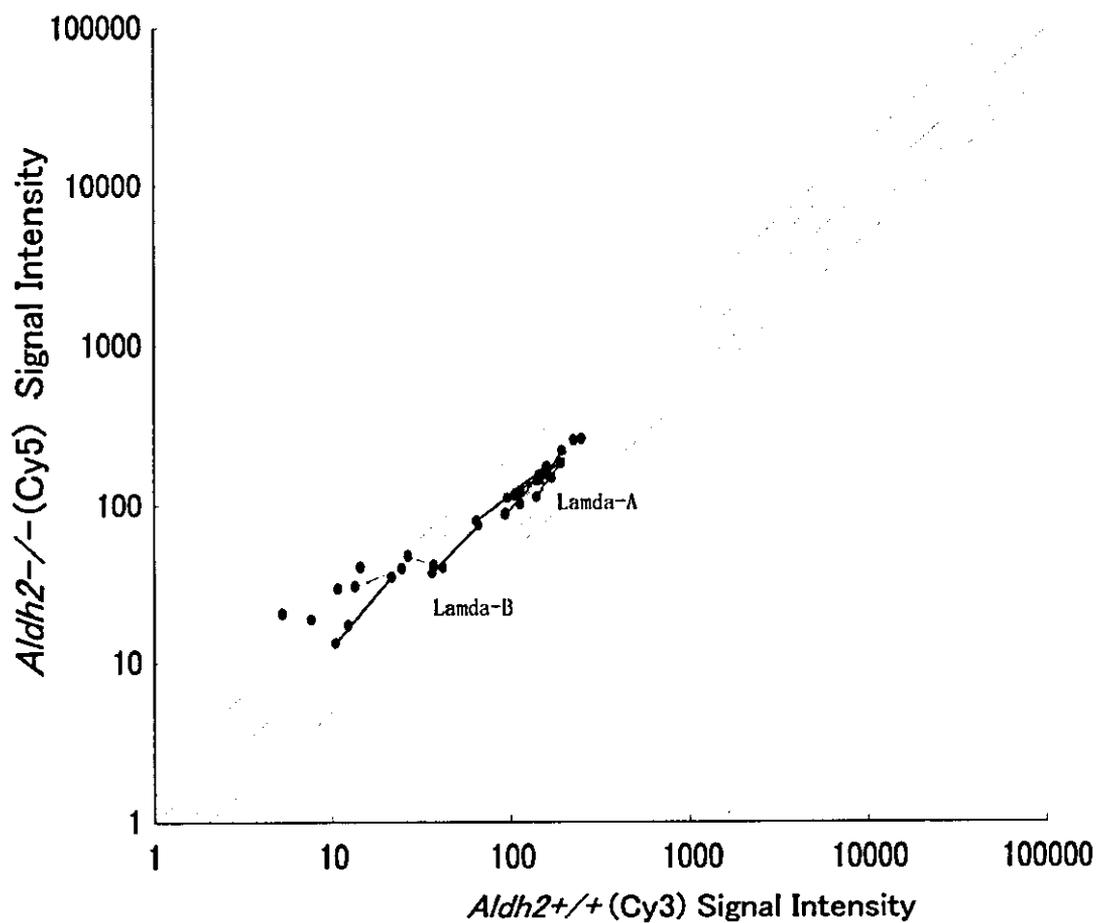


1-II-1-1 External control normalization

External control normalization には Lambda-A および Lambda-B 遺伝子に対する蛍光強度が用いられた。このうち Lambda-A 遺伝子に関しては再現性・蛍光強度もよく標識薬間でも結果が一致していた。しかし Lambda-B 遺伝子に関しては再現性・蛍光強度が悪かったため normalization には用いなかった。

Fig1-II-1

Scatter Plot (direct) Aldh2 genotype 曝露前後比較



1-II-1-2 House keeping normalization

House keeping normalization は GAPDH, rS18, Trfr2, beta-actin, Sds4, HPRT, の 6 種の遺伝子に関しては再現性・蛍光強度もよく標識薬間でも結果が一致していた。しかし monooxygenase, myosin Ib, ornithine decarboxylase, Trfr の 3 種に関しては再現性・蛍光強度は良いが、標識薬間で結果が異なっており Aldh2 遺伝子による影響で発現量が異なっていると考えられた。したがって、House keeping normalization にはこの 6 種類の遺伝子の蛍光強度を用いた。

Fig1-II-2-1 サンプル間および実験間で発現量が異なっていた House keeping gene

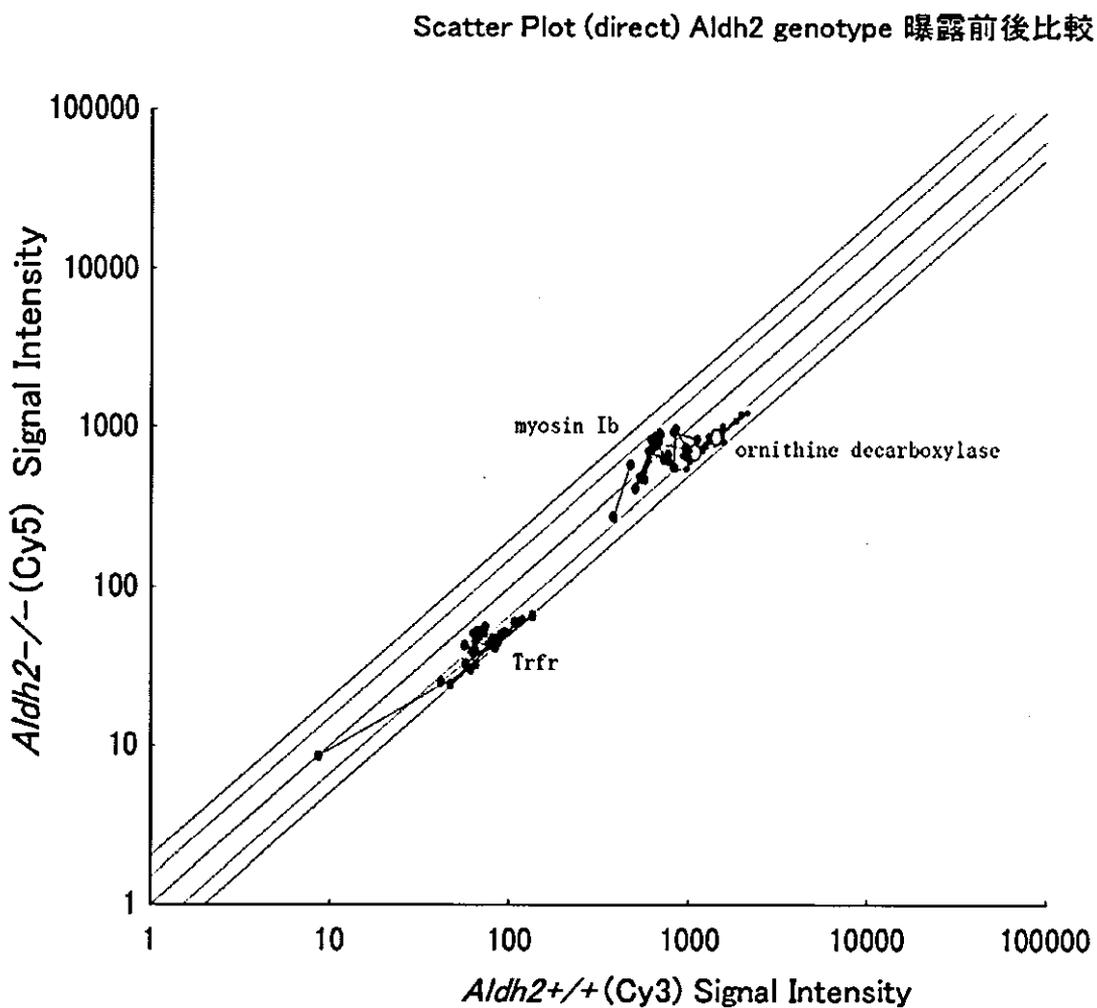
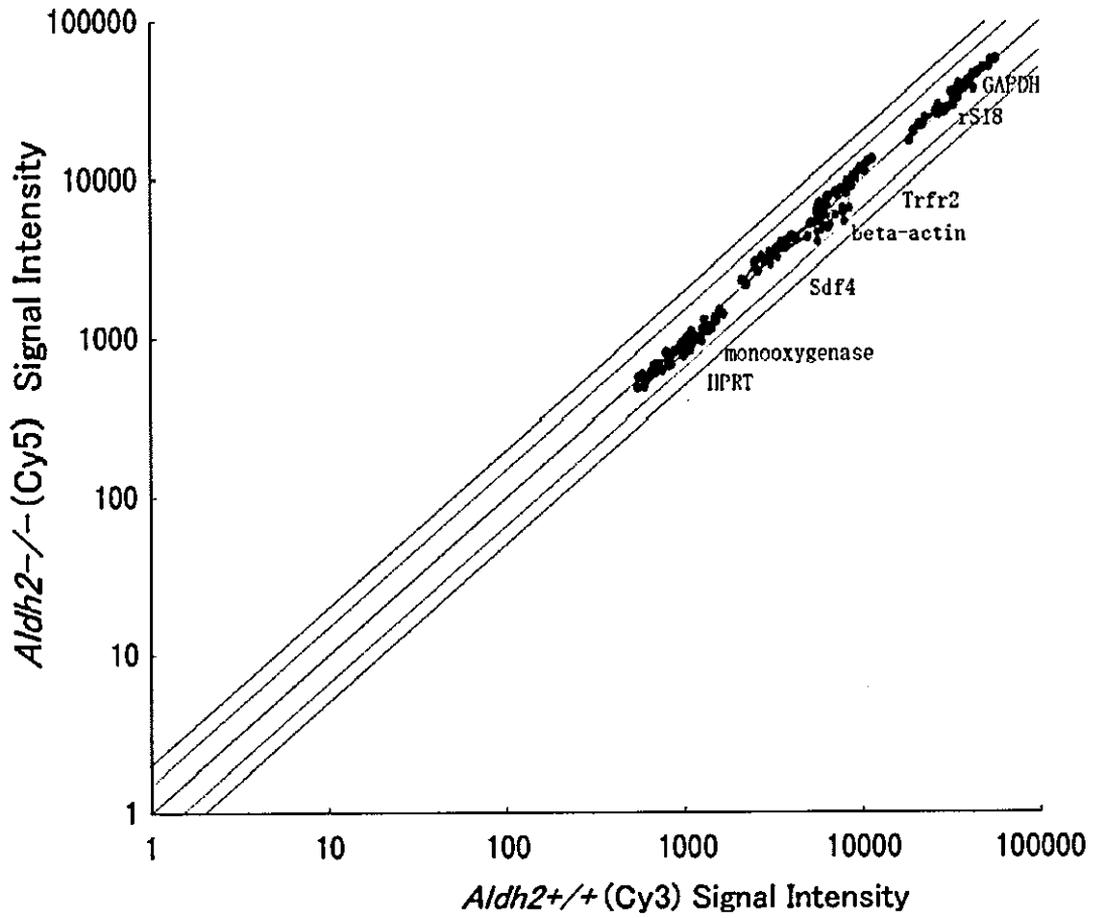


Fig1-II-2-2 サンプル間および実験間で発現量に相違の生じていない House keeping gene

Scatter Plot (direct) Aldh2 genotype 曝露前後比較



1-II-1-3 Global normalization

観測した全ての遺伝子の蛍光強度の補正前数値を解析毎に結んだのが下図(Fig1-II-3-1 および 2)であり、これを移動の少なかった順に 250 ずつ色分けして分けて表示したのが次図(Fig1-II-3-3)である。半数以上の遺伝子は遺伝子型およびアセトアルデヒド曝露によらず蛍光強度に差を生じていないのがわかる。また、実験結果に標識蛍光色素間の歪みが生じているのはおおむね蛍光強度 100 以下のものだけであることがわかり、ほとんどの遺伝子は $y=x$ から蛍光強度 1.5 から 2 倍以内に発現していることがわかる。採取した RNA の品質も良いことから、一番観測点の多い補正法として Global normalization を採用した。また、Scatter Plot の重ね合わせによる以降の解析には標識蛍光色素の違いによる歪みは蛍光強度 100 以上ではごく小さいため、補正前値を用いることとした。

Fig1-II-3-1 全ての遺伝子の蛍光強度の補正前数値を解析毎に結んだ図

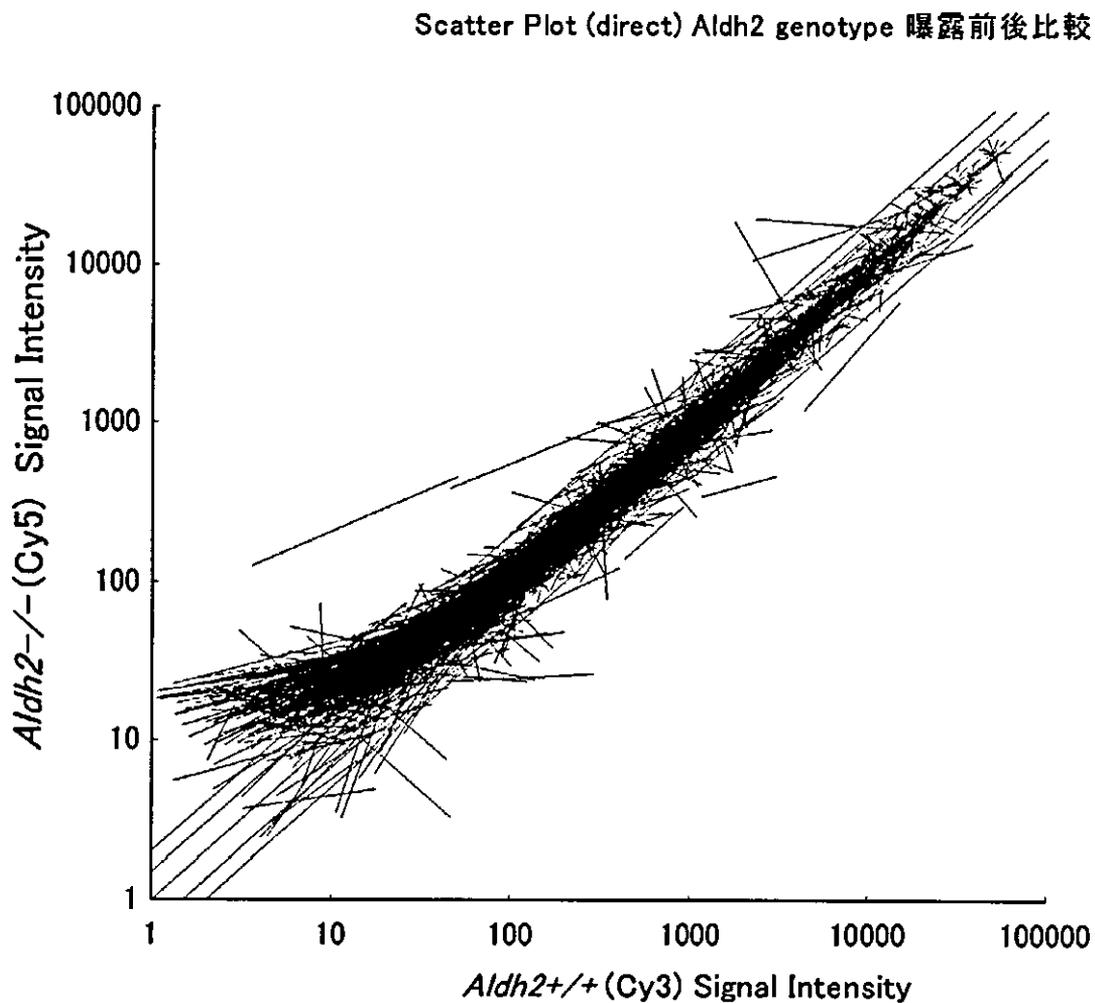


Fig1-II-3-2) 全ての遺伝子の蛍光強度の補正前数値を解析毎に結んだ図 (移動距離の小さい遺伝子を 250 個ずつ色分け)

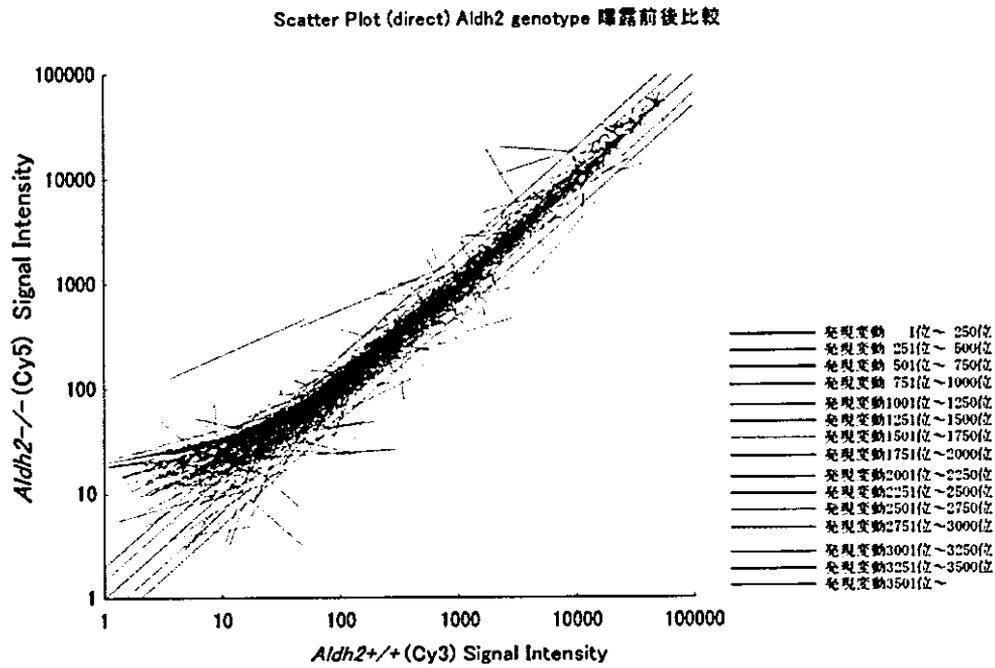
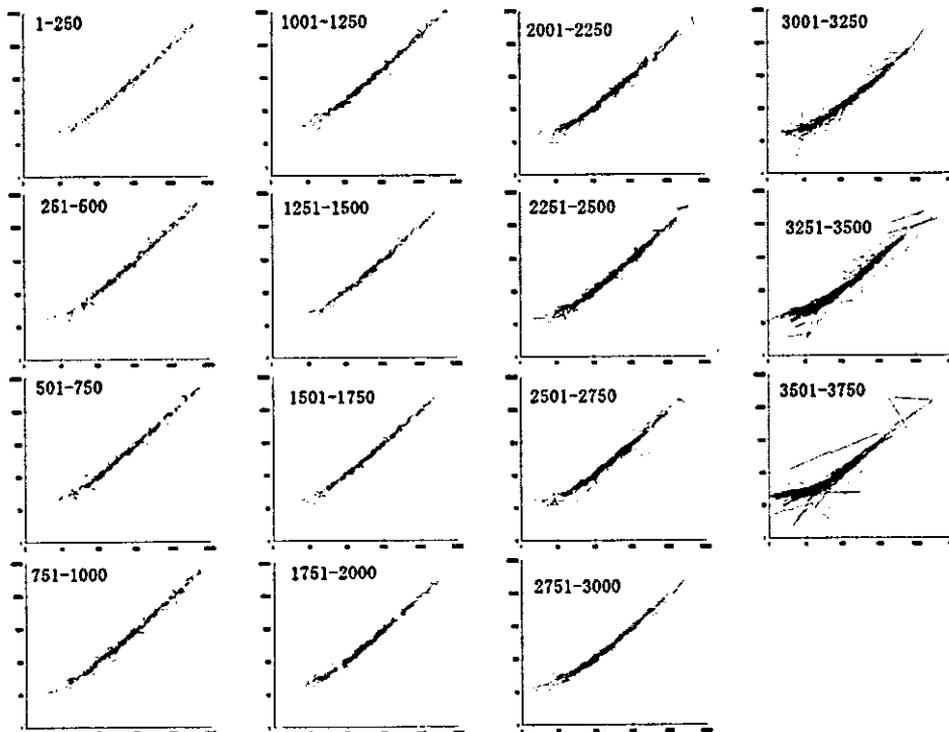


Fig1-II-3-3 解析した全ての遺伝子を移動距離の小さい遺伝子を 250 個ずつ色分けした図

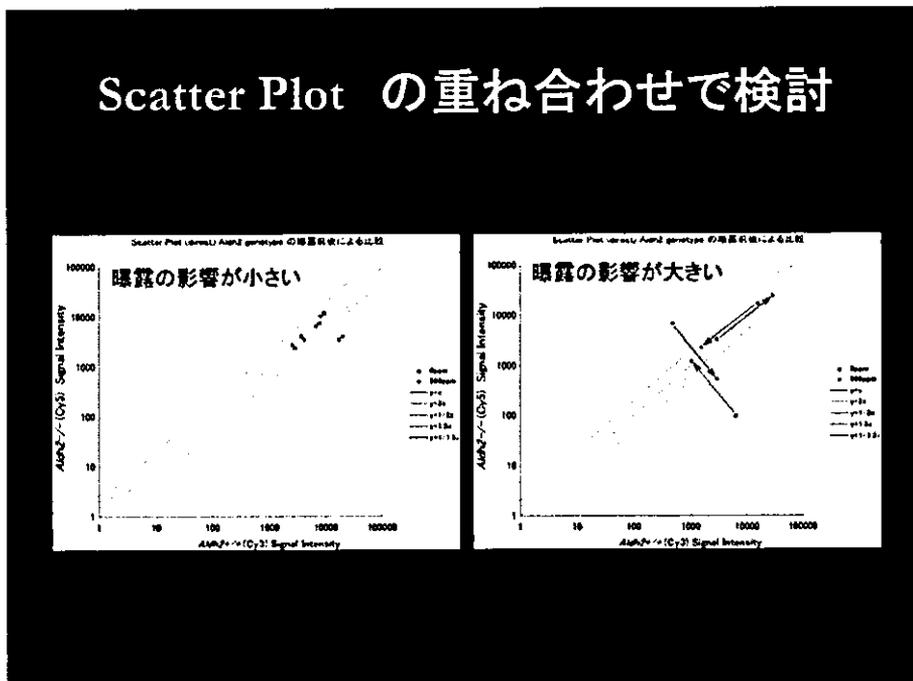


1-II-2-2 Scatter Plot の重ねあわせによる表示法

蛍光強度（遺伝子発現量）のデータを図中に残したまま発現量の変化を検討した方が、発現量が大きいほど誤差が少なくかつ生理的变化が大きいことが読み取れる。そこで Scatter Plot の重ね合わせ表示をし、曝露前後の移動を線で結び表示することとした。

1-II-2-2-1. 移動距離の計算

Scatter Plot の描図上で曝露前後の移動線の長さが長い遺伝子ほど、アセトアルデヒド曝露の有無で蛍光強度の変化すなわち発現量の変化が大きかった遺伝子である。従って Scatter Plot の移動距離を計算することでアセトアルデヒド曝露による発現変動の大きい遺伝子を抽出した。

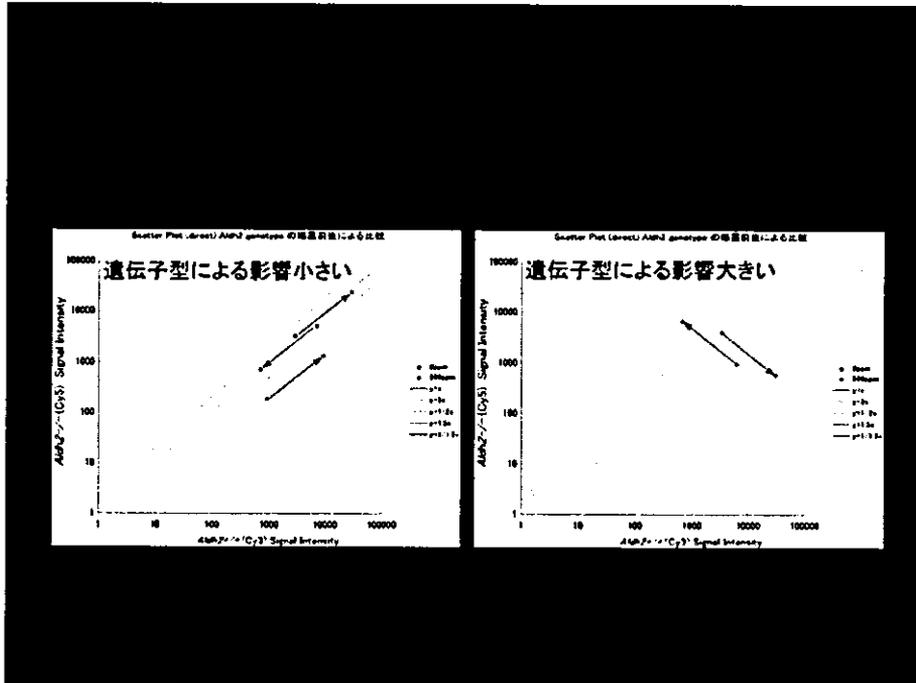


$$d = \sqrt{\left(\log_2 \frac{x_2}{x_1}\right)^2 + \left(\log_2 \frac{y_2}{y_1}\right)^2}$$

$$d = \sqrt{(x_2 - x_1)^2 + (y_2 - y_1)^2}$$

1-II-2-2-2. Scatter Plot の移動方向による、影響の篩い分け

遺伝子型による影響であるか、曝露による影響下を Scatter Plot の移動方向により篩い分けすることができる。



$$a(1,1) + b(1,-1) = (x_2 - x_1, y_2 - y_1)$$

$$a = \frac{1}{2} \log_2 \left(\frac{x_2}{x_1} \times \frac{y_2}{y_1} \right)$$

$$b = \frac{1}{2} \log_2 \left(\frac{x_2}{x_1} \times \frac{y_1}{y_2} \right)$$

結果 1-III

1-III-1-1 解析法 1-1 Spot 判定が全て陽性で移動距離が大きい遺伝子

Fig 1-III-1-1 Spot 判定が全て陽性で移動距離が大きい遺伝子上位 250 位
Scatter Plot (direct) *Aldh2* genotype 陽性前後発現変動 all positive 上位 250

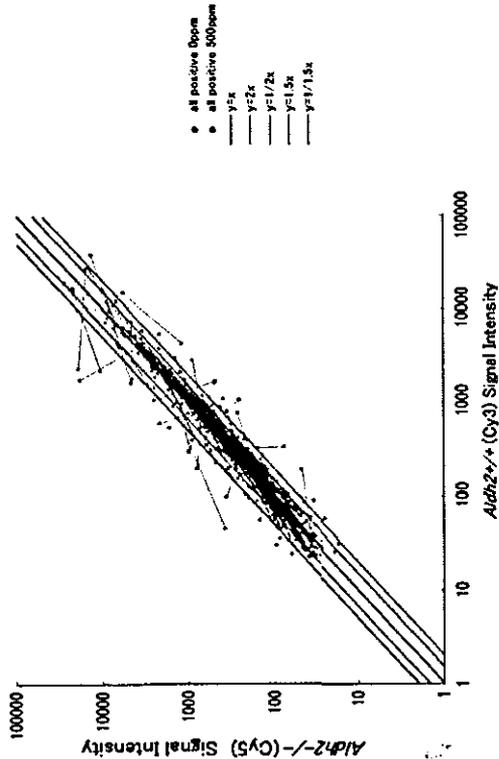


Table 1-III-1-1 Spot 判定が全て陽性で移動距離が大きい遺伝子上位 250 位

Gene Bank	Gene name
1	NM_010000 Cytochrome P450, 2b9, Phenobarbital inducible, type a
2	NM_025438 Sterol-C4-methyl oxidase-like
3	NM_024226 Reticulon 4
4	NM_007468 Apolipoprotein A-IV
5	NM_010228 FMS-like tyrosine kinase 1
6	NM_007591 Calcitriol
7	NM_021465 Stromal antigen 2
8	NM_054055 Solute carrier family 13 (sodium-dependent decarboxylase transporter), member 3
9	NM_013732 Cocaine and amphetamine regulated transcript
10	NM_007825 Cytochrome P450, 7b1
11	NM_022882 Lipin 2
12	NM_010941 NAD(P) dependent steroid dehydrogenase-like
13	NM_023320 RIKEN cDNA 2810052M02 gene
14	NM_007542 Biglycan
15	NM_023113 Aspartoacylase (aminoacylase) 2

16	NM_016668 Betaine-homocysteine methyltransferase
17	NM_008960 Phosphatase and tensin homolog
18	NM_021789 Synbindin
19	NM_013602 Metallothionein 1
20	NM_007478 ADP-ribosylation factor 3
21	NM_020266 DnaJ (Hsp40) homolog, subfamily B, member 10
22	NM_016874 Deformed epidermal autoregulatory factor 1 (Drosophila)
23	NM_011592 Translocator of inner mitochondrial membrane 44
24	NM_016707 B-cell CLL/lymphoma 11A (zinc finger protein)
25	NM_020276 Nasal embryonic LHRH factor
26	NM_023323 RIKEN cDNA 2810470K21 gene
27	NM_009609 Actin, gamma, cytoplasmic
28	NM_008669 N-acetyl galactosaminidase, alpha
29	NM_020007 Muscleblind-like (Drosophila)
30	NM_025636 RIKEN cDNA 2310079M02 gene
31	NM_008180 Glutathione synthetase
32	NM_013683 Transporter 1, ATP-binding cassette, sub-family B (MDR/TAP)
33	NM_008942 Puromycin-sensitive aminopeptidase
34	NM_007796 Cytotoxic T lymphocyte-associated protein 2, alpha
35	NM_009148 SEC8 (S. cerevisiae)
36	NM_009572 Acidic (leucine-rich) nuclear phosphoprotein 32 family, member A
37	NM_054046 Differentially expressed in FDCP 8
38	NM_008537 Alpha-methylacyl-CoA racemase
39	NM_009360 Transcription factor A, mitochondrial
40	NM_025437 RIKEN cDNA 1500010B24 gene
41	NM_025888 RIKEN cDNA 2410004N11 gene
42	NM_009178 Sialyltransferase 4C (beta-galactosidase alpha-2, 3-sialyltransferase)
43	NM_009127 Stearoyl-Coenzyme A desaturase 1
44	NM_007572 Complement component 1, q subcomponent, alpha polypeptide
45	NM_010786 Transformed mouse 3T3 cell double minute 2
46	NM_008524 Lumican
47	NM_010716 Ligase III, DNA, ATP-dependent
48	NM_009070 Ribonucleic acid binding protein S1
49	NM_010223 FK506 binding protein B (38 kDa)
50	NM_010012 Cytochrome P450, 8b1, sterol 12 alpha-hydroxylase
51	NM_023556 Mevalonate kinase
52	NM_010211 Four and a half LIM domains 1
53	NM_024479 cDNA sequence BC002286
54	NM_015754 Retinoblastoma binding protein 9
55	NM_133998 Expressed sequence A1326867
56	NM_010476 Hydroxysteroid (17-beta) dehydrogenase 7
57	NM_009670 Ankyrin 3, epithelial
58	NM_008452 Kruppel-like factor 2 (lung)
59	NM_008680 Adaptor-related protein complex AP-3, beta 1 subunit
60	NM_008144 G protein gamma 3 linked gene
61	NM_007594 Calumenin

62	NM_013614	UDP-N-acetyl-alpha-D-galactosamine:poly(epsilon-N-acetyl-galactosaminyl)transferase 1
63	NM_009381	Thyroid hormone responsive SPOT14 homolog (Rattus)
64	NM_025281	Ly1 antibody reactive clone
65	NM_138749	Plexin B2
66	NM_054071	Fibroblast growth factor receptor-like 1
67	NM_008431	Potassium channel, subfamily K, member 4
68	NM_026176	Prostacyclin-like
69	NM_011948	Mitogen activated protein kinase kinase kinase 4
70	NM_032002	Neuregulin 4
71	NM_011970	Proteasome (prosome, macropain) subunit, beta type 2
72	NM_011370	Selective hybridizing clone
73	NM_054043	Musashi homolog 2 (Drosophila)
74	NM_025612	High mobility group 20A
75	NM_007706	Suppressor of cytokine signaling 2
76	NM_021524	pre-B-cell colony-enhancing factor
77	NM_011971	Proteasome (prosome, macropain) subunit, beta type 3
78	NM_010207	Fibroblast growth factor receptor 2
79	NM_007590	Calmodulin 3
80	NM_009150	Selenium binding protein 1
81	NM_025423	RIKEN cDNA 1110059E24 gene
82	NM_026174	Lysosomal apyrase-like 1
83	NM_029863	Mitochondrial ribosomal protein S5
84	NM_022885	Solute carrier family 30 (zinc transporter), member 5
85	NM_021336	Small nuclear ribonucleoprotein polypeptide A'
86	NM_008479	Phosphocysteine-activation gene 3
87	NM_011224	Muscle glycogen phosphorylase
88	NM_009166	Silica-induced gene 41
89	NM_009171	Serine hydroxymethyl transferase 1 (soluble)
90	NM_031199	Transforming growth factor alpha
91	NM_016890	Dynactin 3
92	NM_011942	Lysophospholipase 2
93	NM_011991	COP9 (constitutive photomorphogenic) homolog, subunit 3 (Arabidopsis thaliana)
94	NM_025421	RIKEN cDNA 1110039O14 gene
95	NM_030687	Solute carrier family 21 (organic anion transporter), member 5
96	NM_011421	Sphingomyelin phosphodiesterase 1, acid lysosomal
97	NM_023912	N-terminal kinase-like
98	NM_007465	Baculoviral IAP repeat-containing 3
99	NM_134024	Expressed sequence AK451582
100	NM_007455	Adaptor protein complex AP-1, gamma 2 subunit
101	NM_008543	MAD homolog 7 (Drosophila)
102	NM_028437	RIKEN cDNA 1810055E12 gene
103	NM_019581	GTP binding protein 2
104	NM_019414	Selenium binding protein 2
105	NM_016808	Ubiquitin specific protease 2
106	NM_016898	CD164 antigen
107	NM_009895	Cytokine inducible SH2-containing protein

108	NM_025419	RIKEN cDNA 1110059G10 gene
109	NM_009469	Unc-51 like kinase 1 (C. elegans)
110	NM_007408	Adipose differentiation related protein
111	NM_020568	DnaJ (Hsp40) homolog, subfamily C, member 4
112	NM_011499	Serine/threonine kinase receptor associated protein
113	NM_025523	NADH dehydrogenase (ubiquinone) 1, subcomplex unknown, 1
114	NM_015824	Origin recognition complex, subunit 3-like (S. cerevisiae)
115	NM_008183	Glutathione S-transferase, mu 2
116	NM_008796	Phosphatidylcholine transfer protein
117	NM_030711	Type 1 tumor necrosis factor receptor shedding aminopeptidase regulator
118	NM_022313	Era (G-protein)-like 1 (E. coli)
119	NM_008654	Myeloid differentiation primary response gene 116
120	NM_009193	Stem-loop binding protein
121	NM_009964	Crystallin, alpha B
122	NM_024182	SudD, suppressor of bimD6 homolog (Aspergillus nidulans)
123	NM_026095	RIKEN cDNA 1700043E15 gene
124	NM_007521	BTB and CNC homology 2
125	NM_138745	Methyltetrahydrofolate dehydrogenase (NADP+ dependent), methyltetrahydrofolate cyclohydrolase, formyltetrahydrofolate synthase
126	NM_010730	Annexin A1
127	NM_008853	Prej1, RING-H2 motif containing
128	NM_009647	Adenylate kinase 4
129	NM_015731	ATPase, class II, type 9A
130	NM_019945	Synrophin associated serine/threonine kinase
131	NM_025889	RIKEN cDNA 2410001H17 gene
132	NM_008155	Glucose phosphate isomerase 1
133	NM_025572	RIKEN cDNA 2610528J11 gene
134	NM_010260	Guanylate nucleotide binding protein 2
135	NM_007379	ATP-binding cassette, sub-family A (ABC1), member 2
136	NM_008125	Gap junction membrane channel protein beta 2
137	NM_019929	SMT3 (suppressor of mit two, 3) homolog 1 (S. cerevisiae)
138	NM_026352	Peptidylprolyl isomerase D (cyclophilin D)
139	NM_011972	Polymerase (DNA directed), iota
140	NM_011905	Toll-like receptor 2
141	NM_016883	Proteasome (prosome, macropain) 26S subunit, non-ATPase, 10
142	NM_019668	Ubiquitin-conjugating enzyme E2A, RADE6 homolog (S. cerevisiae)
143	NM_020581	Angiopoietin-like 4
144	NM_008668	Ngr1-A binding protein 2
145	NM_015762	Thioredoxin reductase 1
146	NM_025999	RIKEN cDNA 2610110L04 gene
147	NM_007531	B-cell receptor-associated protein 37
148	NM_030706	Tripartite motif protein 2
149	NM_016897	Translocase of inner mitochondrial membrane 23 homolog (yeast)
150	NM_008065	GA repeat binding protein, alpha
151	NM_011529	TRAF family member-associated N1-kappa B activator
152	NM_007483	Ras homolog gene family, member AB
153	NM_016863	Synaptotagmin 3

154	NM_023595	Deoxyuridine triphosphatase
155	NM_019693	HLA-B-associated transcript 1A
156	NM_011920	ATP-binding cassette, sub-family G (WHITE), member 2
157	NM_009581	Melanoma antigen, 80 kDa
158	NM_007474	Aquaporin 8
159	NM_008662	Myosin VI
160	NM_011104	Protein kinase C, epsilon
161	NM_011834	Kynurenine aminotransferase II
162	NM_026179	RIKEN cDNA 1300003D03 gene
163	NM_009378	Imprinted and ancient
164	NM_025403	RIKEN cDNA 1110036B12 gene
165	NM_026232	RIKEN cDNA 493433D23 gene
166	NM_019480	Estrogen receptor-binding fragment-associated gene 9
167	NM_025533	RIKEN cDNA 2310061K06 gene
168	NM_030750	Sphingosine-1-phosphate phosphatase 1
169	NM_019649	Cell tip and palate associated transmembrane protein 1
170	NM_007563	2,3-bisphosphoglycerate mutase
171	NM_009811	Caspase 6
172	NM_021301	Solute carrier family 15 (H ⁺ /peptide transporter), member 2
173	NM_010914	Nuclear transcription factor-Y beta
174	NM_010024	Dopachrome tautomerase
175	NM_009883	Protein tyrosine phosphatase, receptor type, K
176	NM_019428	Ribonuclease P2
177	NM_053094	CD163 antigen
178	NM_019922	Cartilage associated protein
179	NM_019825	Nuclear receptor coactivator 6
180	NM_023317	Nuclear distribution gene E homolog (Aspergillus)
181	NM_026651	RIKEN cDNA 672048C15 gene
182	NM_007527	Bcl2-associated X protein
183	NM_011313	S100 calcium binding protein A6 (calyculin)
184	NM_011206	Protein tyrosine phosphatase, non-receptor type 18
185	NM_025400	RIKEN cDNA 1110028N05 gene
186	NM_008788	Procollagen C-proteinase enhancer protein
187	NM_013562	Interferon-related developmental regulator 1
188	NM_025978	RIKEN cDNA 2700016E08 gene
189	NM_011031	Procollagen-proline, 2-oxoglutarate 4-dioxygenase (proline 4-hydroxylase), alpha II polypeptide
190	NM_010376	Histocompatibility 13
191	NM_011303	Retinal short-chain dehydrogenase/reductase 1
192	NM_008599	Chemokine (C-X-C motif) ligand 9
193	NM_009058	Ral guanine nucleotide dissociation stimulator
194	NM_019952	B-cell stimulating factor 3
195	NM_013612	Solute carrier family 11 (proton-coupled divalent metal ion transporters), member 1
196	NM_025422	RIKEN cDNA 1110055L24 gene
197	NM_008698	4-nitrophenylphosphatase domain and non-neuronal SNA-P25-like protein homolog 1 (C. elegans)
198	NM_026494	Expressed sequence A1413471

199	NM_025402	RIKEN cDNA 1110031K02 gene
200	NM_008832	Phosphorylase kinase alpha 1
201	NM_015740	General control of amino acid synthesis-like 1 (yeast)
202	NM_011847	DnaJ (Hsp40) homolog, subfamily B, member 6
203	NM_026061	RIKEN cDNA 2900010N05 gene
204	NM_010431	Hypoxia inducible factor 1, alpha subunit
205	NM_011727	X-linked lymphocyte-regulated 3b
206	NM_007626	Chromobox homolog 5 (Drosophila HP1a)
207	NM_007508	ATPase, H ⁺ transporting, lysosomal 70kD, V1 subunit A, isoform 1
208	NM_008854	Protein kinase, cAMP dependent, catalytic, alpha
209	NM_016846	Ral guanine nucleotide dissociation stimulator-like 1
210	NM_009242	Secreted acidic cysteine rich glycoprotein
211	NM_011361	Senum/glucocorticoid regulated kinase
212	NM_013743	Pyruvate dehydrogenase kinase, isoenzyme 4
213	NM_010331	GPI anchor attachment protein 1
214	NM_019687	Solute carrier family 22 (organic cation transporter), member 4
215	NM_013467	Aldehyde dehydrogenase family 1, subfamily A1
216	NM_008529	Lymphocyte antigen 6 complex, locus E
217	NM_133255	Hook homolog 2 (Drosophila)
218	NM_016974	D site albumin promoter binding protein
219	NM_019507	T-box 21
220	NM_133973	Component of oligomeric golgi complex 4
221	NM_009278	Sjogren syndrome antigen B
222	NM_013557	Eukaryotic translation initiation factor 2 alpha kinase 1
223	NM_008612	Mença a trois 1
224	NM_013916	Hoxa1 regulated gene
225	NM_016865	Stimulated by retinoic acid 13
226	NM_008059	G0/G1 switch gene 2
227	NM_025409	RIKEN cDNA 1110057H19 gene
228	NM_134054	RIKEN cDNA 1110002B05 gene
229	NM_026011	RIKEN cDNA 2610313E07 gene
230	NM_009071	Rho-associated coiled-coil forming kinase 1
231	NM_009315	TAF6 RNA polymerase II, TATA box binding protein (TBP)-associated factor, 80 kDa
232	NM_011690	Vaiy4RNA synthetase 2
233	NM_010442	Heme oxygenase (decycling) 1
234	NM_028785	RIKEN cDNA 1200017A24 gene
235	NM_007414	ADP-ribosylarginine hydrolase
236	NM_023805	Solute carrier family 38, member 3
237	NM_010644	Kallikrein 26
238	NM_009008	RAS-related C3 botulinum substrate 2
239	NM_011756	Zinc finger protein 36
240	NM_024437	Nudix (nucleoside diphosphate linked moiety X)-type motif 7
241	NM_022889	Pescadillo homolog 1, containing BRCT domain (zebrafish)
242	NM_016888	UDP-GlcNAc:betaGal beta-1,3-N-acetylglucosaminyltransferase 1
243	NM_010890	Neural precursor cell expressed, developmentally down-regulated gene 4
244	NM_026160	Microtubule-associated protein 1 light chain 3

245	NM_007460	Adaptor-related protein complex AP-3, delta subunit
246	NM_009112	S100 calcium binding protein A10 (calpactin)
247	NM_013643	Prostaglandin E receptor 1 (subtype EP1), 42KD
248	NM_007444	S-adenosylmethionine decarboxylase 2
249	NM_010700	Low density lipoprotein receptor
250	NM_009297	Suppressor of Ty 6 homolog (S. cerevisiae)

1-III-1-2 解析法 1-2 Scatter Plot で y=x 方向の移動距離の大きい上位 250 遺伝子

Fig 1-III-1-2-1 y=x 方向の移動距離の大きく Spot 判定が全て陽性の上位 250 遺伝子
Scatter Plot (direct) *Aldh2* genotype 曝露前後の変動 y=x 上位 250

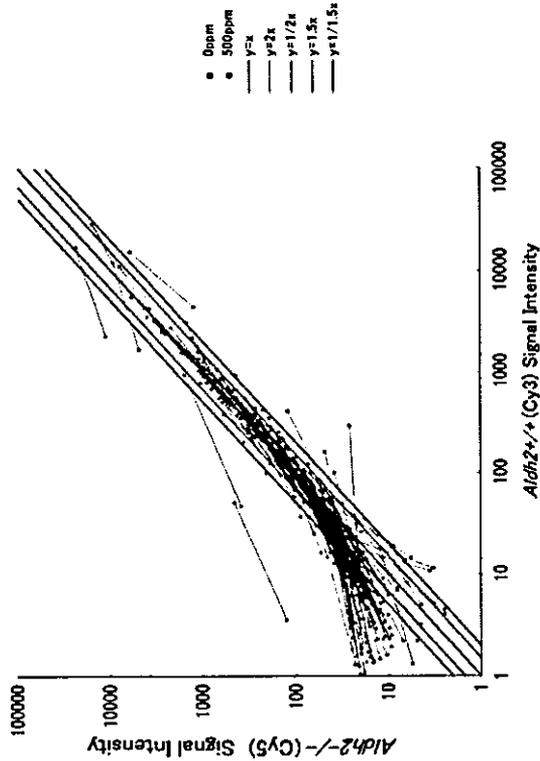


Table 1-III-1-2 y=x 方向の移動距離の大きく Spot 判定が全て陽性の上位 250 遺伝子

Gene Bank	Accession	Gene name
1	NM_134046	DNA segment, Chr 12, ERATO Doi 482, expressed
2	NM_019417	Reversion induced LIM gene
3	NM_019578	Exostoses (multiple)-like 1
4	NM_011404	Solute carrier family 7 (cationic amino acid transporter, y+ system), member 5
5	NM_020618	SWI/SNF related, matrix associated, actin dependant regulator of chromatin, subfamily e, member 1
6	NM_009784	Calcium channel, voltage-dependent, alpha2/delta subunit 1
7	NM_021522	Ubiquitin specific protease 14
8	NM_008420	Potassium voltage gated channel, Shab-related subfamily, member 1
9	NM_008151	G-protein coupled receptor 12
10	NM_139145	Holocarboxylase synthetase (biotin- [propionyl-Coenzyme A-carboxylase (ATP-hydrolyzing)] ligase)
11	NM_007552	B lymphoma Mc-MiLY insertion region 1
12	NM_010804	Myeloid/lymphoid or mixed lineage-leukemia translocation to 10 homolog (Drosophila)
13	NM_053132	Protocadherin beta 7
14	NM_015732	Axin2
15	NM_019875	ATP-binding cassette, sub-family B (MDR/TAP), member 9

16	NM_010330	Emblgin
17	NM_011540	Tinn-cap
18	NM_013850	ATP-binding cassette, sub-family A (ABC1), member 7
19	NM_009603	Cholinergic receptor, nicotinic, epsilon polypeptide
20	NM_027988	5'-nucleotidase, cytosolic 1B
21	NM_008071	Gamma-aminobutyric acid (GABA-A) receptor, subunit beta 3
22	NM_013709	SH3 domain YSC-like 1
23	NM_023215	RIKEN cDNA 2500003M10 gene
24	NM_019668	Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein H2
25	NM_026175	RIKEN cDNA 1200014H24 gene
26	NM_007570	B-cell translocation gene 2, anti-proliferative
27	NM_022322	Tenomodulin
28	NM_010000	Cytochrome P450, 2B9, Phenobarbital inducible, type a
29	NM_007858	7-dehydrocholesterol reductase
30	NM_010468	Homeo box D3
31	NM_023227	v-rat simian leukemia viral oncogene homolog B [ras related]
32	NM_007540	Brain derived neurotrophic factor
33	NM_010758	Myelin-associated glycoprotein
34	NM_023129	Phospholamban
35	NM_028189	UDP-GlucNAc:betaGal beta-1,3-N-acetylglucosaminyltransferase 3
36	NM_133746	RIKEN cDNA 2810048G17 gene
37	NM_011980	Sarcoglycan, epsilon
38	NM_007468	Apolipoprotein A-IV
39	NM_025436	Steroid-C4-methyl oxidase-like
40	NM_016773	Nucleobindin 2
41	NM_010313	Guanine nucleotide binding protein, beta 5
42	NM_024226	Reticulon 4
43	NM_009922	Calponin 1
44	NM_013645	Parvalbumin
45	NM_010228	FMS-like tyrosine kinase 1
46	NM_007591	Calreticulin
47	NM_019934	Secretory blood group 1
48	NM_008697	Ninein
49	NM_017466	Chemokine (C-C motif) receptor-like 2
50	NM_133810	Expressed sequence A1120141
51	NM_026235	RIKEN cDNA 5430431G03 gene
52	NM_025520	RIKEN cDNA Z310034K10 gene
53	NM_007398	Adenosine deaminase
54	NM_054055	Solute carrier family 13 (sodium-dependent dicarboxylate transporter), member 3
55	NM_021465	Stromal antigen 2
56	NM_023328	ATP/GTP binding protein 1
57	NM_016866	Serine/threonine kinase 39, STE20/SPS1 homolog (yeast)
58	NM_011992	Reticulocalbin 2
59	NM_008812	Peptidyl arginine deiminase, type II
60	NM_013732	Cocaine and amphetamine regulated transcript
61	NM_019573	WW domain-containing oxidoreductase
62	NM_026401	Mitochondrial ribosomal protein 63
63	NM_022882	Lipin 2
64	NM_023320	RIKEN cDNA 2810052M02 gene
65	NM_007547	Protein tyrosine phosphatase, non-receptor type substrate 1
66	NM_060428	F-box and WD-40 domain protein 7, archipelago homolog (Drosophila)
67	NM_007625	Cytochrome P450, 7b1