

200941017A

厚生労働科学研究費補助金  
化学物質リスク研究事業

化学物質の有害性評価手法の迅速化、高度化に関する研究  
—網羅的定量的大規模トキシコゲノミクスデータベースの維持・拡充と  
毒性予測評価システムの実用化の為のインフォマティクス技術開発—  
(H21-化学-一般-001)

平成21年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 菅野 純

平成 22(2010)年 3 月

厚生労働科学研究費補助金  
化学物質リスク研究事業

化学物質の有害性評価手法の迅速化、高度化に関する研究  
—網羅的定量的大規模トキシコゲノミクスデータベースの維持・拡充と  
毒性予測評価システムの実用化の為にインフォマティクス技術開発—

(H21-化学-一般-001)

平成21年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 菅野 純

平成 22(2010)年 3 月

厚生労働科学研究費補助金

化学物質リスク研究事業

化学物質の有害性評価手法の迅速化、高度化に関する研究  
—網羅的定量的大規模トキシコゲノミクスデータベースの維持・拡充と  
毒性予測評価システムの実用化の為にインフォマティクス技術開発—  
(H21-化学-一般-001)

平成 21 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 菅野 純

平成 22(2010)年 3 月

目 次

I. 総括研究報告書

化学物質の有害性評価手法の迅速化、高度化に関する研究

— 網羅的定量的大規模トキシコゲノミクスデータベースの維持・拡充と

毒性予測評価システムの実用化の為にインフォマティクス技術開発—

菅野 純

..... 1

II. 分担研究報告書

1. インフォマティクス開発研究

北野 宏明

..... 67

2. 胎児・ES 細胞データをモデルとした遺伝子カスケード開発研究

北嶋 聡

..... 87

3. Percellome データ解析ツールの開発研究

相崎 健一

..... 127

III. 研究成果の刊行に関する一覧表

..... 159

IV. 研究成果の刊行物・別刷

..... 161

別添 3

# I . 総括研究報告書

厚生労働科学研究費補助金(化学物質リスク研究事業)

総括研究報告書

化学物質の有害性評価手法の迅速化、高度化に関する研究—網羅的定量的大規模トキシコゲノミクスデータベースの維持・拡充と毒性予測評価システムの実用化の為のインフォマティクス技術開発—(H21-化学-一般-001)

研究代表者 菅野 純

国立医薬品食品衛生研究所・安全性生物試験研究センター・毒性部・部長

研究要旨

本研究は、先行実施された化学物質リスク評価の基盤整備としてのトキシコゲノミクス研究の成果を受け継ぎ拡充しつつ、毒性分子メカニズムに依拠した毒性予測評価システムの実用化の最終段階としてのインフォマティクス技術を開発することを目的とする。

発表者らは、先行研究において独自開発したパーセローム(Percellome)法\*により定量的、高精度、且つ網羅的な遺伝子発現プロファイルを約100化学物質について構築するとともに、相崎分担研究者による解析プログラムの開発、NTTdata 社/Teradata 社との共同研究により、5テラバイト級研究計算サーバーを含むインフォマティクス基盤の構築、特に生物学的に有意な遺伝子発現変動を効率的に網羅抽出する方法の開発をほぼ完了した。

本研究では、網羅的変動遺伝子情報から、毒性に関わる遺伝子ネットワークを描出するインフォマティクスの開発を実施する。これには、更なる高度な知識と技術を要するが、今までのトキシコゲノミクスが「関連した遺伝子のリスト」や「バイオマーカー」等の静止画的な情報しか提供しない状況を打破し「どのネットワークが反応すると、どのような毒性と直結するか」という時間的要素を含む動的な因果関係を導き出し、遺伝子発現情報からの毒性予測の精度を格段に向上させる。

具体的には、(1)特定の標的(AhR, PPARα, SXR/PXR, ER)を共有する化学物質のデータと既知情報から局所カスケードの描出、(2)既知情報からのカスケード・テンプレート生成、(3)複数の化学物質のクラスタの同期点からのカスケード描出、(4)胎児、ES・胚様体(EB)分化系、及び概日変動からのカスケード描出、(5)ベイジアンネットワーク等のアルゴリズムの複合適応による初期反応カスケードの描出、の5つのアプローチから段階的に技術開発を行う。

加えて、H21年度～H23年度にかけては遺伝子欠失マウス等による実験と遺伝子発現データの採取を行い、検証研究に資するとともに、データベースとインフォマティクスとの統合をH23年度を目指す。

\*mRNA 発現値を細胞1個当たりの平均コピー数として絶対定量する方法。

研究分担者

北野宏明 特定非営利活動法人システム・バイオ  
ロジー研究機構・会長

北嶋聡 国立医薬品食品衛生研究所・  
安全性生物試験研究センター・  
毒性部・室長

相崎健一 国立医薬品食品衛生研究所・  
安全性生物試験研究センター・  
毒性部・室長

## A. 研究目的

本研究は、分子メカニズムに依拠した毒性予測評価システムの実用化の最終段階として、関連遺伝子ネットワーク描出の為にインフォマティクス開発を目的とする。即ち、先行研究にて構築済みの延べ3.5億遺伝子情報からなるトキシコゲノミクスデータベース及び毒性学的意味付けを網羅的に抽出するプログラム群の開発及び実装の実績を基盤に、バイオインフォマティクスの専門家の参加を得て、「毒性と直結したネットワークの反応」という結論を導き出すことを可能にするネットワーク描出技術の開発と、毒性予測評価システムの実用化を目的とする。また、この成果を国際標準化に資するものとして発信する。

数万種に及ぶと言われる身の回りの化学物質の毒性評価は、実験動物の所見を人に外挿する事によって実施され、種差や個体差は「安全係数」或は「不確実係数」により、量的な安全マージンをとる事で勘案されてきた。しかし、サリドマイドに代表されるが如く、これには科学的な限界があり、人の安全性確保をより確実にするための「毒性学の近代化」が必要である。それには従来法に加え、網羅的遺伝子発現プロファイリングからなるトキシコゲノミクスと、それを活用するイン

フォマティクスの構築が有効であることは内外の研究の方向性が示すところである。本研究は、先行研究の成果を基盤に、トキシコゲノミクスによる毒性予測システム実用化の最終段階としての高精度なバイオインフォマティクスを完成させるものである。

## B. 方法

### 1. Percellome Project 概説

#### 1. 1 Percellome 法:細胞1個当たりの mRNA コピー数として発現値を得る方法

原理は、サンプルの細胞数に対して mRNA の発現値を標準化するという単純なものである。具体的には、サンプル破碎液中の DNA 含量から細胞数を求め、外部標準 mRNA (スパイク RNA) を細胞1個当たり決まった分子数だけその破碎液に添加してから、RNA 抽出、測定を行う。スパイク RNA の測定値が細胞1個当たり何コピーに由来するかが既知であることを利用し、サンプル中の全ての RNA 測定値を、細胞1個当たりのコピー数に換算する。

#### 1. 2 実験プロトコール

体内に侵入してきた化学物質等を第一に感知するのは、多くの場合蛋白質であり、それからの次の影響が遺伝子発現に波及した場合に mRNA の変動として現れ、それが次の蛋白質を誘導し、次の mRNA 変動を招く、と模式的には考えられる。この様な初期応答を観測する目的から、先ず、成獣マウスの肝を対象とした単回経口投与実験プロジェクトを開始した。mRNA 合成のスピードと動物実験の手技上の現実的境界を考慮し、単回

強制経口投与の2、4、8、及び24時間後にサンプリングを行うプロトコルを設定した。また、用量依存性を考慮し、投与量を溶媒対象(0)、x1、 $x\sqrt{10}$ 、及びx10とした4群を設定した。これにより、一化合物につき4(時点)x4(用量)の16群、各群3匹、合計48匹の実験を行う。マイクロアレイはAffymetrix社GeneChip Mouse430 2.0(初期は430 A)を用いた。サンプルはプールせず、個体毎に測定した。

### 1. 3 データの構造(Millefeuille surface data)と基本的解析法概要

Percellome 法(Kanno et al. BMC Genomics. (2006), 7, 64)を基礎に構築済みの延べ3.5億遺伝子情報からなるトキシコゲノミクスデータベースは、比類の無い精細且つ高再現性を実現している。このデータベースは3次元表示データ(時間、暴露用量、遺伝子発現量)よりなる。解析には3次元波動面の特徴抽出という独創的な方法を採用し、解析ソフトウェア群(Aisaki et al. Exp Hematol. (2007), 35:1190-200, Matsumoto et al, Genome Inform. (2005), 16:183-94.)は全てオリジナル(一部は特許を取得)であり、更に、国内外に著名なバイオインフォマティクスの専門家の参加を得てシステムの実用化を目指す点で独創的である。

具体的には、化学物質単回投与による遺伝子発現変動は、時間及び用量に依存するという考えから、時間、用量、及びmRNAのコピー数を3軸とする3次元グラフ上に曲面(surface)として投与が誘発する遺伝子発現変動を可視化した。一つの遺伝子(GeneChipでのprobe set)につき、3匹の平均局面(surface)と±1標準偏差(SD) surfaceを表示することで、視覚的に反応の詳細な様態を捉えると同時に、ノイズ或いはartifactであるか否かの感触を容易に得られるようにした。

以下では基本概念として、この3次元 surface のパターンを用いて遺伝子発現ネットワークの描出法の開発を進めている。

## 2. 遺伝子発現ネットワーク描出の為にインフォマティクス開発

### 2. 1 特定の分子標的を共有する化学物質群のデータと既知情報からの局所ネットワークの描出

Percellome データと化学物質の既知情報から特定のネットワークの描出を行う。遺伝子欠失マウスの実験を検証に用いる。演算空間5テラバイト級研究計算サーバーによる大規模データベース内での類似度計算等の高度計算アルゴリズムの実装と検証実験は引き続き(株)NTT データとの委託共同研究により、今までのノウハウを活かして実施する。

平成 21 年度:ダイオキシン受容体(AhR)シグナルのネットワークを AhR 欠失マウス実験による遺伝子発現データにより検証する。

平成 22 年度:ペルオキシゾーム増殖剤応答性受容体(PPAR)  $\alpha$  およびステロイド異生物性受容体(SXR/PXR)について H21 と同様の描出と、マウスによる検証研究を行う。

平成 23 年度:エストロゲン受容体(ER)について H22 と同様の研究を行う。

### 2. 2 既知情報からのシグナルネットワーク・テンプレート生成

文献データベース等に含まれる情報を基に毒性反応シグナルネットワークの骨格を生成する。

平成 21 年度:既知情報からシグナルネットワーク描出の要素を抽出する。またこの作業を自動化する。

平成 22 年度:H21 に得た情報からシグナルネッ



トワーク・テンプレートを組み立てる。

平成 23 年度:毒性反応シグナルネットワークの骨格となるシグナルネットワーク・テンプレートを完成させる。

これらについては、現在進行中である。具体的には、自動化のための予備調査を兼ね、米国 NCBI の公開データベース群、特に OMIM, OMIM に着目した突然変異体もしくは遺伝子改変動物に関する既知情報の抽出プログラムを作成中であり、実データを用いながら関連語の辞書も構築している。

### 2.3 複数の化学物質のクラスタ交叉点からのネットワーク抽出

先行研究で得た 100 化合物 Percellome データを用いて、毒性反応シグナルネットワークの主要素をクラスタ交叉点から得る。

平成 21 年度:同期率計算アルゴリズム(複数の化学物質に共通=「同期」する遺伝子クラスタ抽出)の検出感度を改良する。RSort アルゴリズム(生物学的有意反応の網羅的抽出)を、時間軸成分を抽出するものに最適化する。

平成 22 年度:(1)で生成された局所ネットワークを検証する。

平成 23 年度:全 Percellome データベースを対象に網羅的に同期遺伝子クラスタを抽出し、(2)のシグナルネットワーク・テンプレートへ結合する。

この研究には、(株)NTT データとの委託共同研究が含まれる。

### 2.4 初期反応ネットワークのインフォマティクス抽出

大規模データから擾乱初期に関わる分子標的を同定する手法の開発を行い、実際のデータを基にそのネットワークを抽出する。

平成 21 年度:基本的な推定手法の調査と従来方法を克服する手法の基礎開発。小規模データで試験を行う。本課題でのニーズを分析し、そのニーズに適合する手法を特定する。

平成 22 年度:基礎解析技術の開発をすすめ、対象とする実験データの規模を拡大する。既存の擾乱物質での推定結果から、解析手法の評価を行う。

平成 23 年度:大規模実データへの適用を行い、ネットワーク推定を行う。

## C. 結果

AhR シグナルのネットワークに関する、最新のソフトウェアによる網羅的情報抽出とそれを基にしたクラスタリングの結果を得た。総合学術会議化学物質シンポジウム(2009.12.16)では、基本データとして作成済みの無処置野生型マウス・全胚の遺伝子発現データベース(胎生 6.25-9.75 日、12 時点)及び、その時期に相当すると考えられる、ES 細胞を用いた胚様体(EB)の遺伝子発現データベース(14 時点)を用いての、転写因子 Brachyury 遺伝子を基軸としたネットワークの抽出について概説した。AhR ノックアウトマウスは、自家繁殖し 3メチルコランズレン投与実験を実施し解析中であり、同マウスへの TCDD 投与実験、あるいはレチノイン酸等の暴露実験を準備中である。

## E. 結論

遺伝子発現データの解析の一般的なアプローチとして、しばしば Phenotypic anchoring(観測される病理形態学的変化への関連付け)に基づくバイオマーカー検索が行われるが、生体変化の最終的結果である病理形態との関連性による意味抽出の過程がもつ限界が常に指摘されている。我々の目指すネットワーク抽出については、独自開発になる教

師無しクラスタリングや、複数の特徴抽出アルゴリズムによる解析から、網羅性を確保しつつ、生物学的意味を持つ遺伝子変動現象の抽出を基盤として進めている。これらにより、まず、ネットワークの要員遺伝子の抽出が可能となっており、このアプローチによるネットワーク描出の糸口が次々に得られている。現在、これらの要員遺伝子の連結作業を加速する手段としてのインフォマティクス研究を本格的に開始しており、網羅性を確保した状態での毒性ネットワークの同定が可能となることが見込まれる状況にある。

(株)NTT データとの委託共同研究により、網羅的  
化学物質クラスタリングに必要なデータ修正アルゴリズムの開発をほぼ完了し(特許出願準備中)、実装への健闘段階に入った。また、平行して新規公開システムの稼働準備が進められている。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

Matsunaga N, Kanno J, Hamada C, Yoshimura I. An experimental design for judging synergism on consideration to endocrine disruptor animal experiments. *Environmetrics* 2009; 20:1-13.

Woo GH, Takahashi M, Inoue K, Fujimoto H, Igarashi K, Kanno J, Hirose M, Nishikawa A, Shibutani M., Cellular distributions of molecules with altered expression specific to thyroid proliferative lesions developing in a rat thyroid carcinogenesis model., *Cancer Sci.* 2009 Apr;100(4):617-25.

Ishimaru N, Takagi A, Kohashi M, Yamada A,

Arakaki R, Kanno J, Hayashi Y. Neonatal exposure to low-dose 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin causes autoimmunity due to the disruption of T cell tolerance. *J Immunol.* 2009 May 15;182(10):6576-86.

Kanno J., Overview: "Children's toxicology", a renovating study field of irreversible "early exposure-delayed effects". *J Toxicol Sci.* 2009;34 Suppl 2:SP199-200.

Tanemura K, Igarashi K, Matsugami TR, Aisaki K, Kitajima S, Kanno J., Intrauterine environment-genome interaction and children's development (2): Brain structure impairment and behavioral disturbance induced in male mice offspring by a single intraperitoneal administration of domoic acid (DA) to their dams. *J Toxicol Sci.* 2009;34 Suppl 2:SP279-86. Review.

Sekine H, Mimura J, Oshima M, Okawa H, Kanno J, Igarashi K, Gonzalez FJ, Ikuta T, Kawajiri K, Fujii-Kuriyama Y., Hypersensitivity of aryl hydrocarbon receptor-deficient mice to lipopolysaccharide-induced septic shock. *Mol Cell Biol.* 2009 Dec;29(24):6391-400

Saegusa Y, Woo GH, Fujimoto H, Inoue K, Takahashi M, Hirose M, Igarashi K, Kanno J, Mitsumori K, Nishikawa A, Shibutani M., Gene Expression Profiling and Cellular Distribution of Molecules with Altered Expression in the Hippocampal CA1 Region after Developmental Exposure to Anti-Thyroid Agents in Rats. *J Vet Med Sci.* 2010 Feb;72(2):187-95

Suzuki A, Igarashi K, Aisaki KI, Kanno J, Saga

Y., NANOS2 interacts with the CCR4-NOT deadenylation complex and leads to suppression of specific RNAs., Proc Natl Acad Sci U S A. 2010 23;107(8):3594-9.

## 2. 学会発表

菅野 純、相崎健一、Percellomeトキシコゲノミクスプロジェクトの進捗ーインフォマティクス構築へー、第36回日本トキシコロジー学会学術年会、2009年7月7日、岩手、口演

菅野 純、分子メカニズムとヒト影響を結ぶツールとしてのパーセローム系の開発、第3回 In vivo 実験医学シンポジウム、学士会館、平成21年12月9日

Jun Kanno, Katsuhide Igarashi, Kentaro Tanemura, Hirotsugu Asano, Kinichi Nakashima, Glucocorticoid induces expression of astrocyte marker GFAP mRNA in mouse neural stem cells. 14th International Congress of Endocrinology, 2010.3.29, Kyoto, poster

## H. 知的財産所有権の出願・登録状況

### 1. 特許取得

特許第4415079号、2009年12月4日登録、遺伝子の絶対発現量測定方法

### 2. 実用新案登録

なし

### 3. その他

なし



Percellome Project

# 化学物質の有害性評価手法の迅速化、高度化に関する研究 — 網羅的定量的大規模トキシコゲノミクスデータベースの維持・拡充 と毒性予測評価システムの実用化の為の インフォマティクス技術開発 —

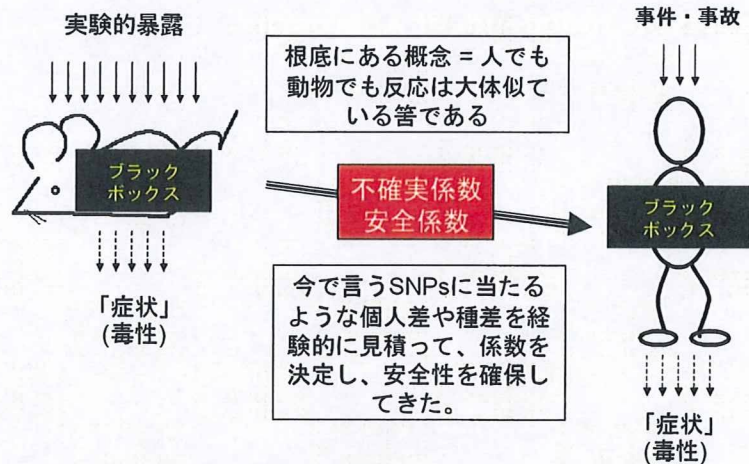
国立医薬品食品衛生研究所  
安全性生物試験研究センター  
毒性部  
菅野 純

TTG3 班会議 @ 東京フォーラム 2010-03-19

1

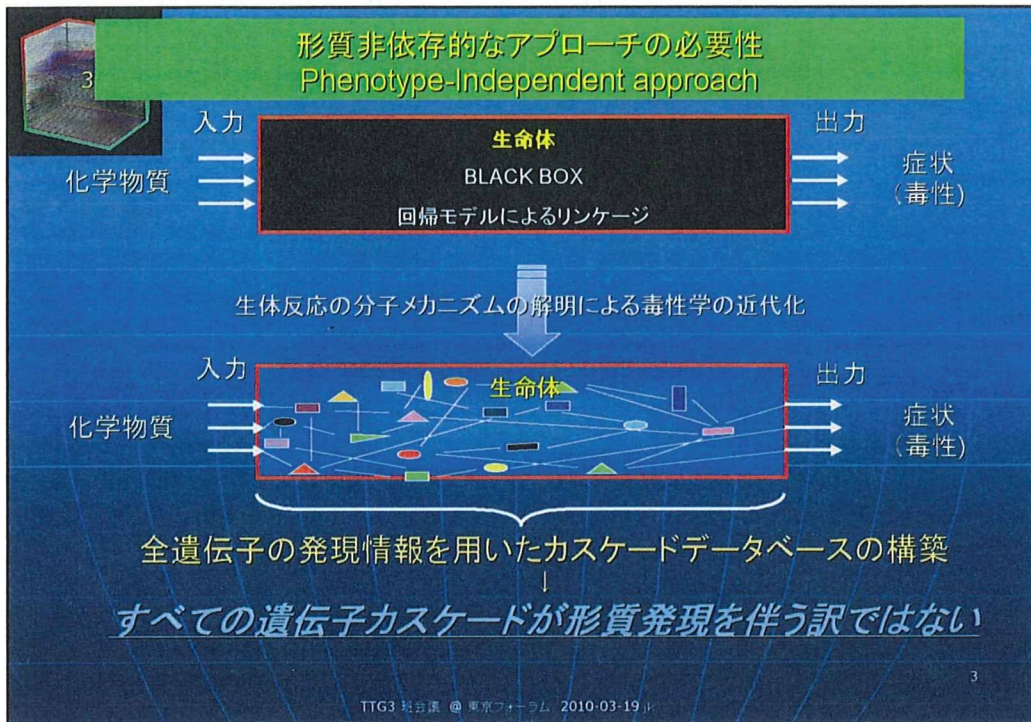
## 半数致死量(LD<sub>50</sub>)や安全係数(不確実係数)からの毒性学の近代化

魔法の数字「安全係数」をいつまでも使い続けるのか？  
サリドマイド問題のような事例の回避



TTG3 班会議 @ 東京フォーラム 2010-03-19

2



4

## Percellome Projects

Percellome Project

**Aim:**  
Develop Gene Cascade Database by **Phenotype-Independent Approach** for predictive mechanism-based toxicology

**Ultimate Goal:**  
Virtual mouse, virtual human *in silico*

**Tentative Goal:**  
High-Resolution, Mechanism-based Toxicology to reinforce Traditional Toxicology

**Practical Contribution:**  
Cheaper, Faster, and More Accurate Assessment

And yet Comprehensive to meet the regulatory needs

TTG3 研究会 @ 東京フォーラム 2010-03-19

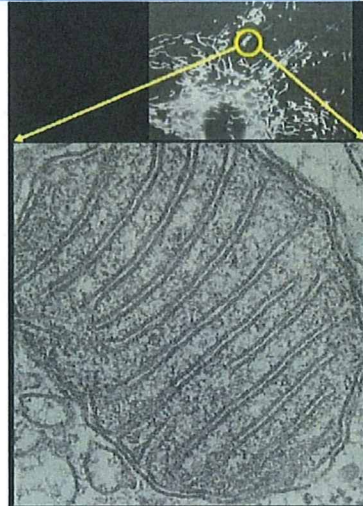
トキシコゲノミクスは現行毒性学にとって、光学顕微鏡しかない時代に現れた電子顕微鏡のようなもの。  
その実用化には、皆が納得する「教科書」が必要。

電子顕微鏡の教科書や図譜が出来るまでに、10~20年。研究者が多数の電子顕微鏡写真をアーカイブ化した。

トキシコゲノミクスは、電子顕微鏡のような立場。  
多数のデータを基に、「教科書」を書く必要がある。

データを蓄積するには、標準化が必須。  
→Percellome法を開発した。

↓  
数万種類のmRNAの各々を、細胞一個当たりのコピー数として測定。



TTG3 班会議 @ 東京フォーラム 2010-03-19 jk



## MHLW\* Toxicogenomics Projects

\*Ministry of Health Labour and Welfare

- Toxicogenomics Project (2002~2006, 5y)  
NIHS +17 Pharmaceuticals
- rat (oral; liver, kidney) 150 chem, single/ repeat exposure
- + In vitro (rat primary hepatocyte, human primary hepatocyte)
- Now @ Nat'l Institute of Biomedical Innovation (Osaka) 2005~2006
- 2nd round project at Osaka (2007~2011), mainly for further data analysis

### Percellome Project (Mouse)

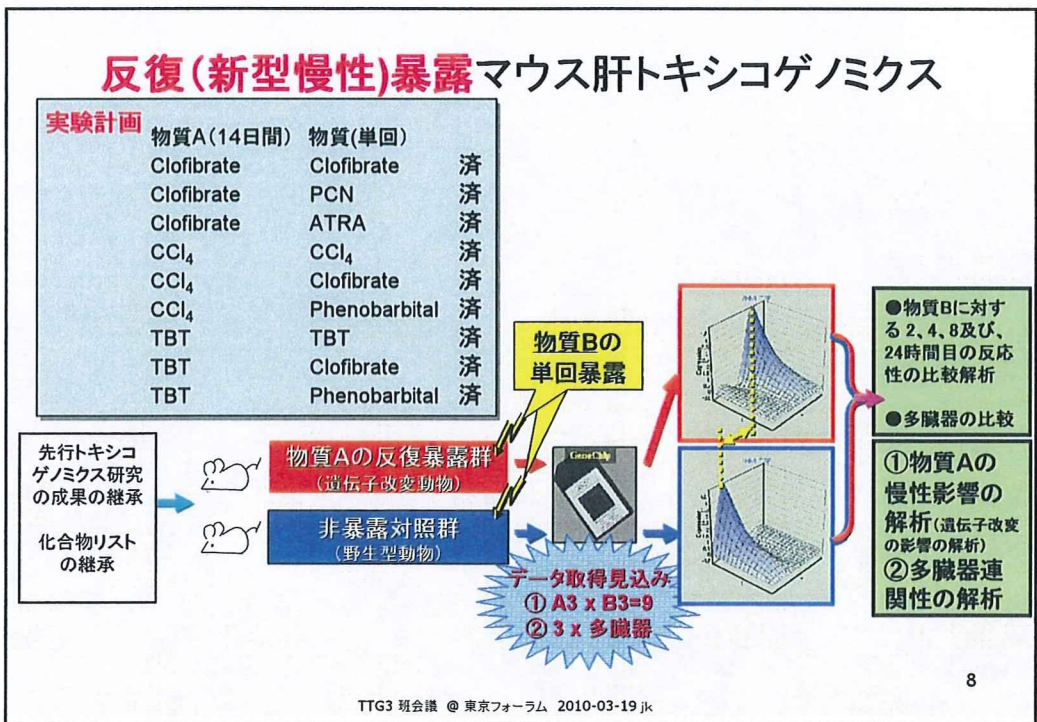
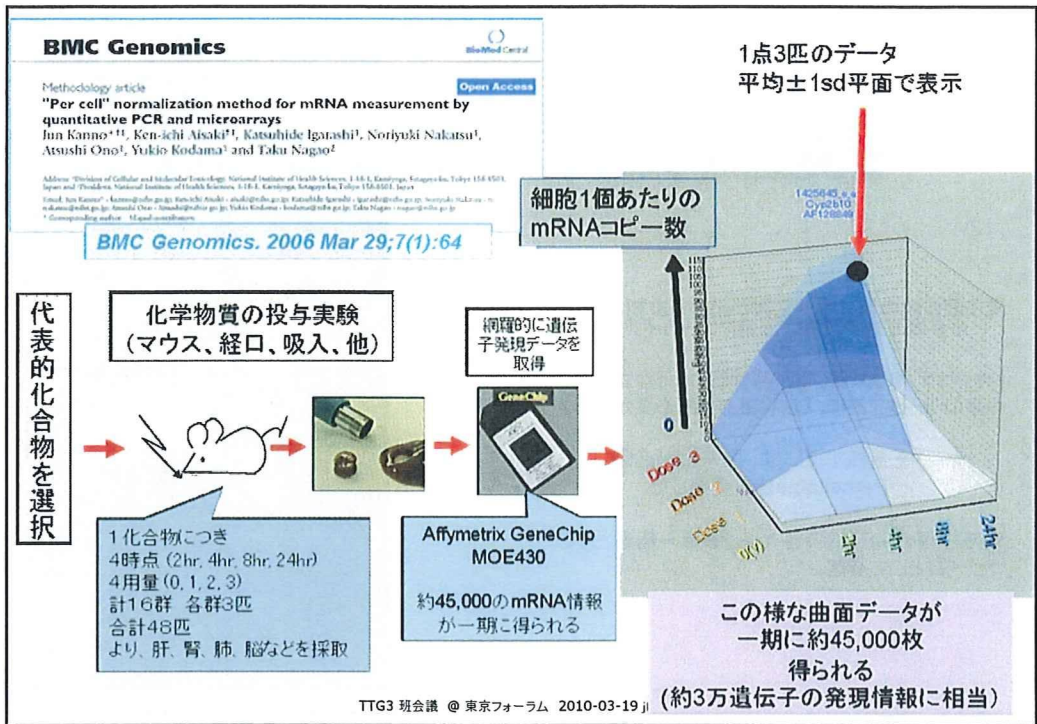
Chemical Safety Database

- Div. Cellular and Molecular Toxicology/ BSRC/ NIHS
  - TTG1: 2003~2005 (single exposure), oral, liver 90 chemITG:  
2005~2007 Inhalation Toxicogenomics
  - TTG2: 2006~2008 (repeated exposure, multi-organ etc.), oral
  - FTG: 2004~ Fetus (developmental)
  - NTG: 2006~ Behavior -> Brain TG (HC, BS, Cx, Cl)
  - Food TG: 2007~ Functional Health Food (CoQ10,  $\alpha$ -lipo), food ingredient
  - Nano·PM\*TG. 2007~ Asbestos, Multiwall Carbon Nanotube, Fullerene

\*PM: particulate matter

TTG3 班会議 @ 東京フォーラム 2010-03-19 jk

6



# 多臓器間の遺伝子発現の連関性解析

## データ取得見込み

CCl<sub>4</sub>, Caffeine

肝  
腎  
肺  
精巣  
心



CCl<sub>4</sub>

肺での酸化ストレス応答を検出

Caffeine

肺での応答を検出

Thalidomide

肝  
腎  
肺  
脳  
心

大脳皮質  
海馬

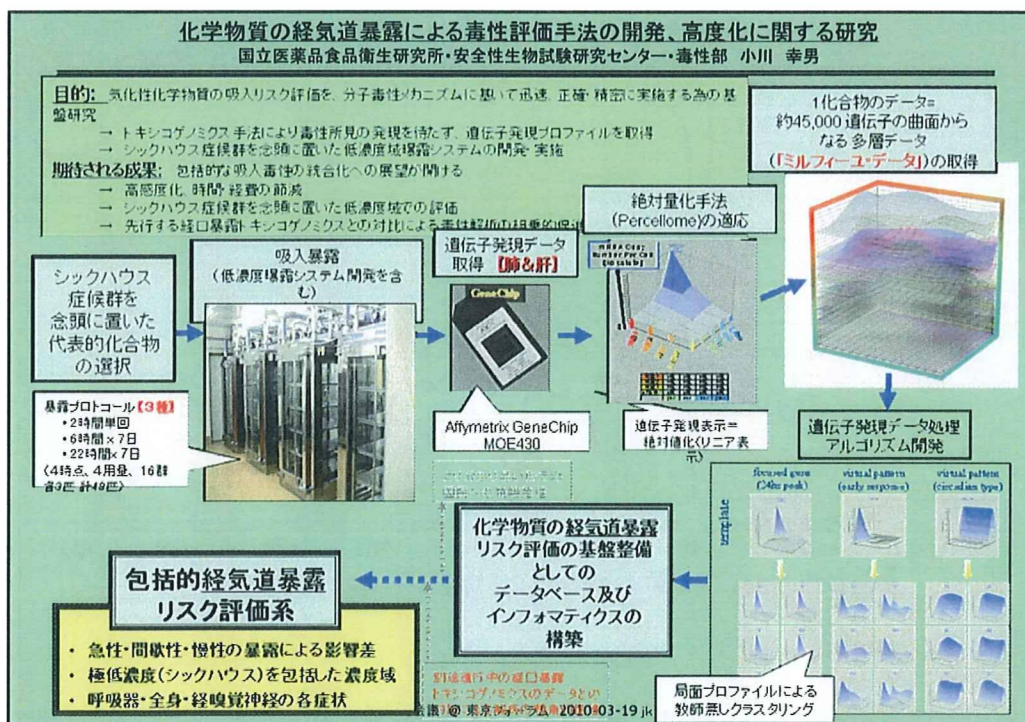


Thalidomide

肺での応答を検出

TTG3 班会議 @ 東京フォーラム 2010-03-19 jk

9





# “シックハウス症原因”13物質

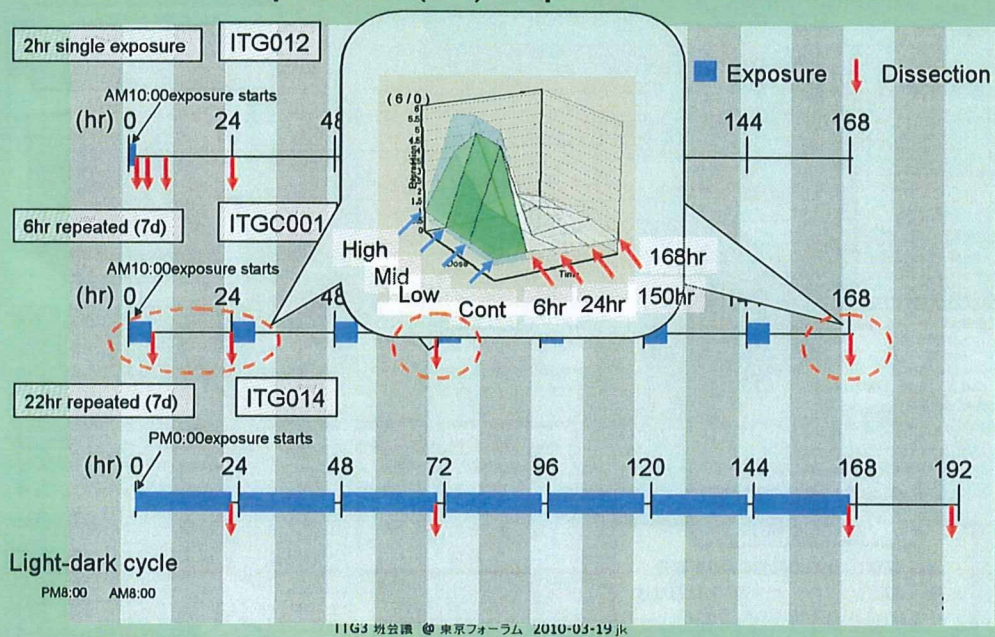
厚生労働省 シックハウス問題に関する検討会「室内空气中化学物質の室内濃度指針値」表より

物質	CAS.No	室内濃度指針値
ホルムアルデヒド	50-00-0	0.08ppm (100 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ )
トルエン	108-88-3	0.07ppm (260 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ )
キシレン	1330-20-7	0.20ppm (870 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ )
パラジクロルベンゼン	106-46-7	0.04 ppm (240 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ )
エチルベンゼン	100-41-4	0.88 ppm (3800 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ )
スチレン	100-42-5	0.05 ppm (220 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ )
クロルピリホス	2921-88-2	0.07 ppb (1 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ )小児は0.007ppb
フタル酸ジ-n-ブチル	84-74-2	0.02ppm (220 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ )
テトラデカン	629-59-4	0.04ppm(330 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ )
フタル酸ジ-2-エチルヘキシル	117-81-7	7.6ppb(120 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ )
ダイアジノン	333-41-5	0.02ppb (0.29 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ )
アセトアルデヒド	75-07-0	0.03 ppm (48 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ )
フェノバルブ	3766-81-2	3.8ppb (33 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ )

11


TTG3 研究会 © 東京フォーラム 2010-03-19 jk

## 6hr repeated (7d) exposure surface data




13 **Percellome Fetus (Developmental) toxicogenomics**

Whole embryo database: C57BL/6  
 Percellome Project n=4 (4 pool or 4 embryo), Affymetrix GeneChip Mouse 430 2.0  
 Percellome normalization (mRNA copy number per one cell in average)  
 Sampling timing: 6.25, 6.50, 6.75, 7.25, 7.50, 7.75, 8.25, 8.50, 8.75, 9.25, 9.50 & 9.75 dpc



Mouse Embryo  
 6.5 dpc 7.5 dpc 8.0 dpc 8.5 dpc  
 Dr. Satoshi Kitajima

ES/EB (embryoid body) database: TT2  
 n=2, Affymetrix GeneChip Mouse 430 2.0  
 Percellome normalization (mRNA copy number per one cell in average)  
 Sampling timing: 0, 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 3.5, 4, 4.5, 5, 5.5, 6, 6.5 & 7 d



TTG3 報告書 @ 東京フォーラム 2010-03-19 小

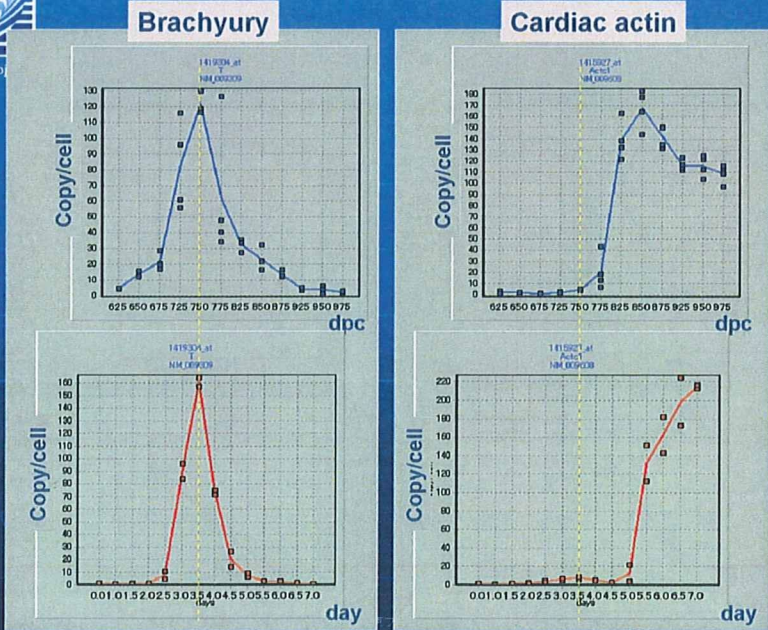
14 **Mouse embryo – ES/EB comparison**

Whole Embryo

Embryoid Body

**Brachyury**

**Cardiac actin**



Copy/cell

dpc

Copy/cell

day

14

## Experiment

- Strain: C57BL/6CrSlc (Japan SLC, Inc.)
- Chemical: **Thalidomide** (BIOMOL)
- Dose: 0, 1,000 mg/kgBW [volume: 10 ml/kgBW]
- Vehicle: 0.5% MC
- Route: oral

# One RNA sample equals one pool sample of embryo of the same litter.

Single Gavage  
to pregnant mouse

7.25 dpc

17.25 dpc

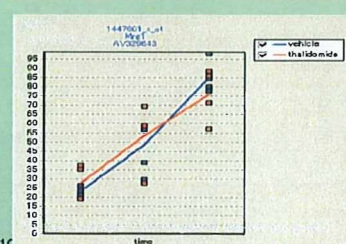
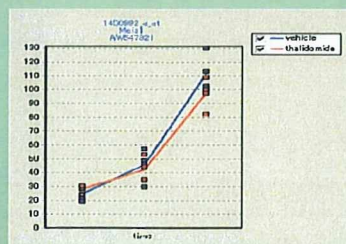
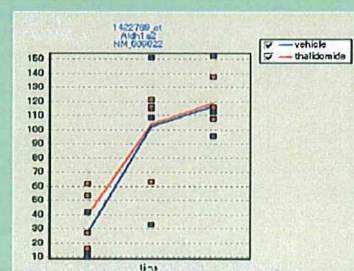
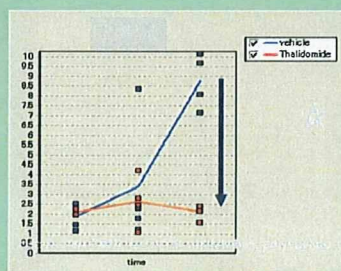
Embryo RNA sampling  
at 2, 8, and 24hrs

morphology  
of embryo

15

TTG3 研究会 © 東京フォーラム 2010-03-19 jk

In embryo, thalidomide mainly down-  
regulates genes which number is three times  
more than up-regulated genes.



=RALDH

16

東京フォーラム 2010

