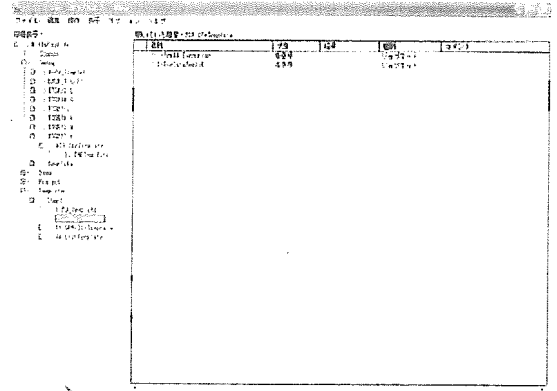


5 Surface情報の作成

5-1 JP 1におけるジョブの新規作成

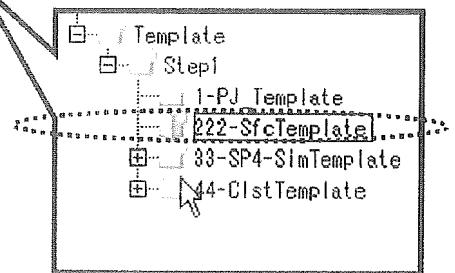
① Surfaceテンプレートのコピー

JP 1の左側に表示される
/MilleFeuille/Template/Step1/222-SfcTemplate
を右クリックし、コピーを選択する。



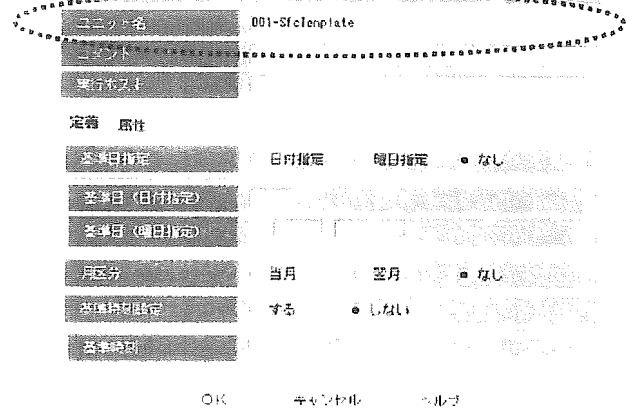
② Surfaceテンプレートの貼り付け

JP 1の左側に表示される、
2-1で作成したプロジェクトの
ジョブグループ
(例：/MilleFeuille/Project/TTG27-L)
を右クリックし、貼り付けを選択する。



③ Surface名の入力

/MilleFeuille/Project/TTG27-Lの下に
②で作成したジョブグループ
(222-SfcTemplate)が作成されて
いるので、それを右クリックし、
ユニット名にSurface名(*)を入力後、
OKボタンを押す。



(*) ここで入力するSurface名はマスタファイル作成用GUIツールで
加工されたSurface情報で、Surface_ID (3バイト) +区切り文字(-)+
Surface_informationの先頭26文字(?)。

5 Surface情報の作成

5-2 一次QCの実行

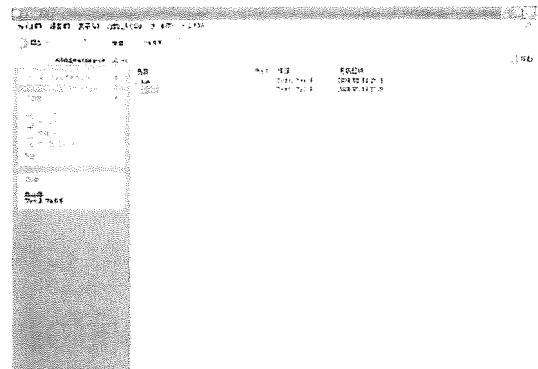
① 実行登録

5-1で作成したJP1上のSurfaceのジョブグループにある1-Scal3_Execution (ジョブネット) を右クリックし、実行登録を選択する。

名前	状態	結果	種別
1-Scal3_Execution	未登録		ジョブネット
2-ExedataRegist	未登録		ジョブネット

② 即時実行

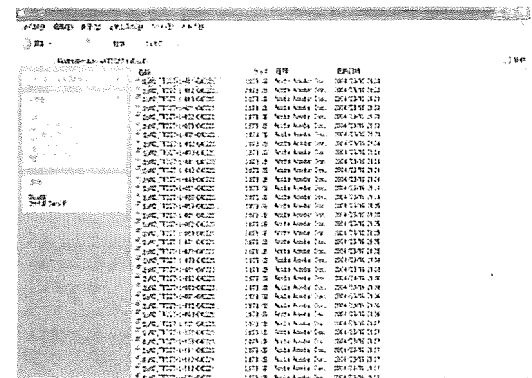
実行方法から即時実行を選択し、OKボタンを押す。



③ 実行結果の確認

ジョブが正常終了すると、
の下に該当PJフォルダ下

(例：
に新たにScal3フォルダが作成され、
順次PDFファイルが作成される。



5 Surface情報の作成

5-3 実験データのTeradata登録とSurfaceデータ作成

① 実行登録

5-1 で作成したSurfaceのジョブグループにある2-ExpDataRegist（ジョブネット）を右クリックし、実行登録を選択する。

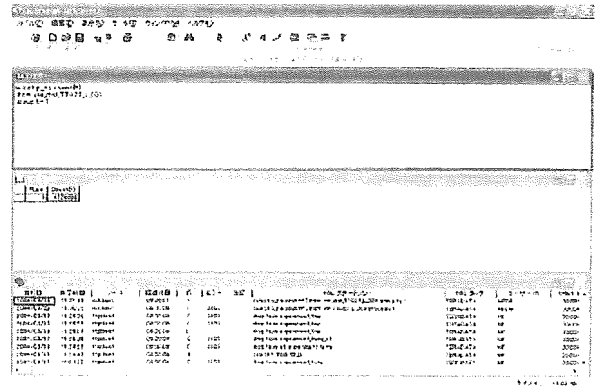
名前	状態	結果	種別
1-Scal3 Execution	未登録		ジョブネット
2-ExpDataRegist	未登録		ジョブネット

② 即時実行

実行方法から即時実行を選択し、OKボタンを押す。

③ 実行結果の確認1

ジョブが正常終了すると、Teradataに実験データがロードされ、ビューが作成されます。SQL Assistantにてビューが参照可能です。ビュー名は、
viw_absl_[PJ_Name]_[SurfaceID]_P。



ジョブID	ジョブ名	状態	結果
1000-0000	1000-0000	成功	
1000-0001	1000-0001	成功	
1000-0002	1000-0002	成功	
1000-0003	1000-0003	成功	
1000-0004	1000-0004	成功	
1000-0005	1000-0005	成功	
1000-0006	1000-0006	成功	
1000-0007	1000-0007	成功	
1000-0008	1000-0008	成功	
1000-0009	1000-0009	成功	
1000-0010	1000-0010	成功	

④ 実行結果の確認2

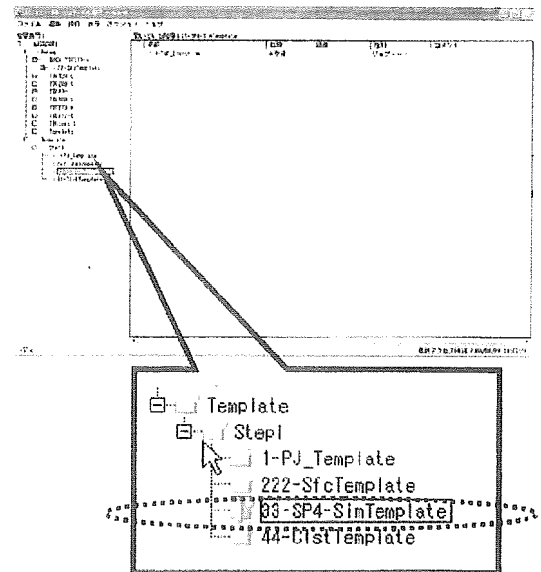
ジョブが正常終了すると
の下の該当PJフォルダ下
(例：) に
新たにSurfaceフォルダが作成され、その下に
5-2で入力したSurface-Noのフォルダ
が作成されます。このフォルダ配下に
Surface入力ファイルが8ファイル出力
されます。

ここでは、初めに、MFCMF（NIHS様アプリケーション）を実行し、PreCalc data（TMF計算入力ファイル）の作成を行います。次に、PreCalc dataを入力として、TMF計算を実行し、結果をデータベースへロードを行います。そしてクラスタリング入力ファイルである、CISファイルの作成を行います。

6-1 JP1におけるジョブの新規作成

① Sim(*1)テンプレートのコピー

JP1の左側に表示される /MilleFeuille/Template/Step1/33-SP4SimTemplate を右クリックし、コピーを選択する。



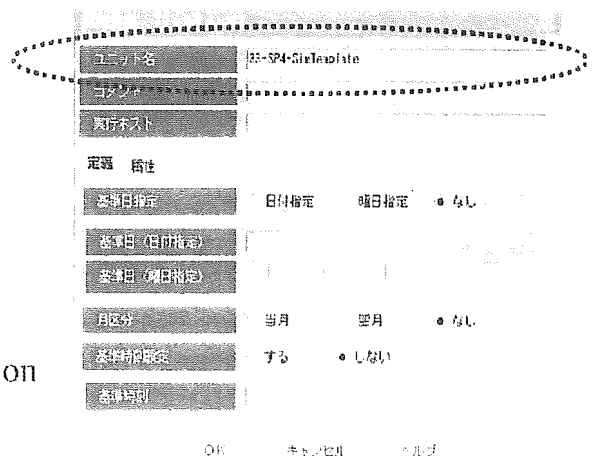
(*1) Similarity

② Simテンプレートの貼り付け

JP1の左側に表示される、4-1で作成したSurfaceジョブグループを右クリックし、貼り付けを選択する。

③ Sim情報の入力

②で作成したフォルダを右クリックし、ユニット名にTMF名(*2)を入力後、OKボタンを押す。



(*2) ここで入力するTMF名は、
TMFNO+TMFmode(3バイト)+TMF_information
(例：33-SP4-Simtemplate)

6-2 TMF計算の実行

① 実行登録

6-1で作成したTMFの
ジョブグループにある
I-TMF_Execution (ジョブネット) を
右クリックし、実行登録を選択する。

名前	状態	結果	種別
I-TMF_Execution	未登録		ジョブネット

② 即時実行

実行方法から即時実行を選択し、
OKボタンを押す。

③ 実行結果の確認

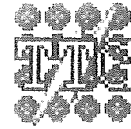
ジョブが正常終了すると、
配下に、
CISファイルが作成される。

CISファイル名：[PJ-Name]-[SurfaceNo]-[TMFNo].CIS
(例：TTG27-L-001-01.CIS)

7 CIFファイルの作成

CIFファイルの作成方法を簡単に解説します

各クライアントより、CIC.exe を実行してください



CIC.exe

① CISファイルより、各項目に必要事項を登録してください

Cluster Information Creator ver 0.2.1

Project Name
0006 TTG109-K

Project Info
Project Information Test

Surface Info
Surface Information Test

TMF Info
TMFtest20040322

Average	SD	Max	Min	90%tile	50%tile
0.856114	0.031738	0.972627	0.752188	0.855149	0.898991

Clustering Algorithm p q
DensityClustering 1 0.8101667910

Cluster No

Cluster Info

#	Select	SimRank	Alpha	Density
1	<input type="checkbox"/>	3	0.9667014797	3
2	<input type="checkbox"/>	4	0.9666646968	3
3	<input type="checkbox"/>	5	0.9661340945	3
4	<input type="checkbox"/>	6	0.9643148209	3

Graph Y-axis: 0.82 to 0.96
Graph X-axis: 100,000 to 400,000

Table 1. Maternal findings in mice given DBTCI by gastric intubation on days 0 to 3 of pregnancy

DBTCI (mg/kg)	0 (control)	7.6	15.2	30.4
No. of females successfully mated	12	12	12	12
No. of females shown clinical signs				
Dead	0	1	0	0
Moribund condition (euthanized)	0	1	1	1
Vaginal discharge	0	1	0	0
Jaundice	0	2	7*	10*
Decreased locomotor activity	0	2	1	1
Hypothermia	0	1	1	1
Soil of perigenital fur	0	0	1	0
Initial body weight (g) ^a	27.4 ± 2.0	27.2 ± 2.1	27.2 ± 2.4	27.2 ± 2.1
Body weight gain (g) ^a				
Days 0-4	1.7 ± 1.1	0.6 ± 1.2	1.2 ± 1.6	0.3 ± 0.9*
Days 4-8	2.9 ± 1.5	2.5 ± 2.6	2.1 ± 2.0	1.6 ± 1.5
Days 8-18	20.1 ± 9.1	21.3 ± 12.4	13.6 ± 12.2	8.6 ± 12.2
Adjusted weight gain ^b	8.9 ± 3.4	9.9 ± 3.8	7.9 ± 4.8	5.3 ± 5.0
Food consumption (g) ^a				
Days 0-4	18.2 ± 1.8	15.0 ± 1.9*	16.7 ± 3.2	14.8 ± 2.3*
Days 4-8	22.9 ± 4.9	22.0 ± 2.7	21.7 ± 3.5	20.9 ± 3.5
Days 8-18	71.7 ± 10.1	71.0 ± 12.5	64.6 ± 13.3	57.8 ± 13.4*

^a Values are given as mean ± SD.^b Adjusted weight gain refers to body weight gain excluding the uterus.* Significantly different from the control, $P < 0.05$.

Table 2 Reproductive findings in mice given DBTCI by gastric intubation on days 0 to 3 of pregnancy

DBTCI (mg/kg)	0 (control)	7.6	15.2	30.4
No. of females successfully mated	12	12	12	12
No. of nonpregnant females	1	3	4	7*
No. of pregnant females	11	9	8	5*
No. of implantations per female ^{ab}	9.5 ± 5.1	9.8 ± 7.1	8.3 ± 7.0	5.4 ± 6.7
Preimplantation loss per female (%) ^{ab}	9.7	29.7 ^g	34.0	58.3*
No. of pregnant females survived until scheduled sacrifice	11	8	7	4
No. of litters totally resorbed	0	0	1	1
No. of corpora lutea per litter ^{ac}	10.5 ± 4.3	13.1 ± 4.9	12.4 ± 4.4	13.3 ± 1.3
No. of implantations per litter ^{ac}	10.4 ± 4.3	12.6 ± 4.9	12.3 ± 4.4	13.3 ± 1.3
Preimplantation loss per litter (%) ^{cd}	1.5	3.3	1.1	0
No. of postimplantation loss per litter ^{ac}	1.0 ± 1.0	1.1 ± 1.5	4.1 ± 3.2	4.0 ± 5.4
Postimplantation loss per litter (%) ^{ce}	10.1	14.1	41.3*	32.2
No. of live fetuses per litter ^{ac}	9.4 ± 4.2	11.5 ± 5.3	8.1 ± 5.0	9.3 ± 6.2
Sex ratio of live fetuses (male / female)	50 / 53	47 / 45	30 / 27	21 / 16
Body weight of live fetuses (g) ^a				
Male	1.54 ± 0.19	1.30 ± 0.12*	1.14 ± 0.22*	1.12 ± 0.10*
Female	1.42 ± 0.15	1.28 ± 0.20	1.08 ± 0.26*	1.01 ± 0.11*
External examinations of fetuses				
No. of fetuses (litters) examined	103(11)	92(8)	57(6)	37(3)
No. of fetuses (litters) with anomalies	1(1)	0	1(1)	0
Cleft palate	1	0	1	0
Kinked tail	0	0	1	0
Placental weight (mg) ^a	125 ± 56	116 ± 15	120 ± 17	119 ± 16

^a Values are given as mean ± SD.

^b Values are obtained from females successfully mated.

^c Values are obtained from pregnant females survived until scheduled sacrifice.

^d [(No. of corpora lutea - no. of implantations)/no. of corpora lutea] x 100.

^e (No. of resorptions and dead fetuses/no. of implantations) x 100.

^g Value are obtained from 11 females because corpora lutea were indistinguishable in one female.

* Significantly different from the control, $P < 0.05$.

Table 3. Maternal findings in mice given DBTCI by gastric intubation on days 4 to 7 of pregnancy

DBTCI (mg/kg)	0 (control)	7.6	15.2	30.4
No. of females successfully mated	12	12	12	12
No. of females shown clinical signs				
Dead	0	0	1	0
Moribund condition (euthanized)	0	0	0	1
Vaginal discharge	0	0	4*	4*
Jaundice	0	0	2	6*
Decreased locomotor activity	0	0	0	1
Hypothermia	0	0	0	1
Initial body weight (g) ^a	28.1 ± 1.8	28.1 ± 1.8	28.1 ± 1.8	28.2 ± 1.7
Body weight gain (g) ^a				
Days 0-4	1.6 ± 1.0	1.9 ± 0.8	1.2 ± 1.2	1.6 ± 0.9
Days 4-8	3.1 ± 1.1	1.9 ± 1.6	0.5 ± 1.8*	-0.3 ± 2.1*
Days 8-18	24.9 ± 9.1	14.9 ± 8.9*	2.9 ± 6.3*	2.4 ± 2.4*
Adjusted weight gain ^b	8.3 ± 3.5	8.1 ± 4.3	3.2 ± 5.3*	3.8 ± 3.2*
Food consumption (g) ^a				
Days 0-4	18.5 ± 1.9	18.9 ± 2.4	18.4 ± 2.7	18.8 ± 1.3
Days 4-8	21.8 ± 1.9	19.2 ± 2.6	16.4 ± 3.3*	15.6 ± 3.5*
Days 8-18	74.5 ± 12.1	67.7 ± 9.9	55.2 ± 12.6*	57.2 ± 6.2*

^a Values are given as mean ± SD.

^b Adjusted weight gain refers to body weight gain excluding the uterus.

* Significantly different from the control, $P < 0.05$.

Table 4 Reproductive findings in mice given DBTCI by gastric intubation on days 4 to 7 of pregnancy

DBTCI (mg/kg)	0 (control)	7.6	15.2	30.4
No. of females successfully mated	12	12	12	12
No. of nonpregnant females	1	1	2	1
No. of pregnant females	11	11	10	11
No. of implantations per female ^{ab}	12.6 ± 4.4	13.2 ± 4.6	7.5 ± 5.7*	11.1 ± 5.4
Preimplantation loss per female (%) ^{ab}	8.9	8.9	24.7	18.3 ^g
No. of pregnant females survived until scheduled sacrifice	11	11	9	10
No. of litters totally resorbed	0	2	8*	10*
No. of corpora lutea per litter ^{ac}	13.8 ± 2.1	14.5 ± 2.3	10.6 ± 5.2	13.9 ± 2.8
No. of implantations per litter ^{ac}	13.7 ± 2.1	14.4 ± 2.2	9.4 ± 5.1	12.7 ± 4.1
Preimplantation loss per litter (%) ^{cd}	0.6	0.6	10.7	10.2
No. of postimplantation loss per litter ^{ac}	0.6 ± 1.0	7.2 ± 6.1*	8.7 ± 4.8*	12.7 ± 4.1*
Postimplantation loss per litter (%) ^{ce}	4.3	48.3*	94.4*	100*
No. of live fetuses per litter ^{ac}	13.1 ± 2.0	7.2 ± 5.6*	0.8 ± 2.3*	0
Sex ratio of live fetuses (male / female)	82 / 62	50 / 29	4 / 3	
Body weight of live fetuses (g) ^a				
Male	1.45 ± 0.10	1.23 ± 0.10*	1.27	
Female	1.39 ± 0.10	1.18 ± 0.14*	1.18	
External examinations of fetuses				
No. of fetuses (litters) examined	144(11)	79(9)	7(1)	
No. of fetuses (litters) with anomalies	0	2(2)	0	
Omphalocele	0	1	0	
Exencephaly and open eyelids	0	1	0	
Placental weight (mg) ^a	102 ± 10	99 ± 12	114	

^a Values are given as mean ± SD.

^b Values are obtained from females successfully mated.

^c Values are obtained from pregnant females survived until scheduled sacrifice.

^d [(No. of corpora lutea - no. of implantations)/no. of corpora lutea] x 100.

^e (No. of resorptions and dead fetuses/no. of implantations) x 100.

^g Value are obtained from 11 females because corpora lutea were indistinguishable in one female.

* Significantly different from the control, $P < 0.05$.

表5 妊娠で10倍以上誘導された遺伝子のうちDBT投与により1.5分の1以下に有意に抑制された遺伝子

妊娠での増加率	妊娠マウスのDBT投与での減少率	Probe set ID	Gene Title
364.7	0.595	1455770_at	tryptophan 2,3-dioxygenase
102.0	0.598	1419943_s_at	cyclin B1
85.9	0.641	1422668_at	serine (or cysteine) proteinase inhibitor, clade B, member 9b
61.7	0.532	1454159_a_at	insulin-like growth factor binding protein 2
39.2	0.622	1457145_at	RIKEN cDNA 4931414L13 gene
31.8	0.63	1416558_at	maternal embryonic leucine zipper kinase
27.9	0.627	1423463_a_at	DNA segment, Chr. 2, ERATO Doi 750, expressed
25.9	0.66	1429216_at	cDNA sequence AY424292
23.8	0.665	1450157_a_at	hyaluronan mediated motility receptor (RHAMM)
20.7	0.627	1449207_a_at	kinesin family member 20A
18.2	0.662	1423774_a_at	protein regulator of cytokinesis 1
14.0	0.629	1447363_s_at	budding uninhibited by benzimidazoles 1 homolog, beta (S. cerevisiae)
11.8	0.526	1417262_at	prostaglandin-endoperoxide synthase 2
11.4	0.506	1460607_at	immunoglobulin superfamily, member 11
10.6	0.663	1452314_at	kinesin family member 11
8.7	0.651	1444024_at	cDNA sequence BC004701
8.6	0.649	1452924_at	RIKEN cDNA 2310007D09 gene
5.9	0.542	1453345_at	RIKEN cDNA 3830408G10 gene
5.8	0.64	1418589_a_at	myeloid leukemia factor 1
5.0	0.613	1425749_at	syntaxin binding protein 6 (amisyn)
4.9	0.582	1419127_at	neuropeptide Y
4.9	0.579	1417859_at	growth arrest specific 7
4.7	0.653	1431349_at	heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A/B
4.6	0.653	1435114_at	RIKEN cDNA D630024B06 gene
4.5	0.427	1460126_at	---
4.1	0.644	1420816_at	3-monooxygenase/tryptophan 5-monooxygenase activation protein, gamma polypeptide
3.8	0.556	1426076_at	cell division cycle 27 homolog (S. cerevisiae)
3.7	0.598	1416342_at	tenascin C
3.4	0.41	1421316_at	RIKEN cDNA 1110058A15 gene

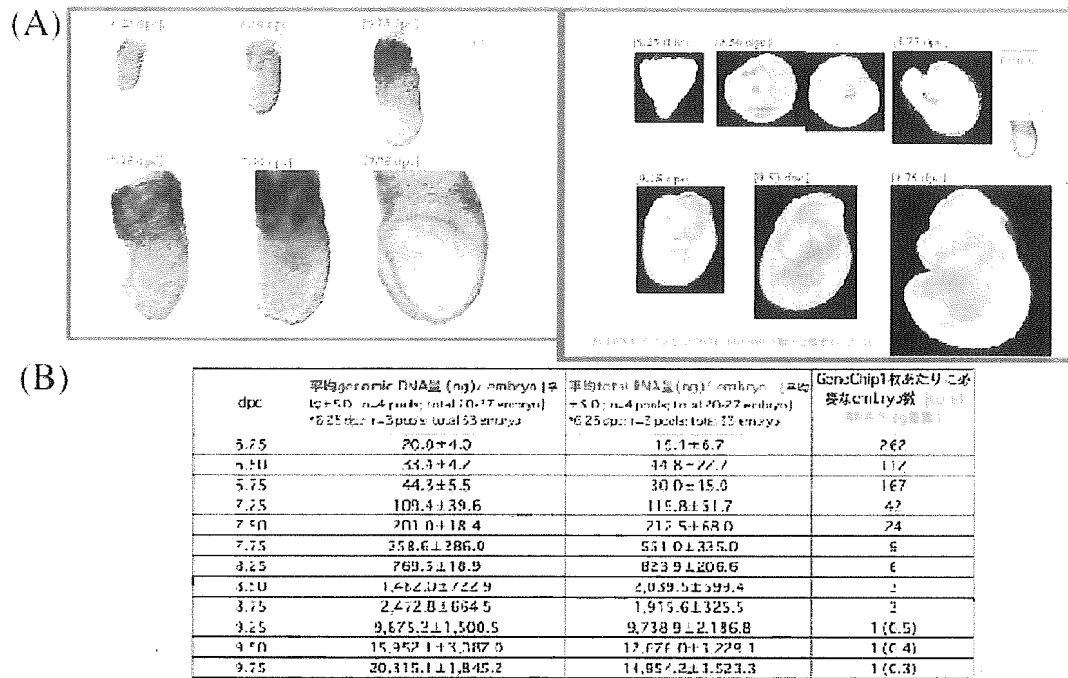


図1 マウス胎生6.25-9.75日胚 (全胚) (A) と、GeneChip1枚あたりに必要な各ステージにおける胚匹数の算出 (B)

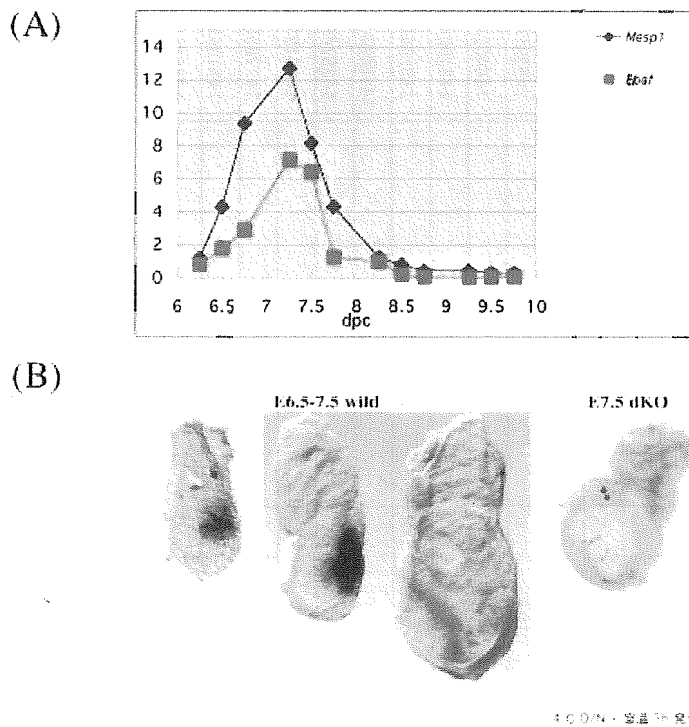


図2 マウス胚での*Mespl*と*Ebat*に関する遺伝子発現変化(A)とISHによる*Ebat*の発現(B)

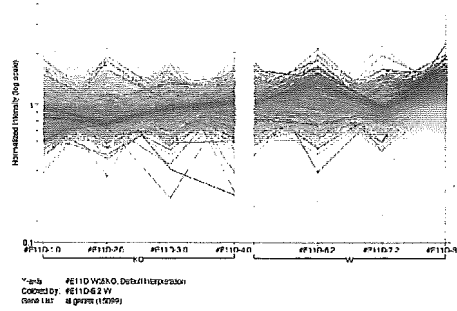


図1:p53-KO マウス(左)とWt マウス(右)の定常状態における遺伝子発現プロファイリング

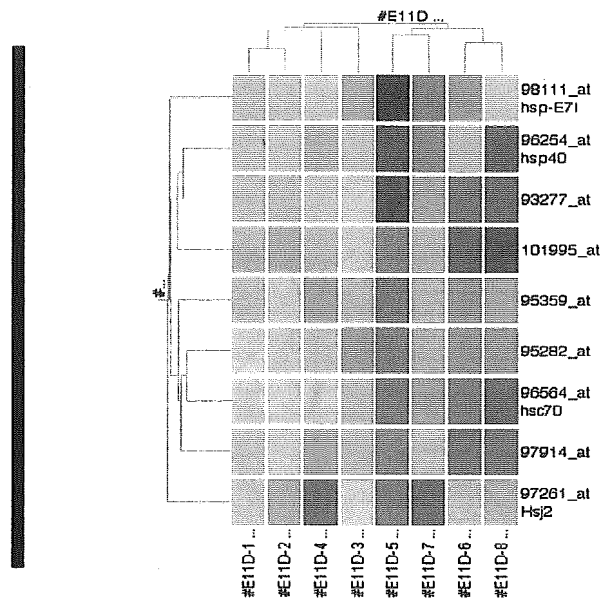


図2:p53-KO(左4検体)とWt(右4検体)の定常状態におけるストレス関連24遺伝子による tree 解析

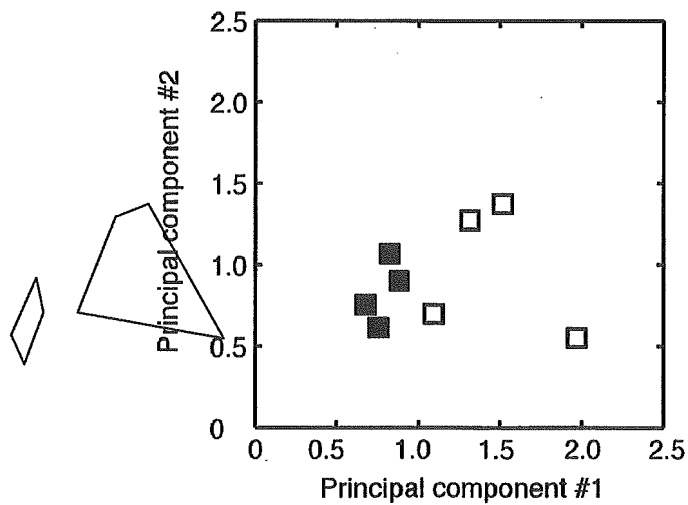


図3:p53-KO(■)とWt(□)の定常状態におけるストレス関連24遺伝子による要因解析

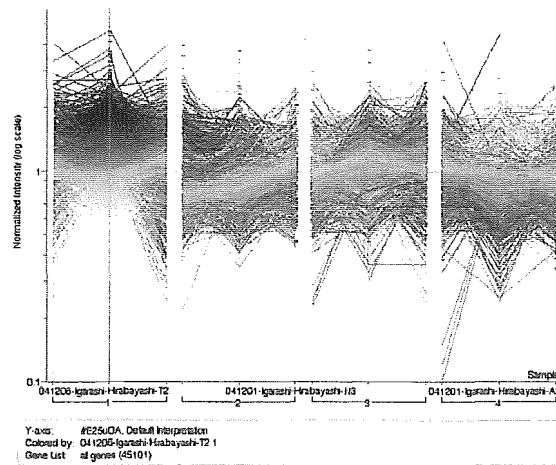


図4:Trx-KO(左:第1カラム)、Trx-Tg(右:第4カラム)及びそれぞれのWt(中央:第2、第3カラム)マウスの遺伝子発現プロファイリング

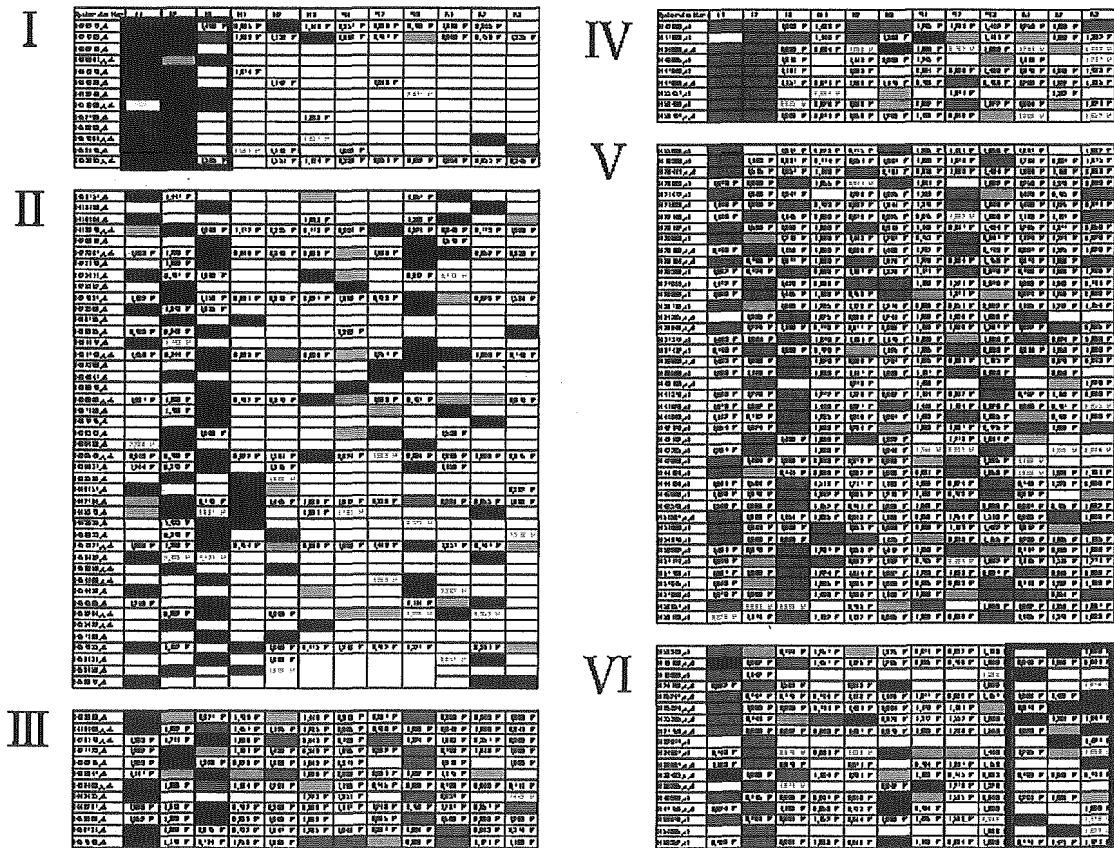


図5:Trx-KO(左端3カラム:T1~T3)、Trx-Tg(右端3カラム:A1~A3)及びそれぞれのWt マウス(中央6カラム:N1~N3 及び W1~W3)の各個体における発現強度によるヒートマップ。Trx-KO マウスでのTop100(左:I~III)及びBottom100(右IV~VI)の遺伝子について、KO 間での重複(I、IV)、KO と他の遺伝型マウスとの重複(II、V)及び逆転(III、VI)遺伝子を示す。

TOP100	common name	GenBank Accession #	description
1420272_at	Samhd1	AV340322	AV340322 RIKEN full-length enriched, adult male olfactory bulb <i>Mus musculus</i> cDNA clone 6430514F15 3' similar to U15635 <i>Mus musculus</i> IFN-gamma induced (Mg11) mRNA, mRNA sequence.
1427263_at	Xist	L04961	inactive X-specific transcript
1430218_at	4933424 M12Rik	AK016899	Adult male testis cDNA, RIKEN full-length enriched library, clone:4933424M12 product:unknown EST, full insert sequence
1438661_a_at	Arf2	AV023312	ADP-ribosylation factor 2
1441373_at		BB026958	Adult male pituitary gland cDNA, RIKEN full-length enriched library, clone:5330435L21 product:unknown EST, full insert sequence
1444828_at		BB040139	13 days embryo male testis cDNA, RIKEN full-length enriched library, clone:6030447G09 product:unknown EST, full insert sequence
1449248_at	Clcn2	NM_009900	chloride channel 2
1451866_a_at	Hgf	AF042856	hepatocyte growth factor
1452738_at	Stoml1	AK007508	stomatin-like 1
1456839_at		BM229188	7 days neonate cerebellum cDNA, RIKEN full-length enriched library, clone:A730054F13 product:unknown EST, full insert sequence
1457981_x_at	2810418 N01Rik	AV350371	AV350371 RIKEN full-length enriched, adult male cerebellum <i>Mus musculus</i> cDNA clone 6530427K16 3', mRNA sequence.
1459170_at		BG071113	Transcribed sequences
1459885_s_at	D13ErtD332e	AA190297	cytochrome c oxidase, subunit VIIc

図6: 図5の I に含まれる 13 遺伝子の内訳

	Trx-KO	Wt	Trx-Tg
のべ遺伝子数 (比率)	2/300 (0.67%)	7/600 (1.17%)	11/300 (3.67%)
P 値(対 Tg)	0.0412	0.0464	

図7: 図5の VI での Bottom100 から Top100 への逆転率

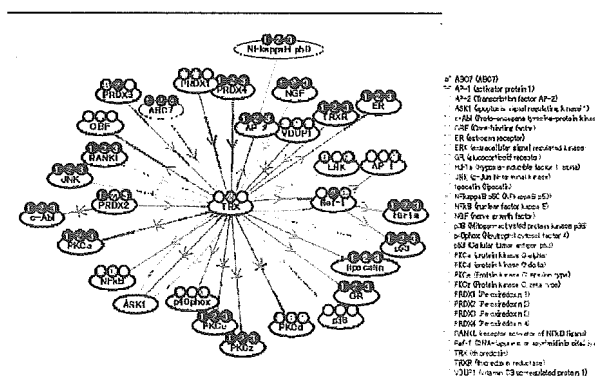


図8: KeyMolnet®による遺伝子発現解析: Trx-KO マウス 3 匹のそれぞれの遺伝子発現強度を当該遺伝子名の上部の小さな円の着色によって示している。

Fig. 1

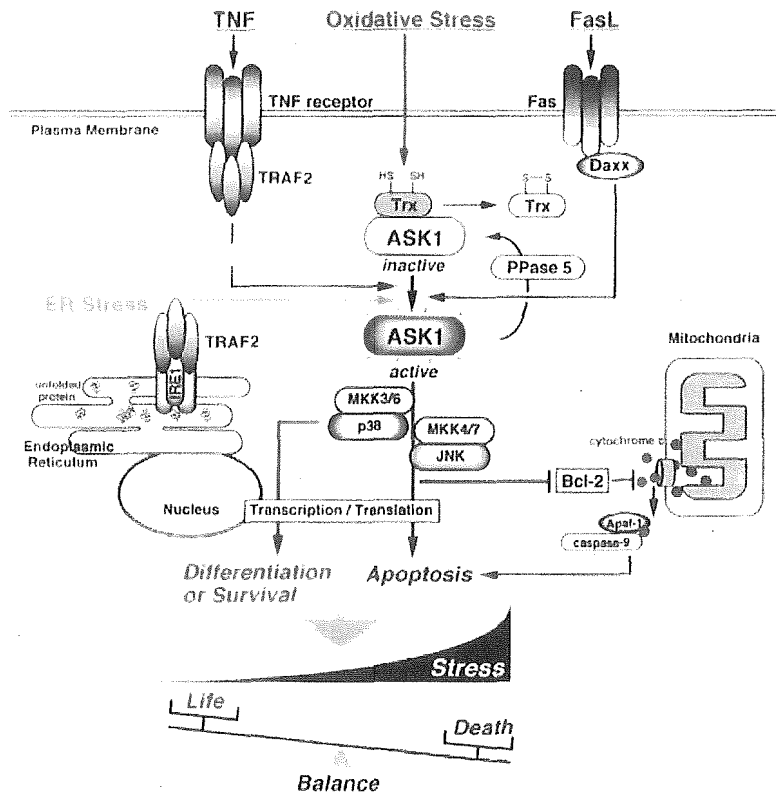
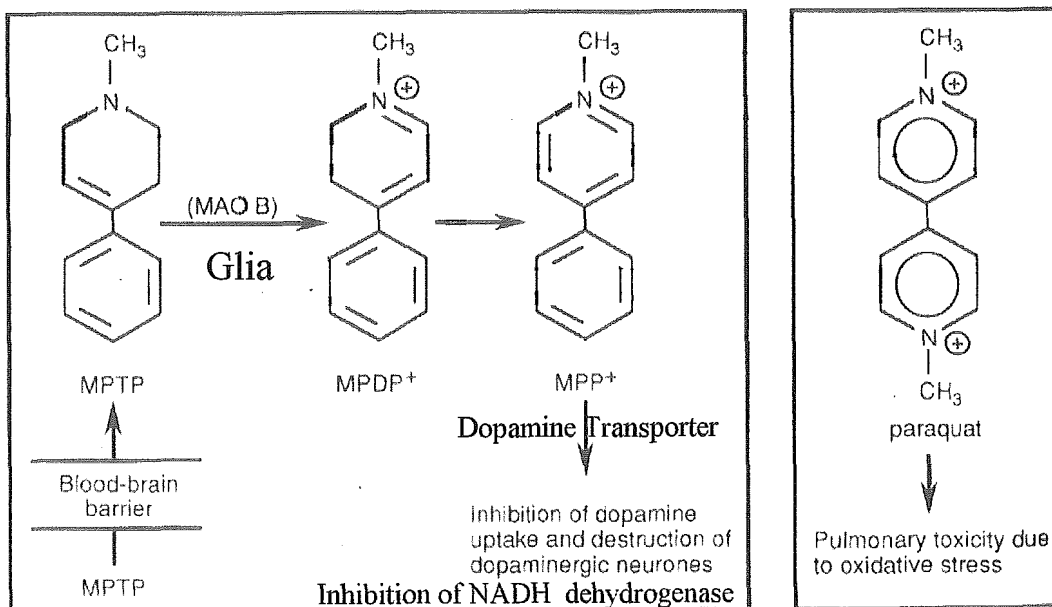


Fig. 2



パーキンソン病 = 黒質ドパミンニューロン死

肺胞細胞死

Langston (1983)

Fig. 3 MPTP投与による Parkinsonism

C57BL/6 マウス ♂

投与前1週間ポールテスト(1日1回, 開始時 9週齢)

投与; MPTP (30 mg/kg), s.c. 4hr間隔で2回

2回目投与後24hr 遺伝子発現解析用サンプリング(脳, 肝)

投与後1週間ポールテスト

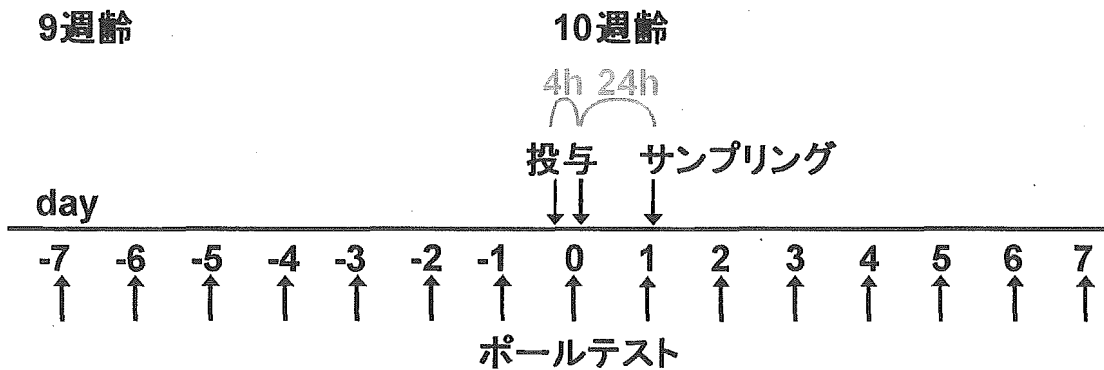
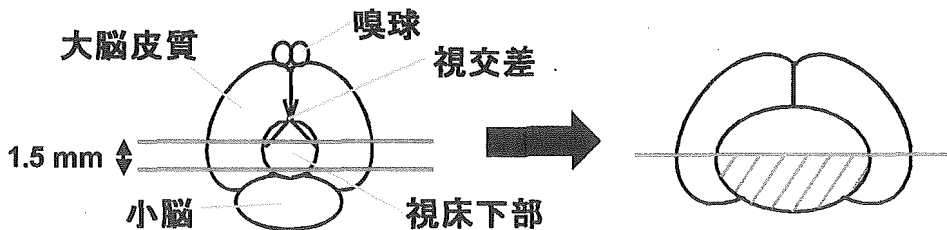


Fig. 4. 網羅的遺伝子発現解析

肝サンプリング: punch out 後RNA laterに浸漬

脳サンプリング: whole brainをRNA laterに一晩浸漬後, 視床下部の後部を 1.5 mm厚に切り出し, 中脳の下半分をサンプリング



Affymetrix GeneChip Mouse Genome 430 2.0(n=3) .

Scal法による絶対量化によるノーマライズ

解析・表示: MF surface, MF scatter software

Fig. 5. 野生型・ASK1ノックアウトの比較

MPTP処置に対する死亡率・

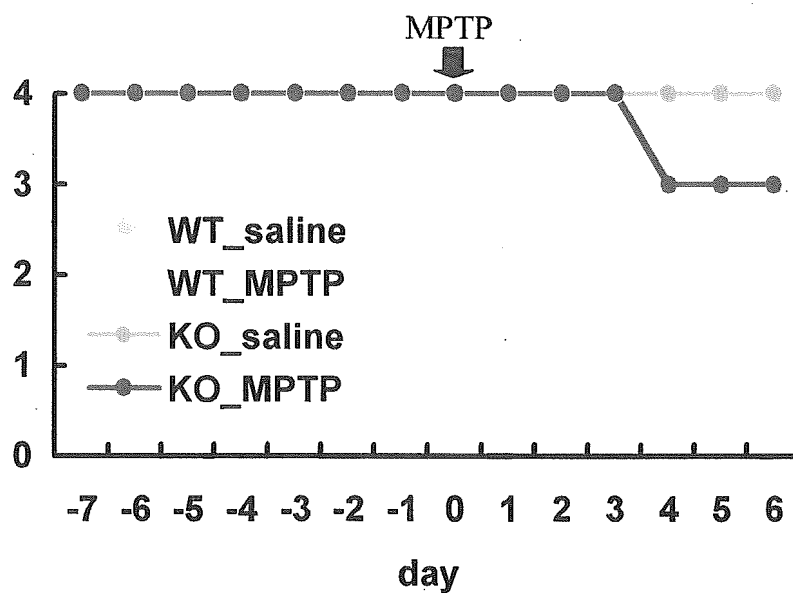


Fig. 6.

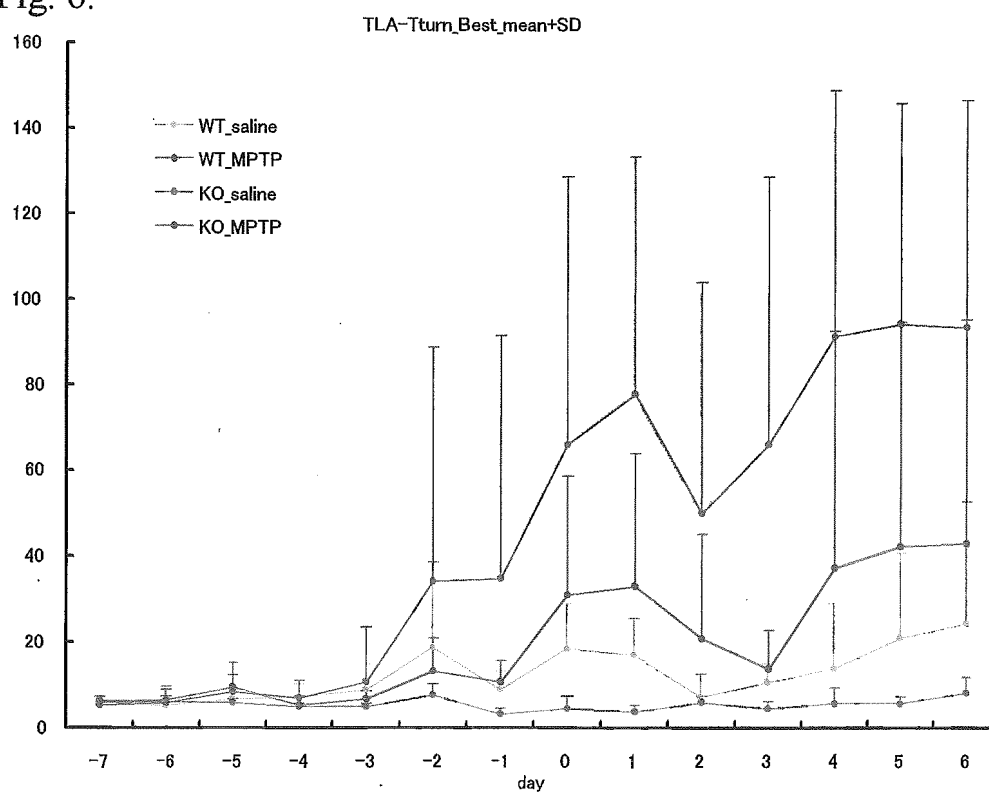


Fig. 7. 野生型・ASK1ノックアウトの比較
MPTPによる遺伝子発現変化

脳黒質サンプルにおけるtyrosinehydroxylase(TH)の発現

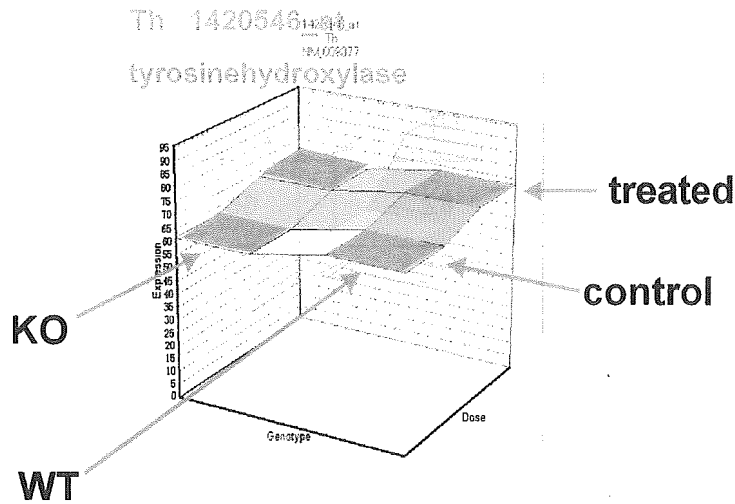


Fig. 8. 野生型マウスにおける MPTPの作用: 遺伝子発現変化

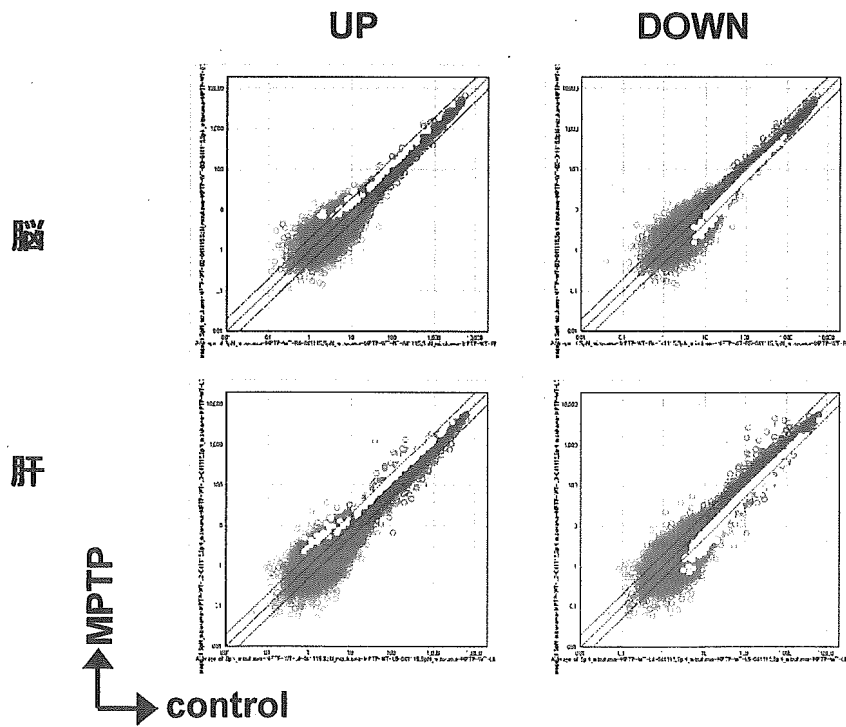


Table 1. 野生型マウスにおける MPTP の作用: 遺伝子発現変化

肝, 脳それぞれにつき,

1. 全サンプルで Absent call のプローブセットを 除く
2. control 群と MPTP 群の間で t検定 ($p < 0.05$)
3. MPTP 群で 1.2 倍以上増大したもまたは減少 したものを 抽出

変動プローブセット数	Up	Down
Brain	82	651
Liver	194	1264

Fig. 9. 脳・肝共通発現変動遺伝子

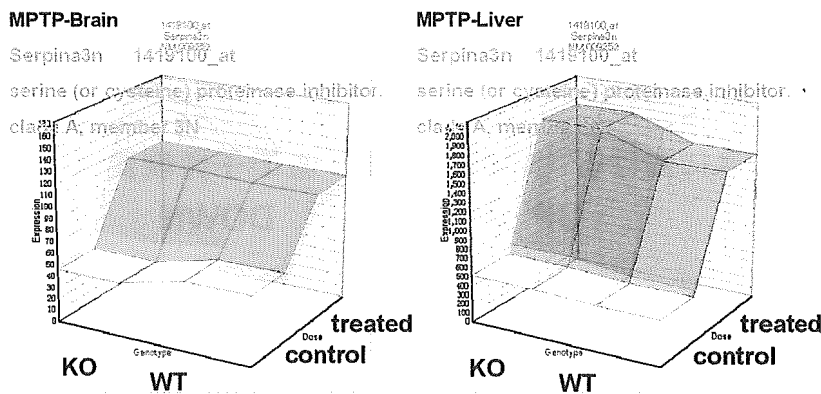


Fig. 10. 肝特異的発現変動遺伝子

