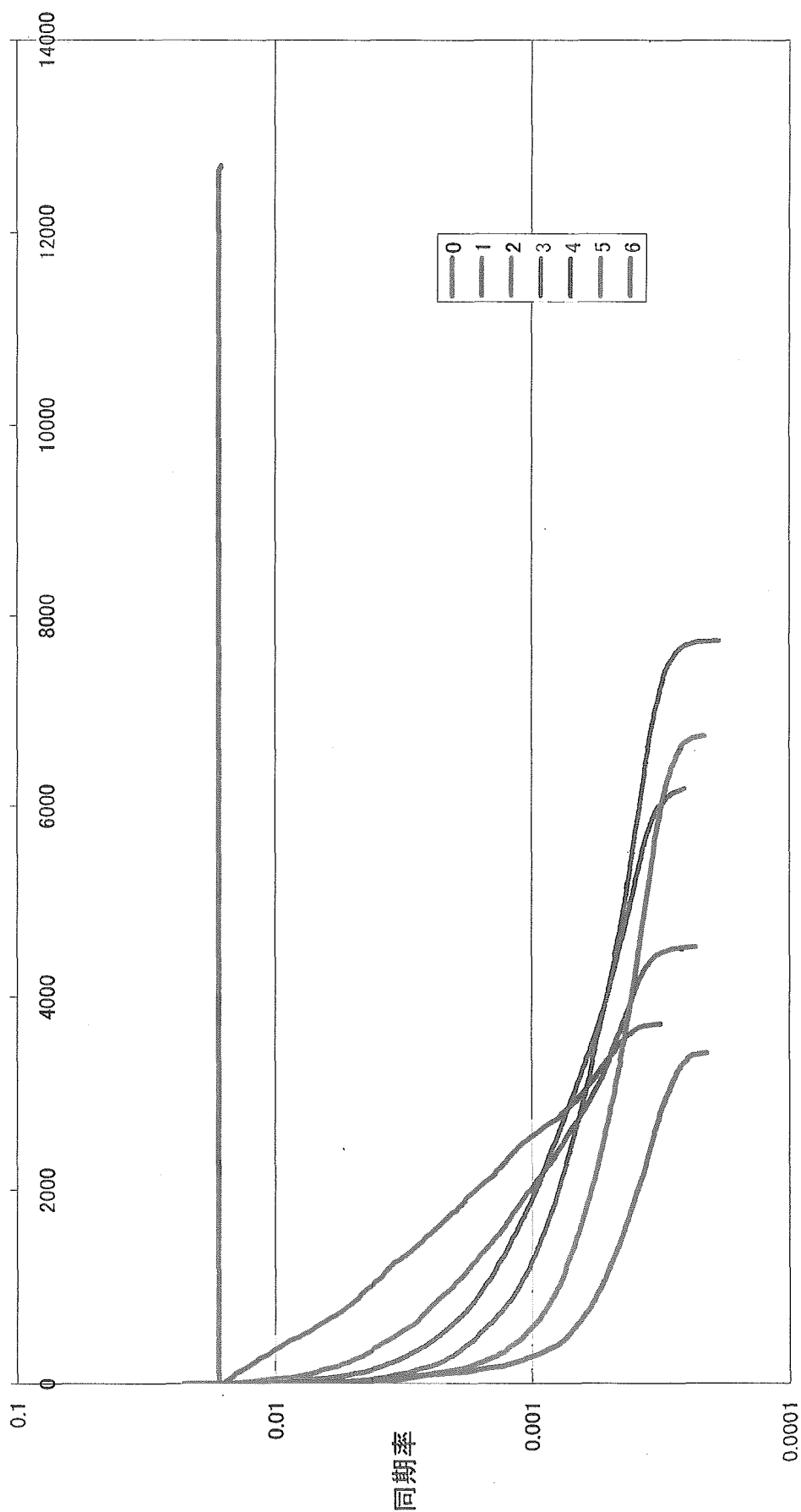


1. 同期率計算の改良

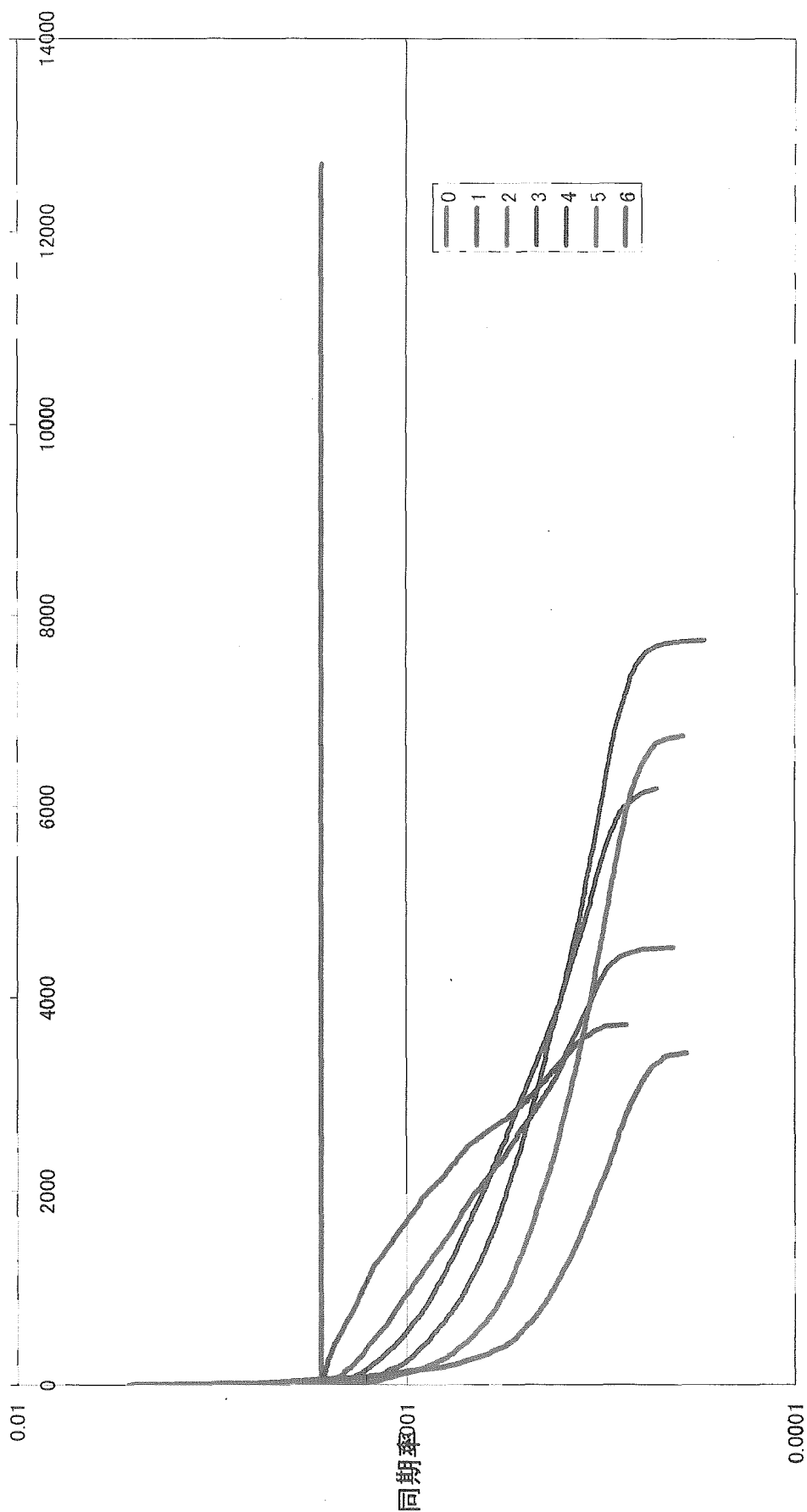
各プロブセットが、UNIQUE, RIGOROUS, SHELLとなる化合物数ごとの同期率の分布状況 (Group2、パラメータ=10の場合)



UNIQUE, RIGOROUS, SHELLとなる化合物数内の同期率の順位

1. 同期率計算の改良

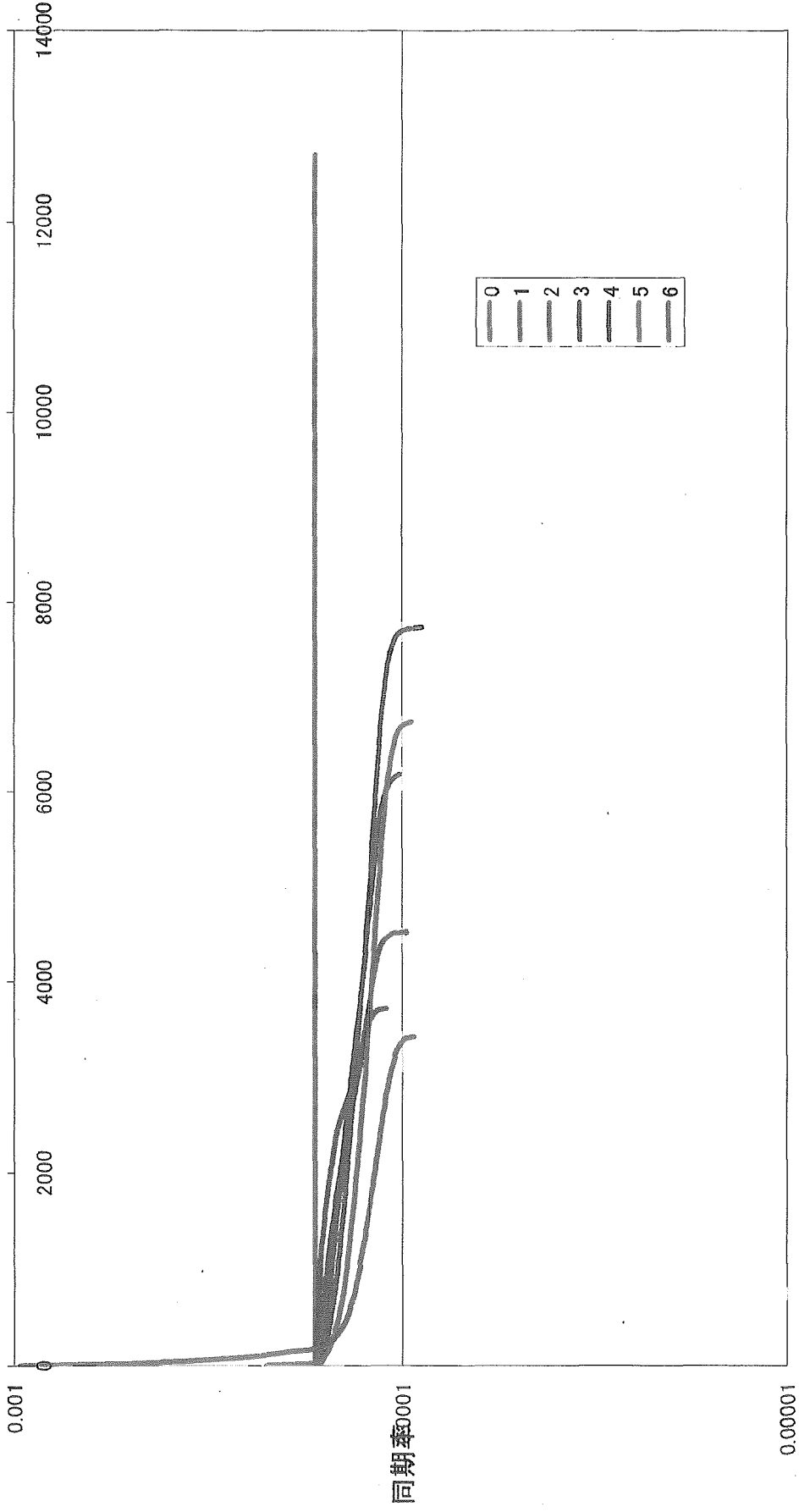
各プロパーセットが、UNIQUE, RIGOROUS, SHELLとなる化合物数ごとの同期率の分布状況 (Group2、パラメータ=100の場合)



UNIQUE, RIGOROUS, SHELLとなる化合物数内の同期率の順位

1. 同期率計算の改良

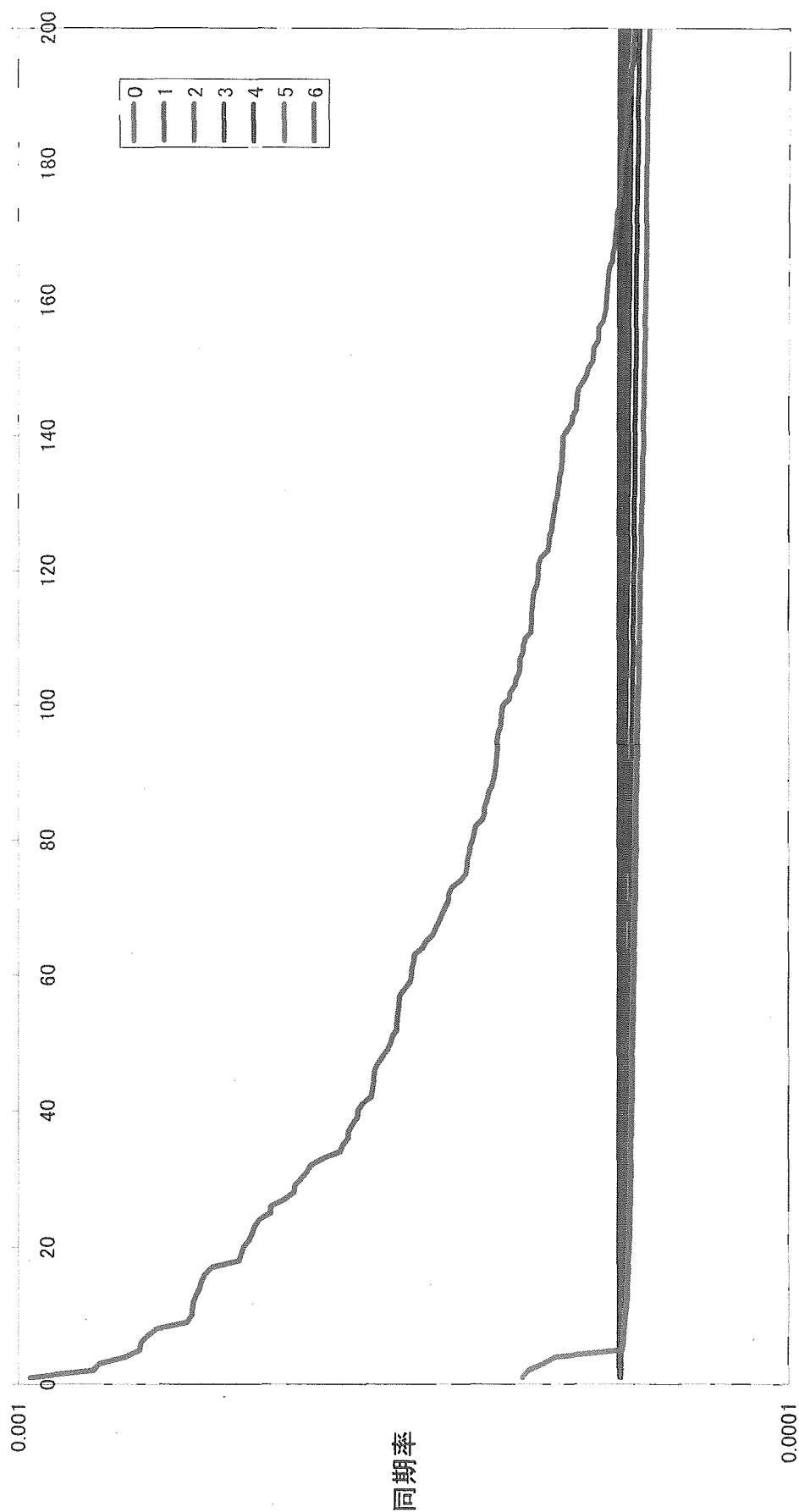
各プロパセットが、UNIQUE, RIGOROUS, SHELLとなる化合物数ごとの同期率の分布状況 (Group2、パラメータ=1000の場合)



UNIQUE, RIGOROUS, SHELLとなる化合物数内の同期率の順位

1. 同期率計算の改良

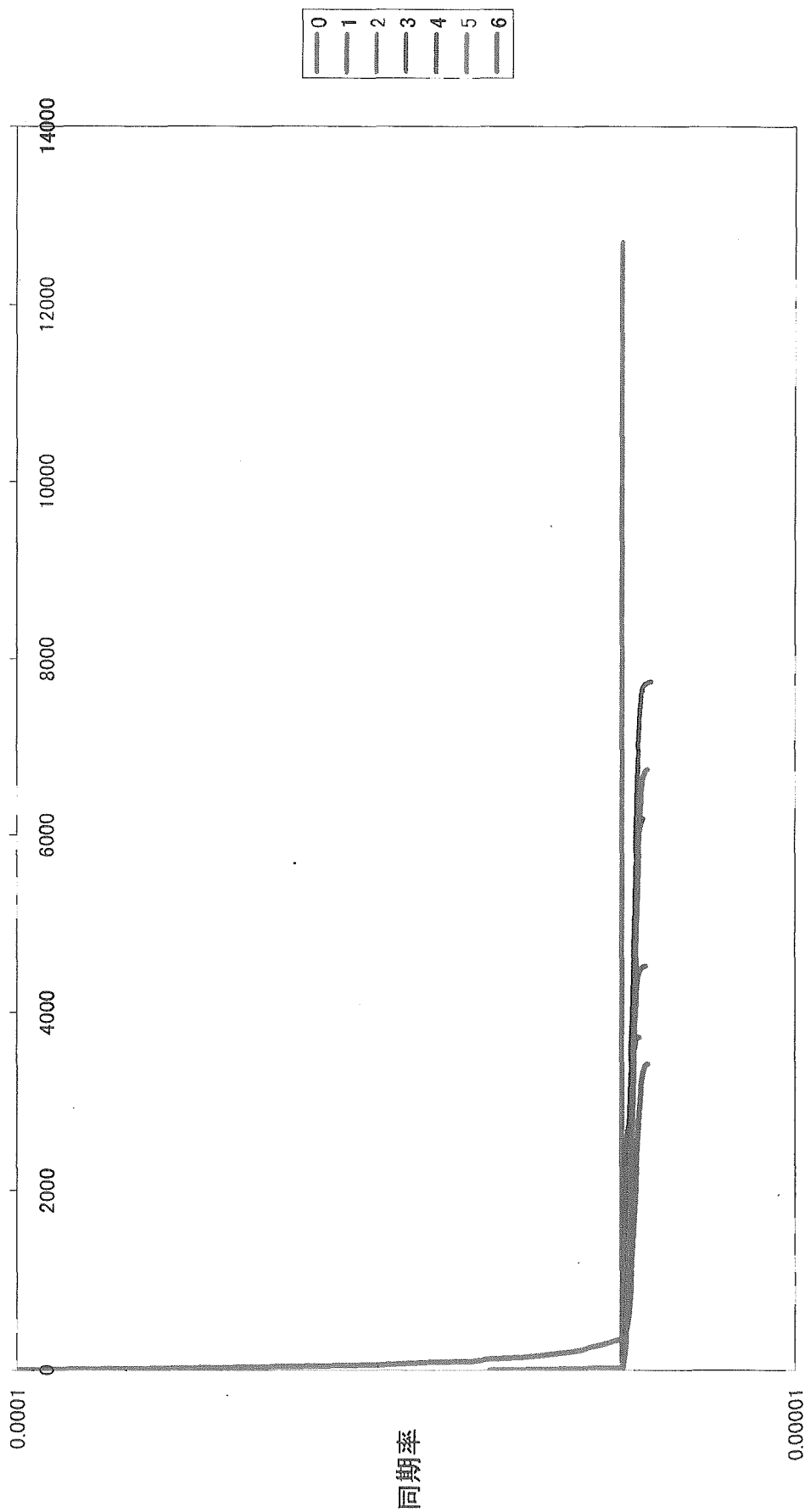
各プロブセットが、UNIQUE, RIGOROUS, SHELLとなる化合物数ごとの同期率の分布状況 (Group2、パラメータ=1000の場合)
200位まで



UNIQUE, RIGOROUS, SHELLとなる化合物数内の同期率の順位

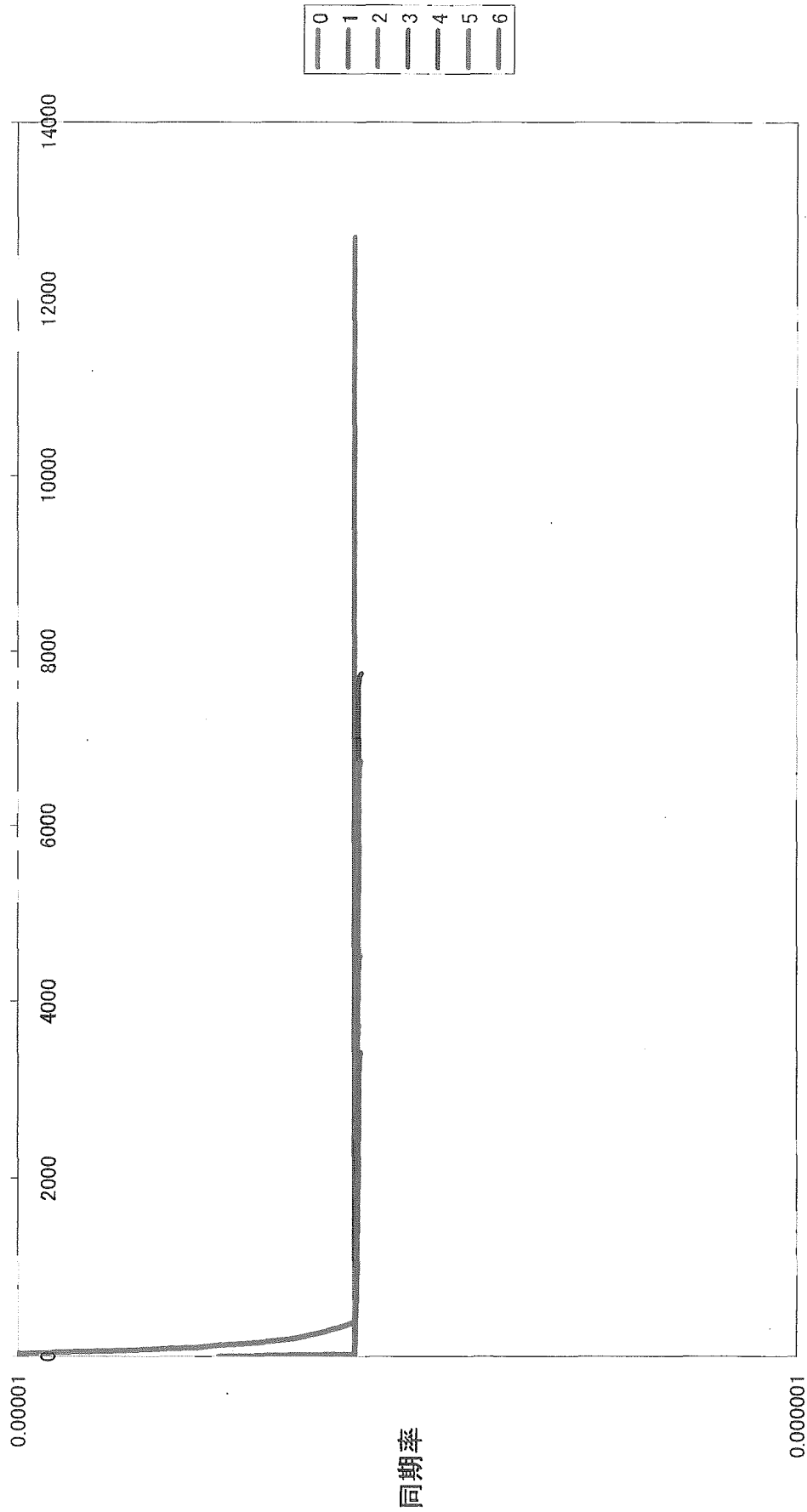
1. 同期率計算の改良

各プロブセットが、UNIQUE, RIGOROUS, SHELLとなる化合物数ごとの同期率の分布状況 (Group2、パラメータ=10000の場合)



1. 同期率計算の改良

各プロセッサが、UNIQUE, RIGOROUS, SHELLとなる化合物数ごとの同期率の分布状況 (Group2、パラメータ=45101の場合)



UNIQUE, RIGOROUS, SHELLとなる化合物数内の同期率の順位



1. 同期率計算の改良

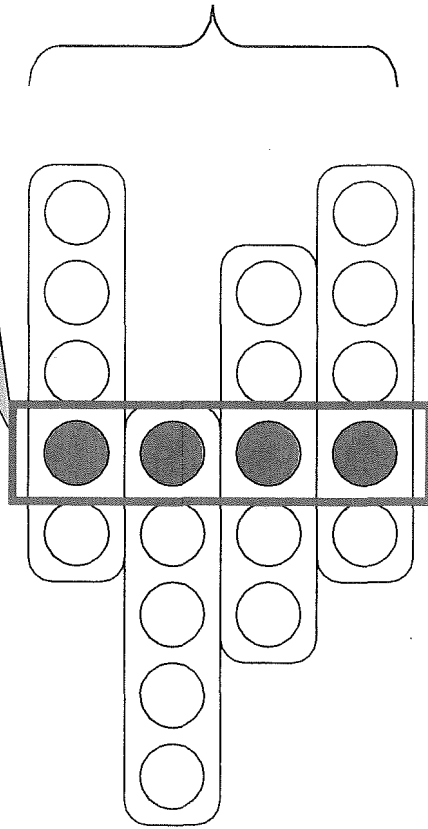
パラメータ45101の場合で同期率の高かった遺伝子(プロローブセット)リスト

prb_id	rate	Gene Symbol	GO Biological Process	cls1	cnt1	cls2	cnt2	cls3	cnt3	cls4	cnt4	cls5	cnt5	cls6	cnt6
1417169_at	6.3933	Usp2	ubiquitin-dependent protein catabolism	R	5	S	8	S	3	R	5	S	5	S	5
1439381_x_at	5.5295	Marveld1		S	3	S	8	R	15	S	9	S	6	S	7
1457141_at	5.4498			S	9	S	8	S	3	S	4	S	3	S	30
1421087_at	4.9351	Per3	transcription	S	4	S	10	S	1	S	4	S	5	S	1
1451714_a_at	4.7650	Map2k3	MAPKK cascade	S	5	R	12	R	22	S	5	R	7	R	16
1417941_at	4.7630	Hdh4	metabolism	S	8	R	11	R	12	S	7	S	6	R	16
1418174_at	4.6775	Dbp	transcription	S	6	R	7	S	3	S	2	S	2	S	3
1417168_a_at	4.6117	Usp2	ubiquitin-dependent protein catabolism	R	5	S	13	S	6	S	3	S	3	R	6
1422568_at	4.5580	Ndel1	retrograde axon cargo transport	S	18	S	5	S	20	S	7	S	18	S	24
1427929_a_at	4.4117	Pdxk	pyridoxine metabolism	S	16	S	13	S	17	S	8	S	6	R	20
1426894_s_at	4.2047	C230093N12Rik		R	16	S	16	S	7	S	4	R	7	S	23
1422470_at	4.0970	Brip3	apoptosis	S	7	S	7	S	7	S	6	S	5	R	18
1460510_a_at	4.0531			S	4	S	2	S	4	R	10	S	4	S	18
1439802_at	4.0272			S	6	S	19	R	5	S	5	S	3	S	16
1438211_s_at	4.0183	Dbp	transcription	S	5	S	6	S	2	S	2	S	3	S	6
1416773_at	4.0164	Wee1	protein amino acid phosphorylation	S	5	S	13	S	6	S	2	S	9	S	3
1428487_s_at	3.9955			S	8	R	2	R	7	R	5	R	5	S	16
1451005_at	3.8492	Sumo1	DNA repair	R	17	S	12	S	15	R	6	S	6	S	30
1424367_a_at	3.6873	Homer2	metabotropic glutamate receptor signaling pathway	S	5	S	11	S	15	S	5	S	5	R	12
1435334_at	3.5961			R	13	R	3	S	19	R	7	S	23	S	10
1455112_at	3.5710			S	11	S	9	S	3	R	10	S	10	S	12
1428409_at	3.5697			R	10	R	12	R	17	S	3	S	6	R	33
1450184_s_at	3.5461	Tef	transcription	S	5	S	4	S	3	S	6	S	2	S	5
1439189_at	3.5261			S	11	S	9	S	16	S	5	S	22	R	15
1428883_at	3.3063			S	5	S	3	S	24	S	7	S	2	S	11
1426515_a_at	3.2884	Tor1a	protein folding	S	7	S	12	S	6	S	6	S	4	S	5
1419301_at	3.1083	Fzd4	signal transduction	S	8	S	4	R	16	R	9	S	8	S	7
1454819_at	3.0257			S	6	S	15	S	11	S	7	S	3	S	7
1458040_at	3.0254			S	5	S	10	S	3	S	4	S	2	R	10
1417820_at	2.9993	Tor1b	protein folding	S	3	R	13	S	2	S	4	S	2	S	15
1455320_at	2.9099			S	4	S	16	S	2	S	6	R	5	S	4
1452398_at	2.8451	Pice1	lipid metabolism	S	14	S	15	S	9	S	4	S	5	S	28
1415721_a_at	2.8293	1200013P24Rik		S	13	S	21	S	9	R	14	S	3	S	14
1453271_at	2.7918			S	22	S	11	S	14	S	9	S	7	S	40
1421830_at	2.6790	Ak311	nucleobase, nucleoside, nucleotide and nucleic acid metabolism	R	5	S	15	R	7	S	7	R	3	R	5
1454758_a_at	2.6649	Tgfb114	transcription	R	1	R	1	R	1	R	2	S	6	S	1
1429254_at	2.6519			S	11	S	7	S	4	S	7	S	3	S	15
1417506_at	2.6502	Gmnn	regulation of cell cycle	S	8	S	4	R	8	R	6	S	9	S	20
1457671_at	2.6440			S	6	S	10	S	10	S	2	S	10	S	9
1436539_at	2.6365			R	6	S	9	S	8	S	6	R	26	S	27

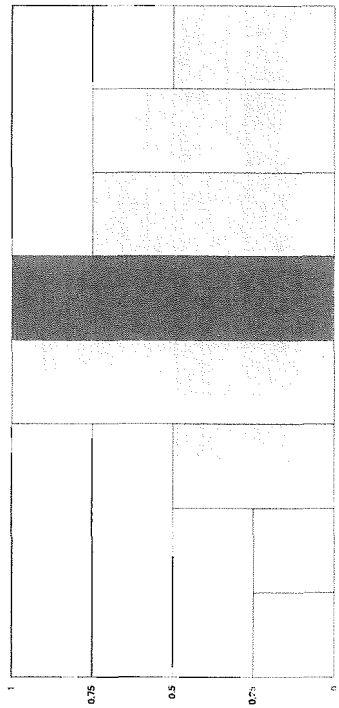
1. 同期率計算の改良

着目する遺伝子が関わるクラスターを全部

着目遺伝子



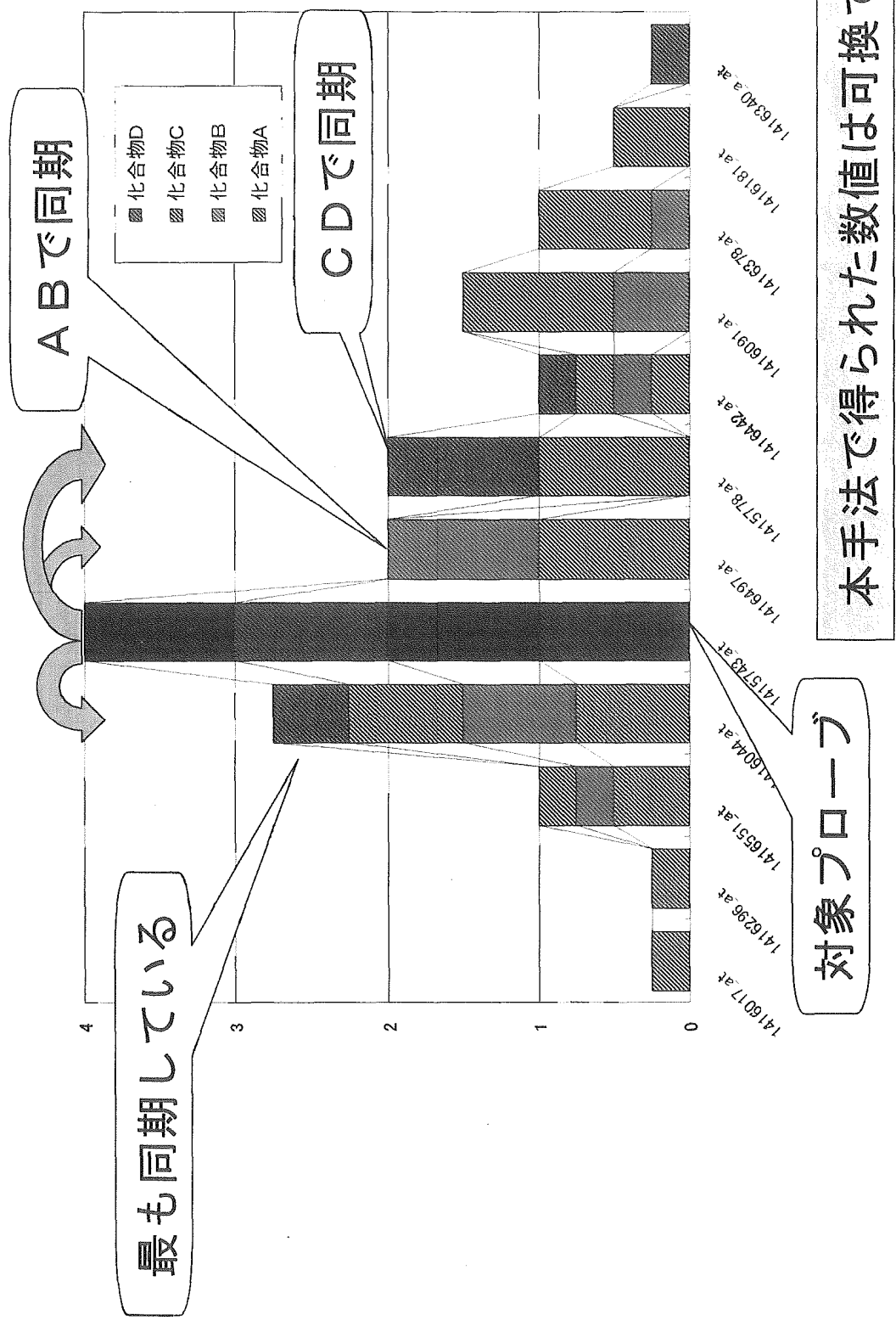
4個のクラスターに属する場合



属する個数の割合から、
山脈が描ける

この山脈の形状が似ていれば、近くの遺伝子の存在状況が似ているといえるのでは？

1. 同期率計算の改良



同期している対象化合物の調査は計算量の問題で困難



1. 同期率計算の改良

パラメータ=45101の場合の、プロンプセット1415678_at (Pom1a) に対する同調度上位

No	同調度	Probe Set ID	Gene Title	Gene Symbol	GO Biological Process Description	GO Molecular Function Description	GO Cellular Component Description
1	6.000000000	1415678_at	protein phosphatase 1A, magnesium dependent, alpha isoform	Ppm1a	protein amino acid dephosphorylation	magnesium ion binding catalytic activity phosphoprotein phosphatase activity protein serine/threonine phosphatase activity hydrolase activity manganese ion binding metal ion binding	protein serine/threonine phosphatase complex
2	2.21323529	1416027_at	programmed cell death 6	Pdc6	apoptosis caspase activation	calcium ion binding protein binding N-acetyltransferase activity transferase activity	soluble fraction microsome
3	2.21078431	1415721_a_at	RIKEN cDNA 1200013P24 gene	1200013P24Rik			
4	2.09558824	1416345_at	translocase of inner mitochondrial membrane 8 homolog a (yeast)	Timm8a	protein targeting protein-mitochondrial targeting transport protein transport mitochondrial inner membrane protein import		mitochondrion membrane inner membrane mitochondrial inner membrane protein insertion complex
5	1.52941176	1416138_at	annexin A7	Anxa7	calcium ion homeostasis cell proliferation	calcium ion binding protein binding calcium-dependent phospholipid binding	nucleus nuclear membrane cytosol plasma membrane
6	1.41666667	1415731_at	DNA segment, Chr 1, ERATO Dot 396, expressed	D1Erd396e		endonuclease activity exonuclease activity	
7	1.41666667	1416176_at	high mobility group box 1	Hmgb1	DNA packaging regulation of transcription, DNA-dependent nitric oxide biosynthesis transport	DNA binding protein binding heparin binding nitric-oxide synthase regulator activity catalytic activity	chromatin extracellular space nucleus chromosome
8	1.29411765	1415652_at	inosine 5'-phosphate dehydrogenase 2	Impdh2	purine nucleotide biosynthesis GMP biosynthesis lymphocyte proliferation	IMP dehydrogenase activity oxidoreductase activity metal ion binding	
9	1.21323529	1416346_at	translocase of inner mitochondrial membrane 8 homolog a (yeast)	Timm8a	protein targeting protein-mitochondrial targeting transport protein transport mitochondrial inner membrane protein import		mitochondrion membrane inner membrane mitochondrial inner membrane protein insertion complex
10	1.20098039	1415769_at	itchy	Itch	ubiquitin-dependent protein catabolism ubiquitin cycle metabolism	ubiquitin-protein ligase activity protein binding ligase activity	ubiquitin ligase complex intracellular nucleus
11	1.11764706	1415775_at	aldehyde dehydrogenase family 3, subfamily A2	Aldh3a2	aldehyde dehydrogenase (NAD) activity metabolism	aldehyde dehydrogenase (NAD) activity oxidoreductase activity	endoplasmic reticulum microsome integral to membrane
12	1.05882353	1416425_at	peroxisome biogenesis factor 19	Pex19	peroxisome organization and biogenesis		peroxisome membrane
13	1.03676471	1415771_at	nucleolin	Ncl		nucleic acid binding DNA binding RNA binding	nucleus nucleolus

1. 同期率計算の改良

- **結果**
 - － パラメータを変化させ、実施した。今回の実施の最大値であるプローブセット数(45101)を与えた場合に、似ている化合物を与えた場合に、6化合物中5個の場合でも、いくつかの遺伝子が同一の動きをしていることを示す値となった。プローブ総数がもつとも適切なパターン
 - － 同期率を計算する途中で、個々の遺伝子の組合せでも計算している数値を出力することにした
- **課題**
 - － 途中結果の数値は非常に多くなるため、コンピュータの助けを借りずに調査できる量ではない。このため、PCを用いた自由検索、サーフェースとの結合を考慮する必要がある。

2. クラスタリングアルゴリズムMADIC



- 各プロープの実験誤差を考慮したクラスタリング方法
- 分類定義
 - RIGOROUS = クラスタの中心となるべきプロープ
 - SHELL = RIGOROUSの周りに存在するプロープ
 - ADHESIVE = クラスタの周りの存在
 - UNIQUE = 単独でクラスタを構成可能なプロープ
 - UNSTABLE = 単独でクラスタになるほど安定性のないプロープ

2. クラスタリングアルゴリズムMADIC

- Thalidomideを用いた計算実験
- 対象プローブ数=22690個
- 結果
 - クラスタ数 = 87個
 - RIGOROUS = 138個
 - SHELL = 18,756個
 - ADHESIVE = 3,664個
 - UNIQUE = 122個
 - UNSTABLE = 10個

2. クラスタリングアルゴリズムMADIC



- The 16th International Conference on Genome Informatics (平成18年12月20日)にて発表
- Genome Informatics, Volume 16, No. 2 (2005)に掲載
- 日本バイオインフォマティクス学会のホームページにて公開

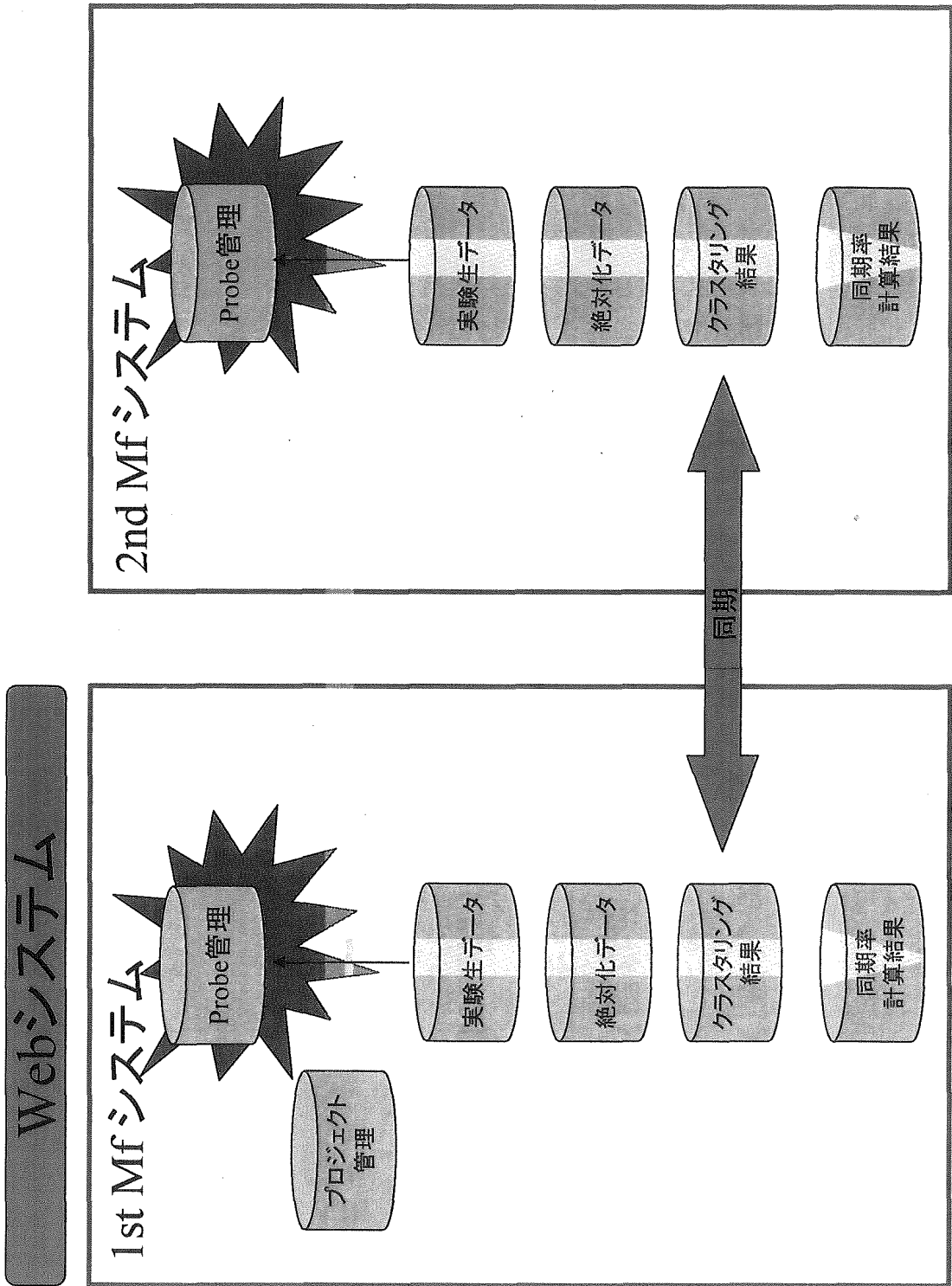
3. 2 システム間の並列化

問題点

- データ登録が両システムで独立して存在する
 - 生データ登録の際にAffyIDの対応表が自動生成なので、登録順番により、対応が異なる可能性が存在する。
 - 同期率計算で生データを必要とする
- Webが1stSystemだけで利用可能
 - 遺伝子リストが生成できない
 - クラスタリング対象の絞込みができない

3. 2システム間の並列化

- 問題点



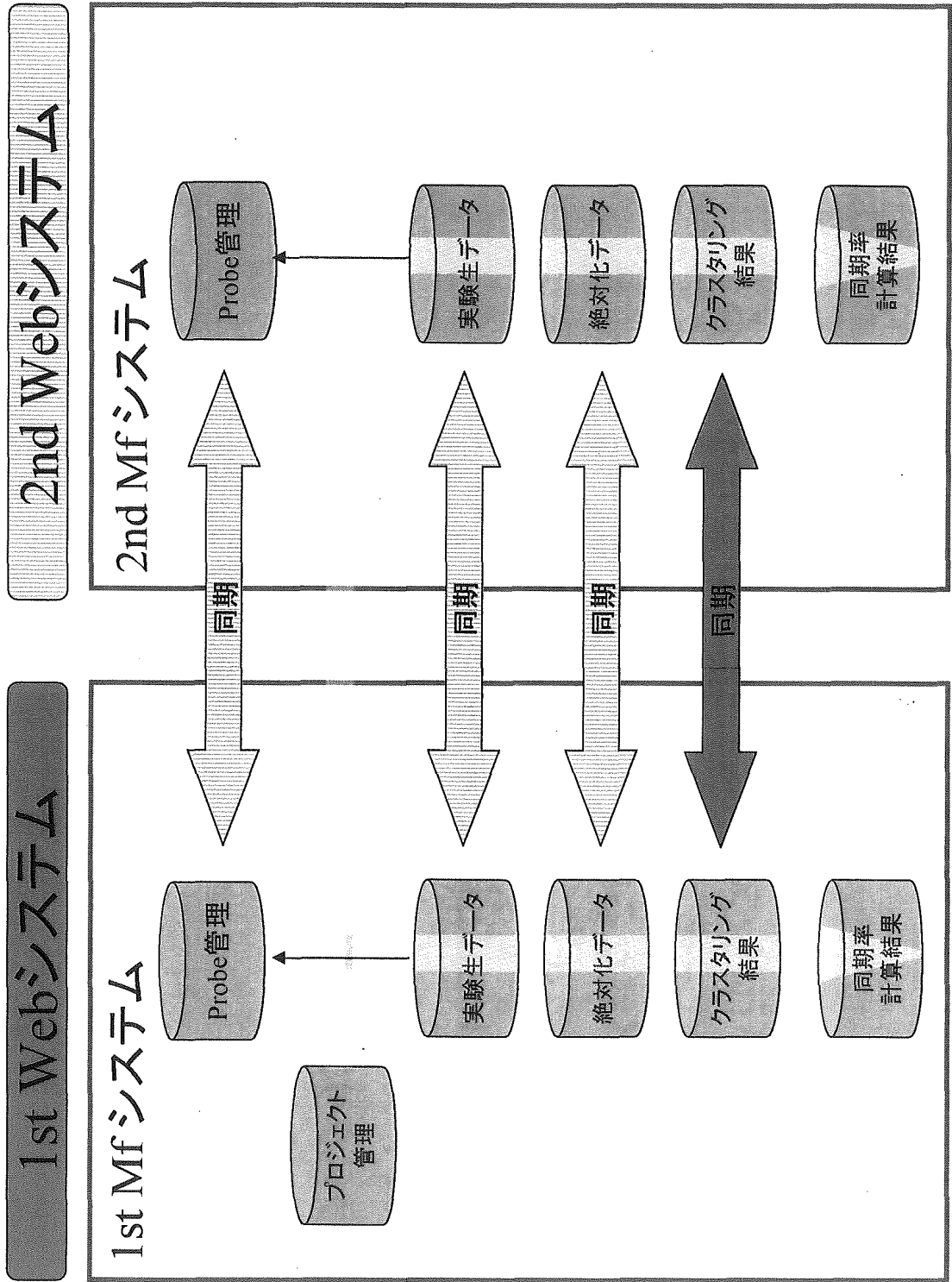
3. 2 システム間の並列化

問題点

- データ登録が両システムで独立して存在する
 - 生データ登録の際にAffyIDの対応表が自動生成なので、登録順番により、対応が異なる可能性が存在する。
 - 同期率計算で生データを必要とする
- Webが1stSystemだけで利用可能
 - 遺伝子リストが生成できない
 - クラスターリング対象の絞込みができない

3. 2システム間の並列化

- 対応結果



Ⅱ. 分担研究報告書

分担研究課題名:生殖毒性に関わる毒性発現メカニズムの解析

分担研究者 江馬 眞 国立医薬品食品衛生研究所・総合評価研究室

研究協力者 広瀬明彦 国立医薬品食品衛生研究所・総合評価研究室

研究要旨

本研究は、生殖障害を引き起こす物質のスクリーニングや毒性予測のための因子同定の足がかりとすることを目的としており、平成 17 年度では、ジブチルスズ(DBTCI)の胚致死作用についてICRマウスを用いて調べた。マウスの妊娠0-3日または妊娠4-7日に7.6-30.4 mg/kg/dayのDBTCIを強制経口投与した。妊娠0-3日の30.4 mg/kg/day投与で妊娠率の低下、着床前胚死亡率の上昇がみられた。妊娠0-3日の15.2 mg/kg/day以上の投与、妊娠4-7日の7.6 mg/kg/day以上の投与で着床後胚死亡率の上昇が認められた。これらの結果から、DBTCIはラットにおけると同様、マウスにおいても生殖障害を惹起することが明らかとなった。

A. 研究目的

生殖毒性を示す環境化学物質の中でも、有機スズ化合物はプラスチック等の可塑剤として大量に生産されており、そのなかでもジブチルスズ(DBTCI)は最も多く使用されている化合物であり、巻き貝にインポセックスを惹起するトリブチルスズの主要な代謝物としても知られている。ジブチルスズは巻き貝のインポセックスは惹起しないが、ラットに対しては強い生殖発生毒性を示す。我々は、ジブチルスズをラットの妊娠中期に投与したときには胎児奇形を誘発し、また、ラットの妊娠初期に投与したときには早期胚致死作用を起こすことを報告してきた。また、ラットにおけるDBTCIによる着床阻害は子宮の機能の低下、すなわち、子宮の脱落膜形成の抑制によって起こることを示唆した。

本研究においては、このような典型的な生殖毒性を示す物質としてDBTCIを選択し、DBTCIによる着床阻害における母体側の要因としての子宮の機能低下の発現機序を明らかにすると共に、生殖

障害を引き起こす物質のスクリーニングや毒性予測のための因子同定の足がかりとすることを目的とした。

B. 研究方法

ラットでしか検討されていないDBTCIによる早期胚致死作用の検出系にマウスの適用性に関して検討するため、ICRマウスの妊娠初期にDBTCIを投与し、惹起される生殖障害について検討した。

被験物質: Dibutyltin dichloride (DBTCI) (東京化成工業株式会社、D 0223, Di-n-butyltin Dichloride、ロットGG01)を用いた。

使用動物: マウス(Crj:CD1(ICR):日本チャールスリバー)を8週齢で購入し、11日間の検疫を行った後に使用した。

投与: 被験物質の調製: 調製は投与当日に行った。溶解を容易にするため、秤量前にDBTCIを乳鉢で細粒化した。秤量可能な適当量を量り取り、媒体(オリーブ油、和光純薬工業株式会社)に溶解して、高濃度液を作製した後、さらに媒体で希釈して所定濃度のDBTCI溶液を作製した。使用ロットの