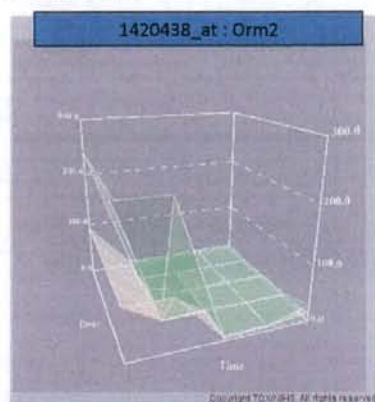


局所変動性指標 試行計算結果

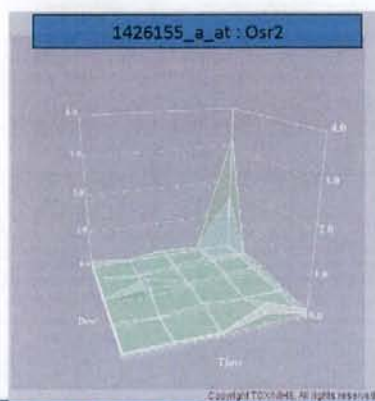
再現性が低いが、特殊な形状



2時間後、Vehicleで、再現性が悪い。(0時間は、2h、Vehicleのコピー)

局所変動性指標 試行計算結果

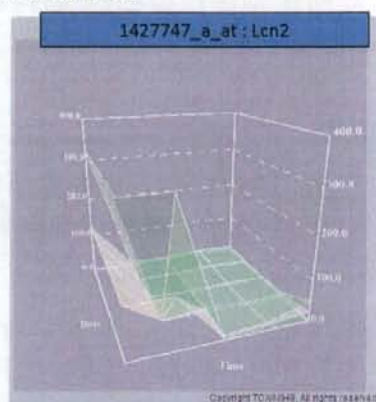
再現性が低いが、特殊な形状



24時間後、High-Dose、再現性が悪い。

局所変動性指標 試行計算結果

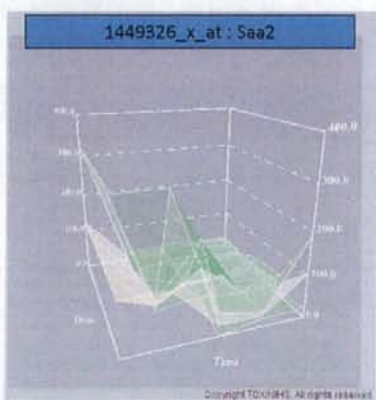
再現性が低いが、特殊な形状



2時間後、Vehicleで、再現性が悪い。(0時間は、2h、Vehicleのコピー)

局所変動性指標 試行計算結果

再現性が低いが、特殊な形状



Vehicleで、再現性が悪い。(0時間は、2h、Vehicleのコピー)

局所変動性指標 まとめ

- MADを用いた局所変動性指標とN=3の再現性指標の比較を実施した。
- 局所変動性指標と再現性指標は似たような分布を示しており、数値上で結合する扱いが可能である。また、単独指標では発見できない偶然性を見つけ出すことができ、併用することにより、価値のある遺伝子の発見が期待できる。
- 局所変動性指標と再現性指標と結合が可能であり、クラスタリング手法MADICにおいて統一的な取扱が可能である。

複数臓器比較

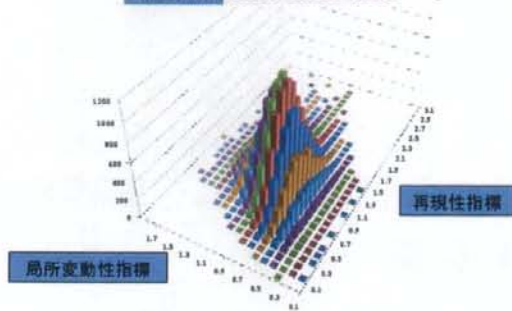
- 肝臓、脳、肺、腎臓で再現性指標と局所変動性指標の対比を実施し、評価する

No	Prj Name	化合物	臓器	Sfc ID
1	TTG020-L	TCDD	Liver	1
113	TTG040-K	Cisplatin	Kidney	1
110	TTG014-G	Formaldehyde	Lung	5
112	ITG016-G	Acetaldehyde	Lung	3
39	ITG047-L	Bisphenol-A	Testis	1
17	TTG040-L	Cisplatin	Liver	1

複數臟器比較

TTG020 (TCDD, Liver)

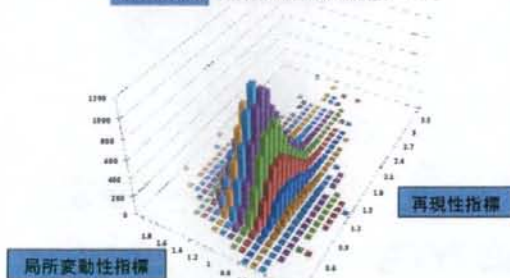
	平均	標準偏差	密度	相關係數
再現性指標	1.1734	0.3136	0.3111	0.3509
局部變動性指標	0.8586	0.2135	0.1598	



複數臟器比較

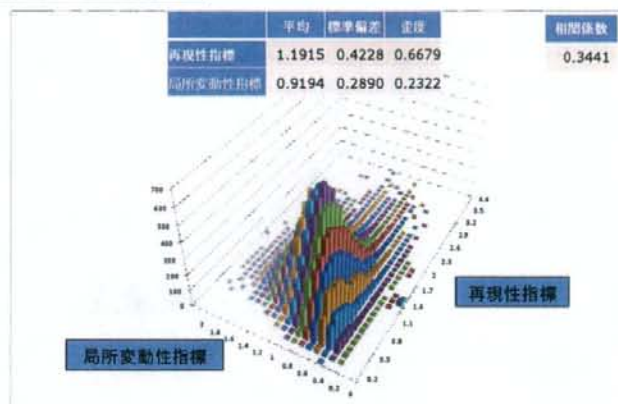
TTG040 (Cisplatin, Kidney)

	平均	標準偏差	密度	相關係數
再現性指標	1.2611	0.3248	0.7579	0.1573
局部變動性指標	0.9501	0.2084	-0.0529	



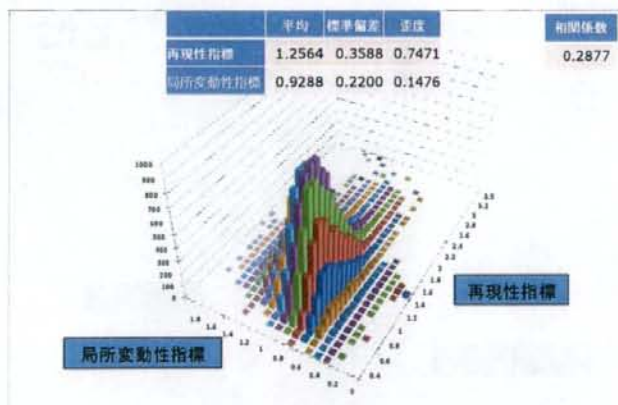
複數臟器比較

TTG014 (Formaldehyde, Lung)



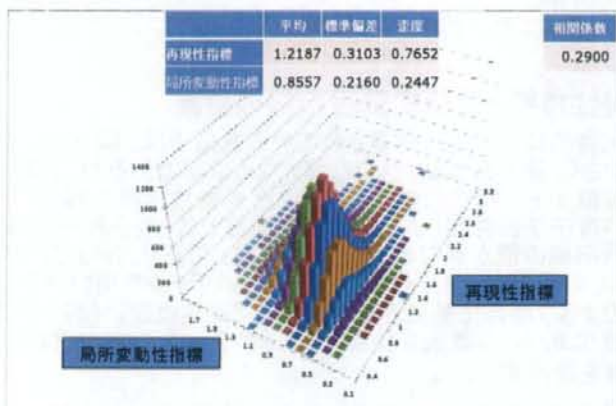
複數臟器比較

ITG016 (Acetaldehyde, Lung)



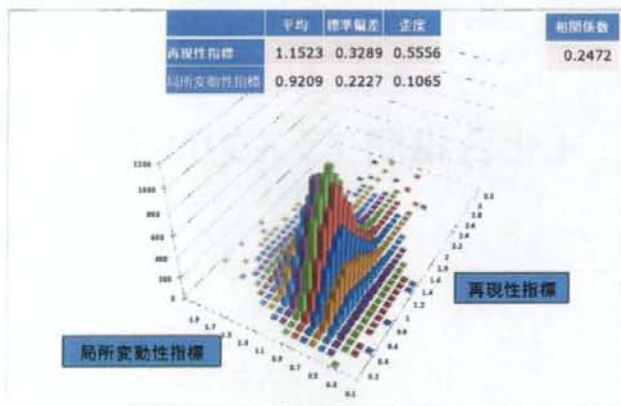
複數臟器比較

ITG047 (Bisphenol-A, Testis)



複數臟器比較

TTG040-L (Cisplatin, Liver)



複数臓器比較 まとめ

- 相関係数
 - TTG040において若干小さな値となった。
- 再現性指標と局所変動性指標の差異
 - 化合物により、強く誘導されている遺伝子は、両指標ともに小さく、逆であれば、大きな値となるはずであるが、再現性指標がある程度大きいのに、局所変動性指標が極端に小さい遺伝子が存在した。特に肺で顕著であった。単一個体で、両指標の値が異なることにより発生しており、N=3(全体で48)の限界と考えられる。(Nの大きいデータを用いれば、どのような場合に差異が発生するのかさらに深い検討が可能)このような状況を踏まえ、N=3のデータにおいては両指標を使用する。

4.化合物間クラスタリング

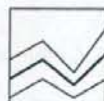
化合物間クラスタリング

- 目的:
 - 化合物間で反応の違いをみることで、クラスタリングを実施し、化合物と遺伝子相互の関係を明らかにする

化合物間距離の定義

- 化合物間距離の定義
 - 化合物が違えば、用量に対する反応が違うので、TMF値のような比較はできない。工夫が必要。

- ◆ 第1段階: Vehicle Onlyの情報は、時刻条件が一致しているので、比較が可能。
 - SDを考慮した距離を使用する(Maharanobis距離もどき)。SDが大きなものは距離が近いとみなす。



$$d_{ab} = \sqrt{\frac{E_{ab}^2}{\sigma_a \cdot \sigma_b}}$$

各遺伝子

E_{ab} : 化合物 ab 間の4時刻を用いた距離

σ_a : 化合物 a の4時刻全体の標準偏差

σ_b : 化合物 b の4時刻全体の標準偏差

遺伝子数分合計

化合物間距離の定義

◆第2段階: 化合物を添加した場合には、Vehicle Onlyとの比較で差が発生しているか?

Dose有



溶媒



引き算結果を用いて距離計算を行う?

化合物間距離の定義

- 全距離が定義できた場合の階層的クラスタリング
 - Single Link、Complete Link、Ward法などがある。
 - Ward法
 - 直感に沿った結果がしやすい
 - Single-Link
 - 空間凝縮の傾向: 新しくできたクラスタに、他のクラスタが結合しやすくなる
 - Complete-Link
 - 空間拡散の傾向: 新しくできたクラスタに、他のクラスタが結合しにくくなる
 - Lance-Williams updating formula
 - 階層的クラスタリングの統一表記方法

Dose0同士のクラスタリング

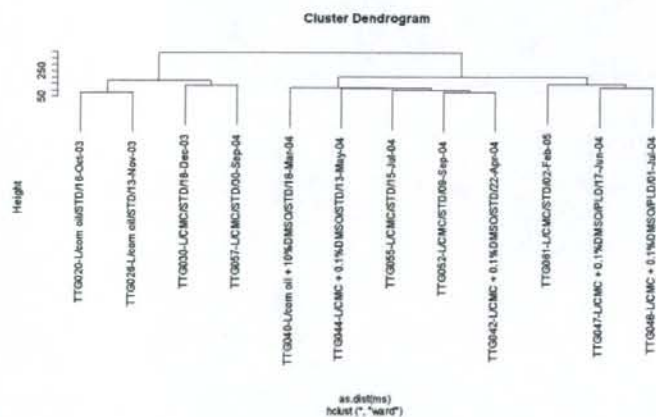
Dose0同士のクラスタリングを実施してみる。溶媒や餌種類の影響が大きいと予想される。

クラスタリング対象実験

	化合物	溶媒	餌種類	実験日
TTG030-L	N-Methylaniline	MC	STD	2003/12/18
TTG040-L	cisplatin	corn oil + 10%DMSO	STD	2004/3/18
TTG044-L	Clofibrate	MC + 0.1%DMSO	STD	2004/5/13
TTG052-L	all trans retinoic acid	MC	STD	2004/9/9
TTG055-L	N-ethyl-N-nitrosourea	MC	STD	2004/7/15
TTG061-L	Paraquat 2nd	MC	STD	2005/2/2
TTG020-L	TCDD_TEST20040323	corn oil	STD	2003/10/16
TTG026-L	TCDF	corn oil	STD	2003/11/13
TTG042-L	Ethinyl Estradiol	MC + 0.1%DMSO	STD	2004/4/22
TTG047-L	Bisphenol A	MC + 0.1%DMSO	PLD	2004/6/17
TTG048-L	Genistein	MC + 0.1%DMSO	PLD	2004/7/1
TTG057-L	indigo	MC	STD	2004/9/30

Dose0同士のクラスタリング

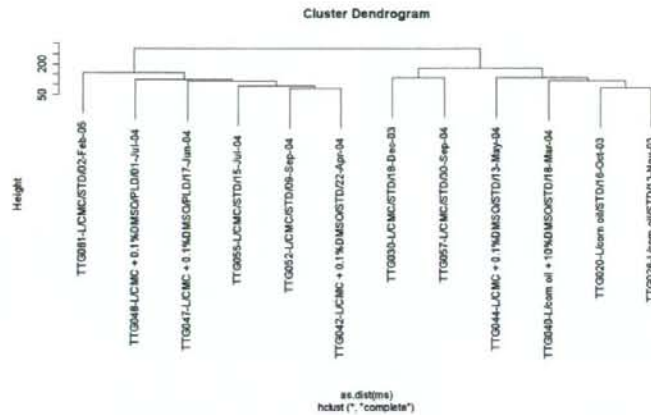
結果(Ward法、全時刻の平均発現量が細胞あたり100コピー以上の遺伝子)



溶媒によりツリー分岐がされている

Dose0同士のクラスタリング

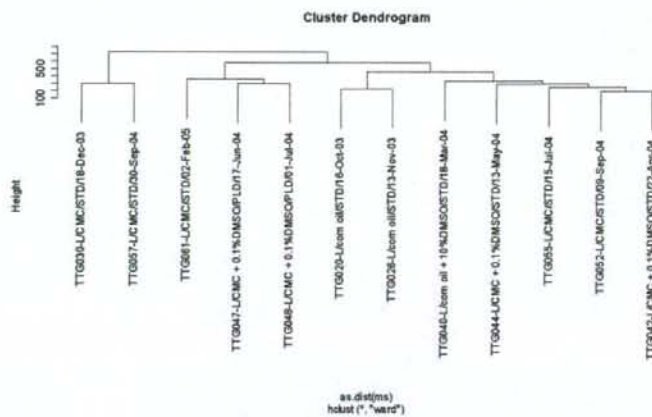
結果(Complete法、全時刻の平均発現量が細胞あたり100コピー以上の遺伝子)



溶媒によりツリー分岐がされている

Dose0同士のクラスタリング

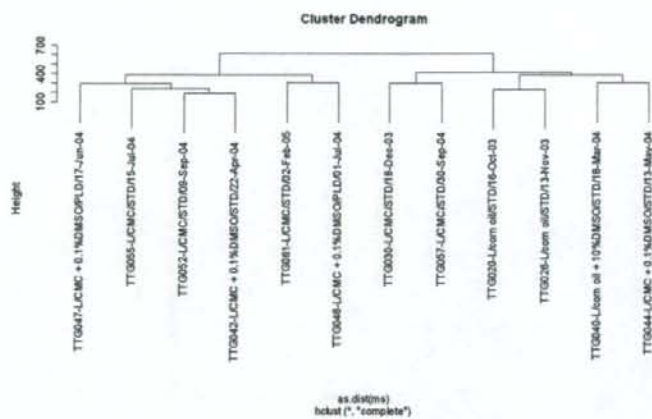
結果(Ward法、全時刻の平均発現量が細胞あたり10コピー以上の遺伝子)



溶媒によりツリー分岐がされているとは言えないような構造が現れた

Dose0同士のクラスタリング

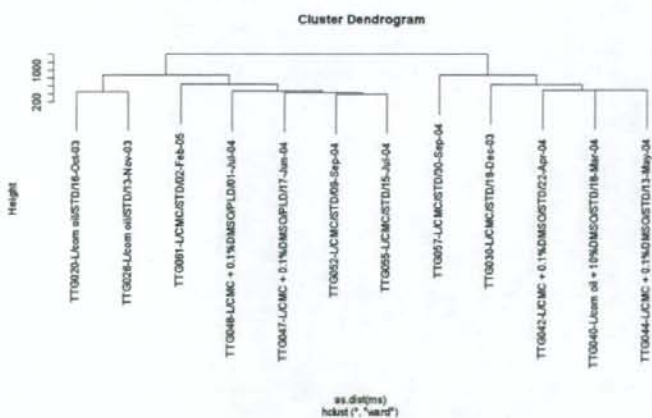
結果(Complete法、全時刻の平均発現量が細胞あたり10コピー以上の遺伝子)



溶媒によりツリー分岐がされているとは言えないような構造が現れた

Dose0同士のクラスタリング

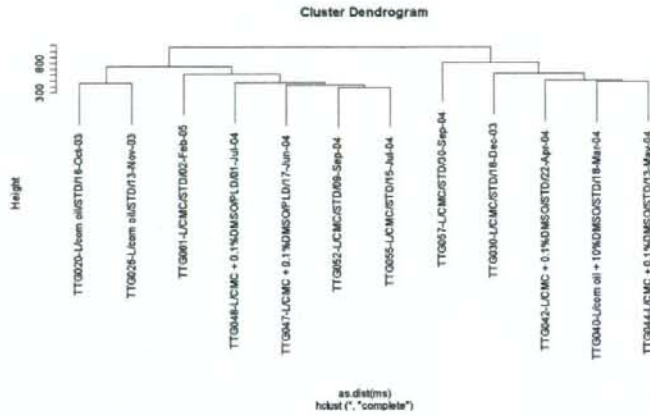
結果(Ward法、全時刻の平均発現量が細胞あたり10コピー以上の遺伝子)



溶媒によりツリー分岐がされているとは言えないような構造が現れた

Dose0同士のクラスタリング

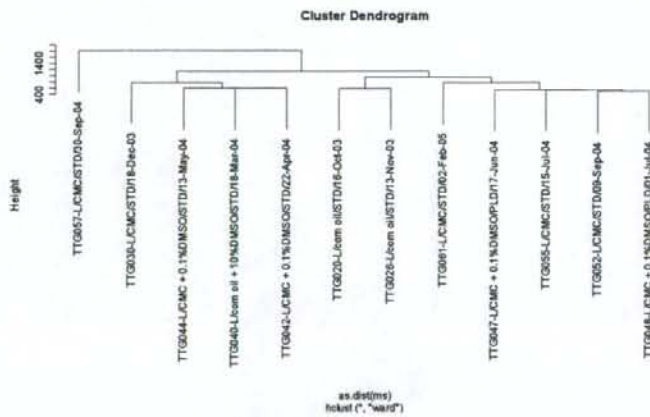
結果(Complete法、全時刻の平均発現量が細胞あたり1コピー以上の遺伝子)



溶媒によりツリー分岐がされているとは言えないような構造が現れた

Dose0同士のクラスタリング

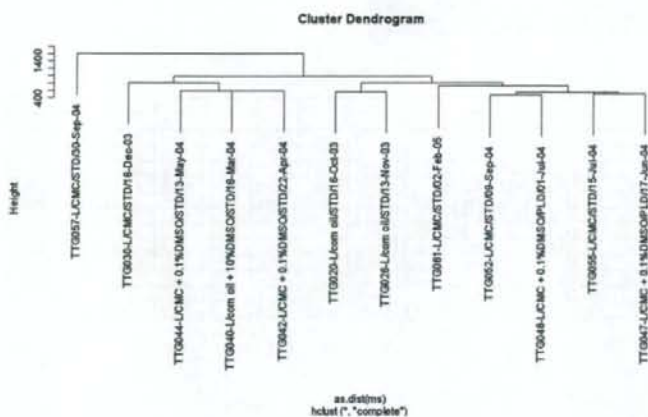
結果(Ward法、全遺伝子)



溶媒によりツリー分岐がされているとは言えないような構造が現れた

Dose0同士のクラスタリング

結果(Complete法、全遺伝子)



溶媒によりツリー分岐がされているとは言えないような構造が現れた別の要因がツリー構造を形成している可能性が高い

Dose0:使用プローブセットとツリー構造

使用する遺伝子(プローブセット)を変化させた場合にクラスタリングのツリー構造がどのように変化するか確認する

クラスタリング対象実験

	化合物	溶媒	餌種類	実施日
TTG030-L	N-Methylaniline	MC	STD	2003/12/18
TTG040-L	cisplatin	com oil + 10%DMSO	STD	2004/3/18
TTG044-L	Clofibrate	MC + 0.1%DMSO	STD	2004/5/13
TTG052-L	all trans retinoic acid	MC	STD	2004/8/9
TTG055-L	N-ethyl-N-nitrosourea	MC	STD	2004/7/15
TTG061-L	Paraquat 2nd	MC	STD	2005/2/2
TTG020-L	TCDD_TEST20040323	com oil	STD	2003/10/16
TTG026-L	TCDF	com oil	STD	2003/11/13
TTG042-L	Ethinyl Estradiol	MC + 0.1%DMSO	STD	2004/4/22
TTG047-L	Bisphenol A	MC + 0.1%DMSO	PLD	2004/6/17
TTG048-L	Genistein	MC + 0.1%DMSO	PLD	2004/7/1
TTG057-L	indigo	MC	STD	2004/9/30

Dose0:使用プローブセットとツリー構造

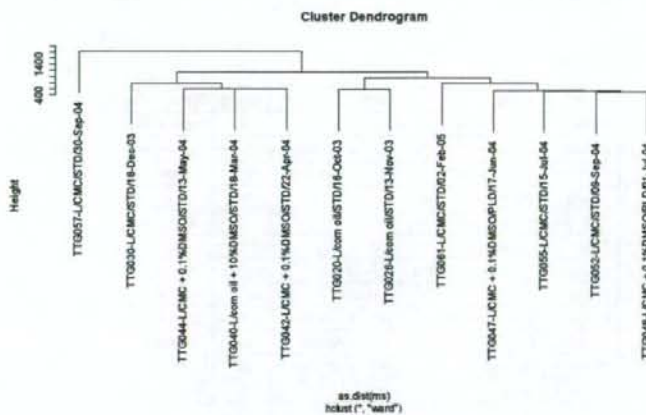
Dose0:距離マトリクス(全遺伝子)

対象プローブ数:45101

	ord	pl_no	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
			12	17	33	50	42	67	1	2	22	38	40	54
TTG030-L	1	12	0.0	716.8	815.4	648.3	759.3	866.8	667.8	830.8	636.6	783.6	770.2	1152.5
TTG040-L	2	17	716.8	0.0	600.8	585.5	780.9	799.0	776.1	894.1	599.2	735.7	745.3	887.7
TTG044-L	3	33	815.4	600.8	0.0	655.4	794.6	876.4	906.8	989.8	602.2	753.2	808.7	1011.5
TTG052-L	4	50	648.3	585.5	655.4	0.0	466.7	594.7	504.4	597.0	529.5	474.6	464.1	1205.8
TTG055-L	5	42	759.3	780.9	794.6	466.7	0.0	723.5	684.1	793.2	582.8	526.8	544.9	1469.2
TTG061-L	6	67	866.8	799.0	876.4	594.7	723.5	0.0	733.6	812.2	654.1	717.6	661.3	1406.5
TTG020-L	7	1	667.8	776.1	906.8	504.4	684.1	733.6	0.0	570.1	701.2	646.4	672.3	1468.9
TTG028-L	8	2	830.8	894.1	989.8	597.0	793.2	812.2	570.1	0.0	782.1	774.4	822.3	1601.6
TTG042-L	9	22	636.6	599.2	602.2	529.5	582.6	654.1	701.2	782.1	0.0	634.5	612.6	1158.2
TTG047-L	10	38	783.6	735.7	753.2	474.6	526.6	717.6	646.4	774.4	634.5	0.0	541.7	1426.1
TTG048-L	11	40	770.2	745.3	808.7	464.1	544.9	661.3	672.3	822.3	612.6	541.7	0.0	1427.8
TTG057-L	12	54	1152.5	987.7	1011.5	1205.8	1469.2	1406.5	1468.9	1601.6	1158.2	1426.1	1427.8	0.0

Dose0:使用プローブセットとツリー構造

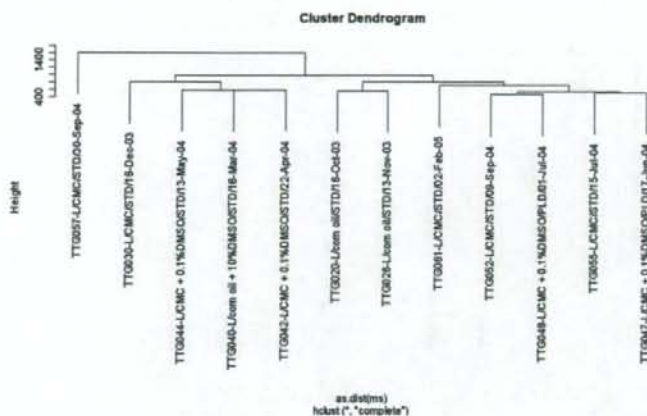
Dose0:結果(全遺伝子・Ward法)



溶媒によりツリー分岐がされているとは言えないような構造が現れた

Dose0:使用プローブセットとツリー構造

Dose0:結果(全遺伝子、Complete法)



溶媒によりツリー分岐がされているとは言えないような構造が現れた

Dose0:使用プローブセットとツリー構造

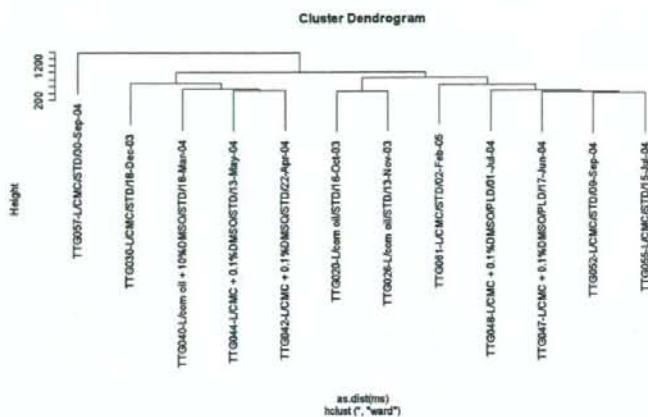
Dose0:距離マトリクス(発現量の全時刻平均が細胞当たり1コピー以上の遺伝子)

対象遺伝子数: 27,707

		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
	ord	pi.no.a	12	17	33	50	42	67	1	2	22	38	40	54
TT0030-L	1	12	0.0	601.5	676.5	556.2	669.8	773.4	541.5	704.2	542.9	697.2	689.7	937.7
TT0040-L	2	17	601.5	0.0	509.2	475.1	648.8	692.6	804.5	735.9	491.9	634.3	642.2	853.8
TT0044-L	3	33	676.5	509.2	0.0	533.6	662.6	760.0	723.0	826.4	475.3	638.5	685.2	877.1
TT0052-L	4	50	556.2	475.1	533.6	0.0	379.7	494.9	415.5	499.2	425.5	396.6	392.7	1008.7
TT0055-L	5	42	669.8	648.8	662.6	379.7	0.0	595.6	536.4	667.3	473.6	423.7	449.8	1269.0
TT0061-L	6	67	773.4	692.6	760.0	494.9	595.6	0.0	618.9	724.6	560.7	600.1	522.4	1242.6
TT0020-L	7	11	541.5	604.5	723.0	415.5	536.4	618.9	0.0	444.3	555.9	532.9	568.0	1188.1
TT0026-L	8	21	704.2	735.9	826.4	499.2	667.3	724.6	444.3	0.0	644.3	654.3	703.6	1349.0
TT0042-L	9	22	542.9	491.9	475.3	425.5	473.6	560.7	555.9	644.3	0.0	525.0	501.8	991.8
TT0047-L	10	38	697.2	634.3	638.5	396.6	423.7	600.1	532.9	654.3	525.0	0.0	455.3	1240.7
TT0048-L	11	40	689.7	642.2	685.2	392.7	449.8	522.4	568.0	703.6	501.8	455.3	0.0	1237.8
TT0057-L	12	54	937.7	853.8	877.1	1008.7	1269.0	1242.6	1188.1	1349.0	991.8	1240.7	1237.8	0.0

Dose0:使用プローブセットとツリー構造

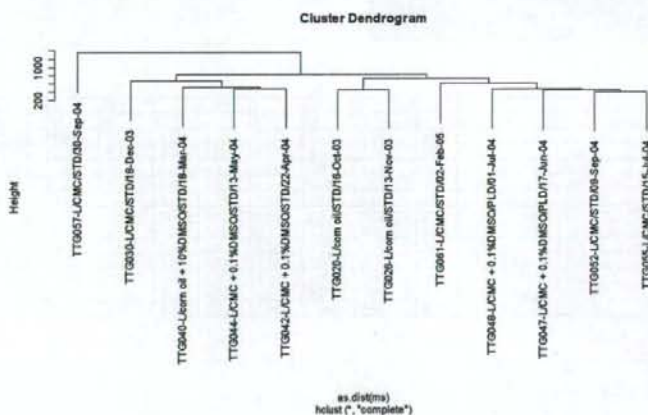
Dose0:結果(発現量の全時刻平均が細胞当たり1コピー以上の遺伝子、Ward法)



溶媒によりツリー分岐がされているとは言えないような構造が現れた

Dose0:使用プローブセットとツリー構造

Dose0:結果(発現量の全時刻平均が細胞当たり1コピー以上の遺伝子、Complete法)



溶媒によりツリー分岐がされているとは言えないような構造が現れた

Dose0:使用プローブセットとツリー構造

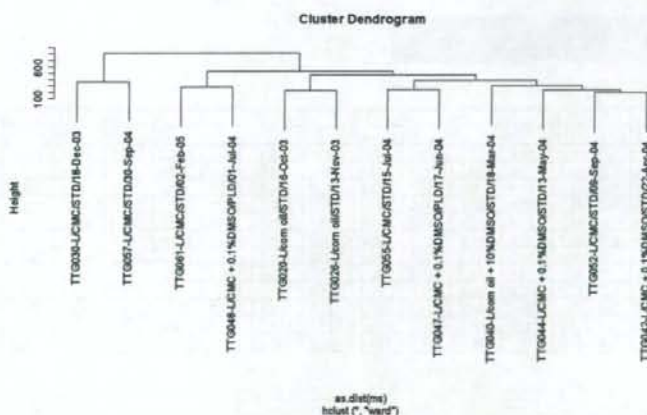
Dose0:距離マトリクス(発現量の全時刻平均が細胞当たり10コピー以上の遺伝子)

対象プローブ数: 7,153

	ord	hi_no	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
			12	17	33	50	42	67	1	2	22	38	40	54
TTG030-L	1	12	0.0	369.9	389.9	331.4	480.6	558.1	306.6	391.4	366.5	483.5	498.3	368.4
TTG040-L	2	17	369.9	0.0	312.9	231.4	383.9	440.8	275.1	349.6	274.7	381.3	382.2	443.4
TTG044-L	3	33	389.9	312.9	0.0	235.0	315.8	446.5	301.4	387.1	217.8	337.6	370.2	485.8
TTG052-L	4	50	331.4	231.4	235.0	0.0	215.8	315.7	235.5	284.1	192.5	256.6	245.7	433.2
TTG055-L	5	42	480.6	363.9	315.8	215.8	0.0	370.2	334.6	399.2	244.6	252.7	294.0	622.5
TTG061-L	6	67	558.1	440.8	446.5	315.7	370.2	0.0	432.3	506.5	345.0	373.9	296.0	702.9
TTG020-L	7	1	306.6	275.1	301.4	235.5	334.6	432.3	0.0	226.9	283.8	345.4	382.2	450.7
TTG026-L	8	2	391.4	349.6	367.1	284.1	399.2	506.5	226.9	0.0	344.7	399.0	448.9	524.8
TTG042-L	9	22	366.5	274.7	217.8	192.5	244.6	345.0	283.8	344.7	0.0	280.5	285.8	485.0
TTG047-L	10	38	483.5	381.3	337.6	256.6	252.7	373.9	345.4	399.0	280.5	0.0	289.4	635.3
TTG048-L	11	40	498.3	382.2	370.2	245.7	294.0	296.0	382.2	448.9	285.8	289.4	0.0	656.7
TTG057-L	12	54	368.4	443.4	485.8	433.2	622.5	702.9	450.7	524.8	485.0	635.3	656.7	0.0

Dose0:使用プローブセットとツリー構造

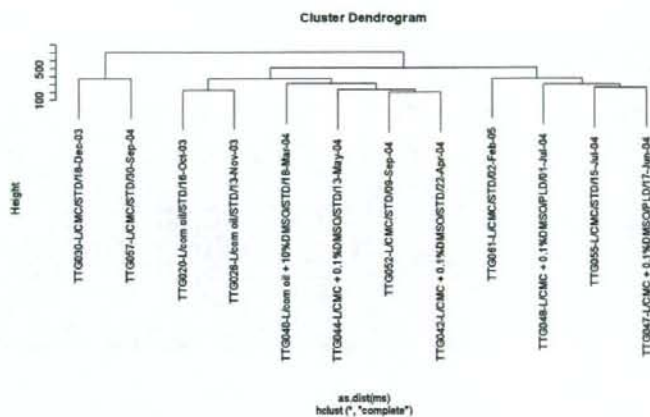
Dose0:結果(発現量の全時刻平均が細胞当たり10コピー以上の遺伝子、Ward法)



溶媒によりツリー分岐がされているとは言えないような構造が現れた

Dose0:使用プローブセットとツリー構造

Dose0:結果(発現量の全時刻平均が細胞当たり10コピー以上の遺伝子、Complete法)



溶液によりツリー分岐がされているとは言えないような構造が現れた

Dose0:使用プローブセットとツリー構造

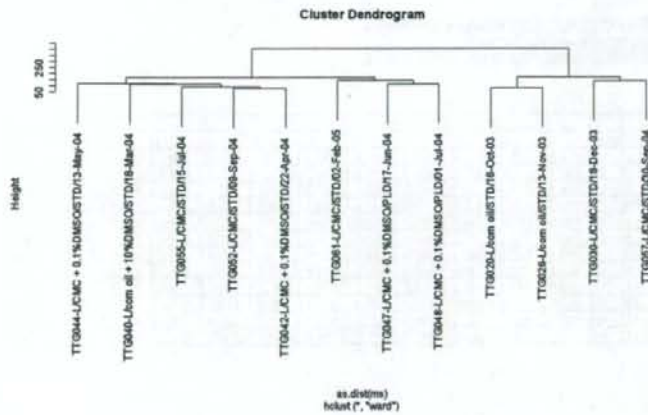
Dose0:距離マトリクス(発現量の全時刻平均が細胞当たり100コピー以上の遺伝子)

対象プローブ数:945

	ord	pi	rh	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
				12	17	33	50	42	67	1	2	22	38	40	54
TTG030-L	1	12	0.0	153.6	172.5	145.0	196.5	240.9	109.4	146.5	167.2	210.0	216.0	141.8	
TTG040-L	2	17	153.6	0.0	120.3	86.4	123.4	158.5	114.5	124.8	98.9	145.0	132.8	176.5	
TTG044-L	3	33	172.5	120.3	0.0	96.0	123.8	162.4	127.3	140.6	90.2	141.7	150.4	185.0	
TTG052-L	4	50	145.0	86.4	96.0	0.0	84.8	119.7	105.1	120.2	77.2	111.9	100.4	166.6	
TTG055-L	5	42	196.5	123.4	123.8	84.8	0.0	139.8	146.9	165.5	92.6	107.3	114.2	247.1	
TTG061-L	6	67	240.9	158.5	162.4	119.7	139.8	0.0	185.8	214.6	121.8	147.8	129.8	265.8	
TTG020-L	7	1	109.4	114.5	127.3	105.1	146.9	185.8	0.0	84.2	127.5	155.2	188.7	147.6	
TTG026-L	8	2	146.5	124.8	140.6	120.2	165.5	214.6	84.2	0.0	143.1	175.7	185.5	170.3	
TTG042-L	9	22	167.2	98.9	90.2	77.2	92.6	121.8	127.5	143.1	0.0	113.4	108.4	189.6	
TTG047-L	10	38	210.0	145.0	141.7	111.9	107.3	147.8	155.2	175.7	113.4	0.0	112.7	264.6	
TTG048-L	11	40	216.0	132.8	150.4	100.4	114.2	129.8	168.7	185.5	108.4	112.7	0.0	285.5	
TTG057-L	12	54	141.8	176.5	185.0	186.6	247.1	265.8	147.6	170.3	189.6	264.6	265.5	0.0	

Dose0:使用プローブセットとツリー構造

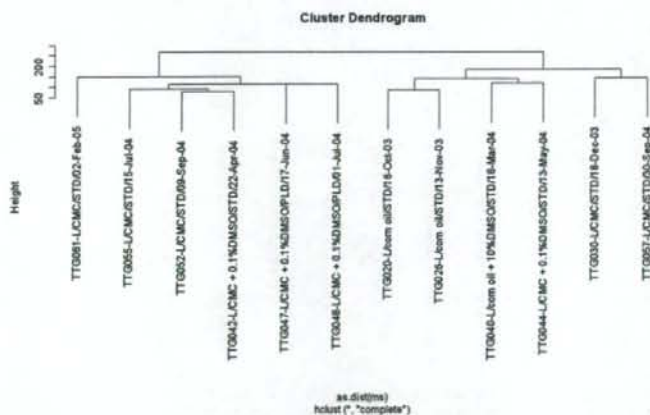
Dose0:結果(発現量の全時刻平均が細胞当たり100コピー以上の遺伝子、Ward法)



溶媒によりツリー分岐がされているとは言えないような構造が現れた

Dose0:使用プローブセットとツリー構造

Dose0:結果(発現量の全時刻平均が細胞当たり100コピー以上の遺伝子、Complete法)



溶媒によりツリー分岐がされているとは言えないような構造が現れた