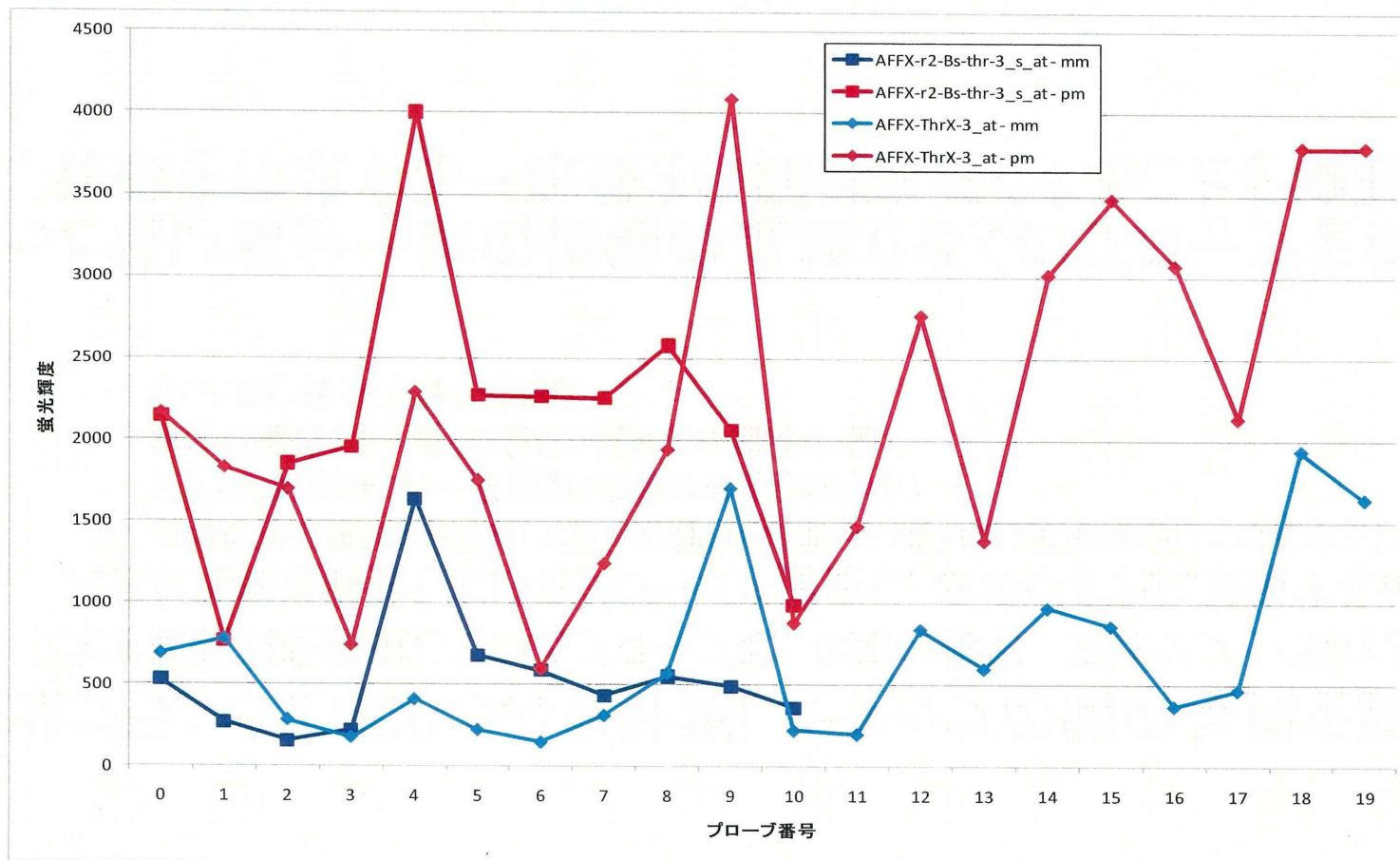


2.2.GSCのみを計測したチップの蛍光値

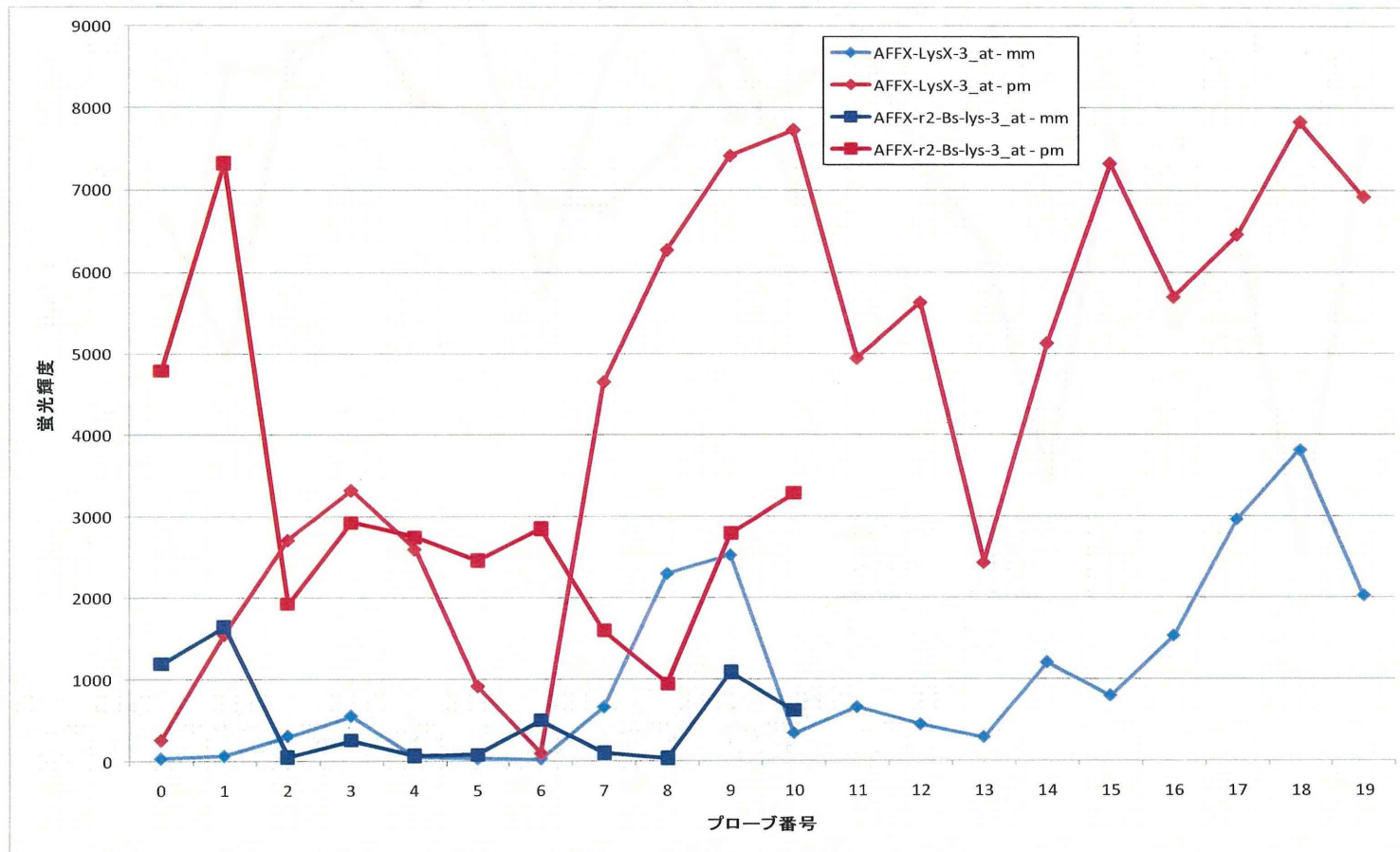
GSC-THR 3'プローブの蛍光値



全体的にばらつきがあるが、PMがMMを上回っており、想定範囲の結果である

2.2.GSCのみを計測したチップの蛍光値

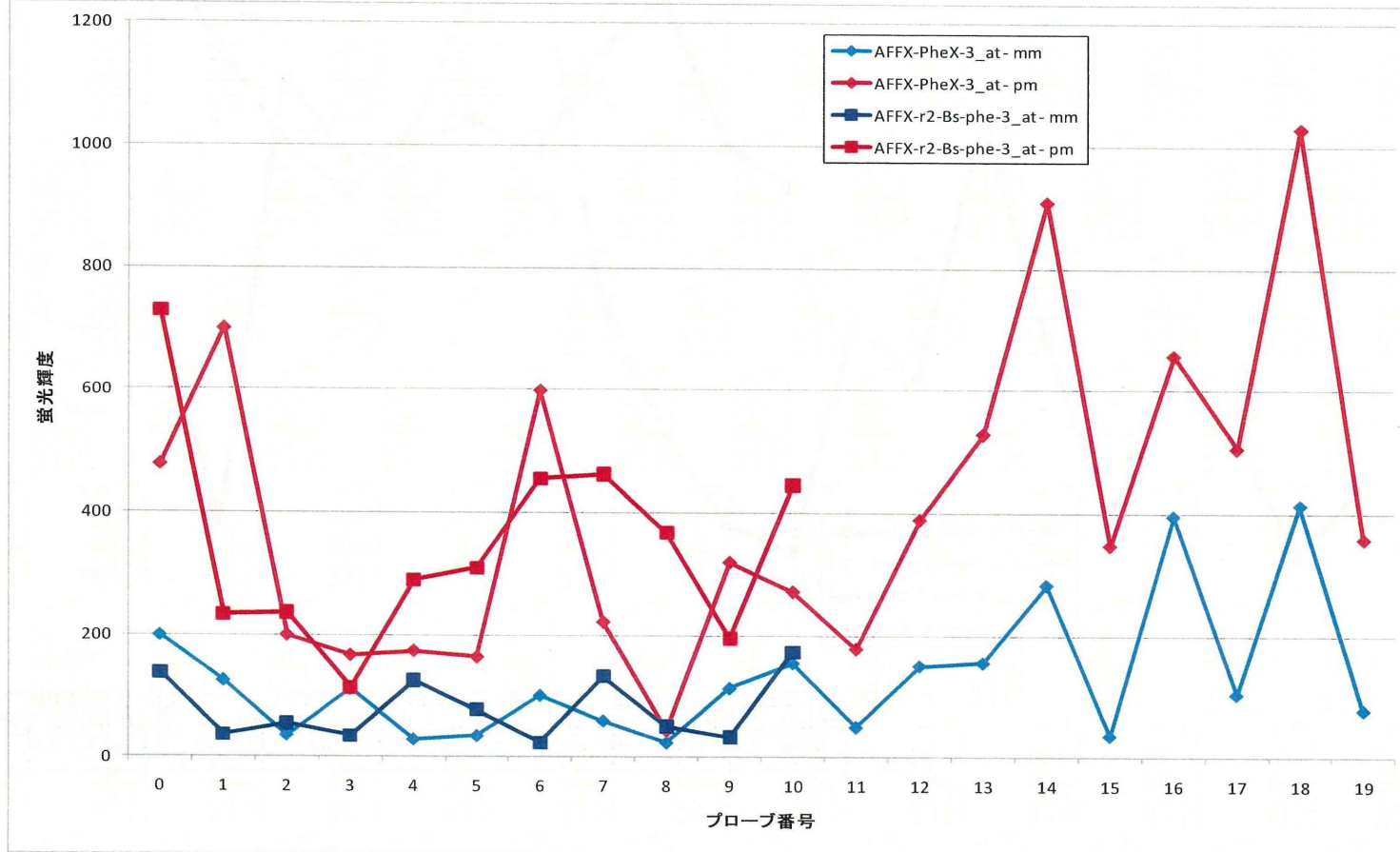
GSC-LYS 3'プローブの蛍光値



全体的にTHRより明るい

2.2.GSCのみを計測したチップの蛍光値

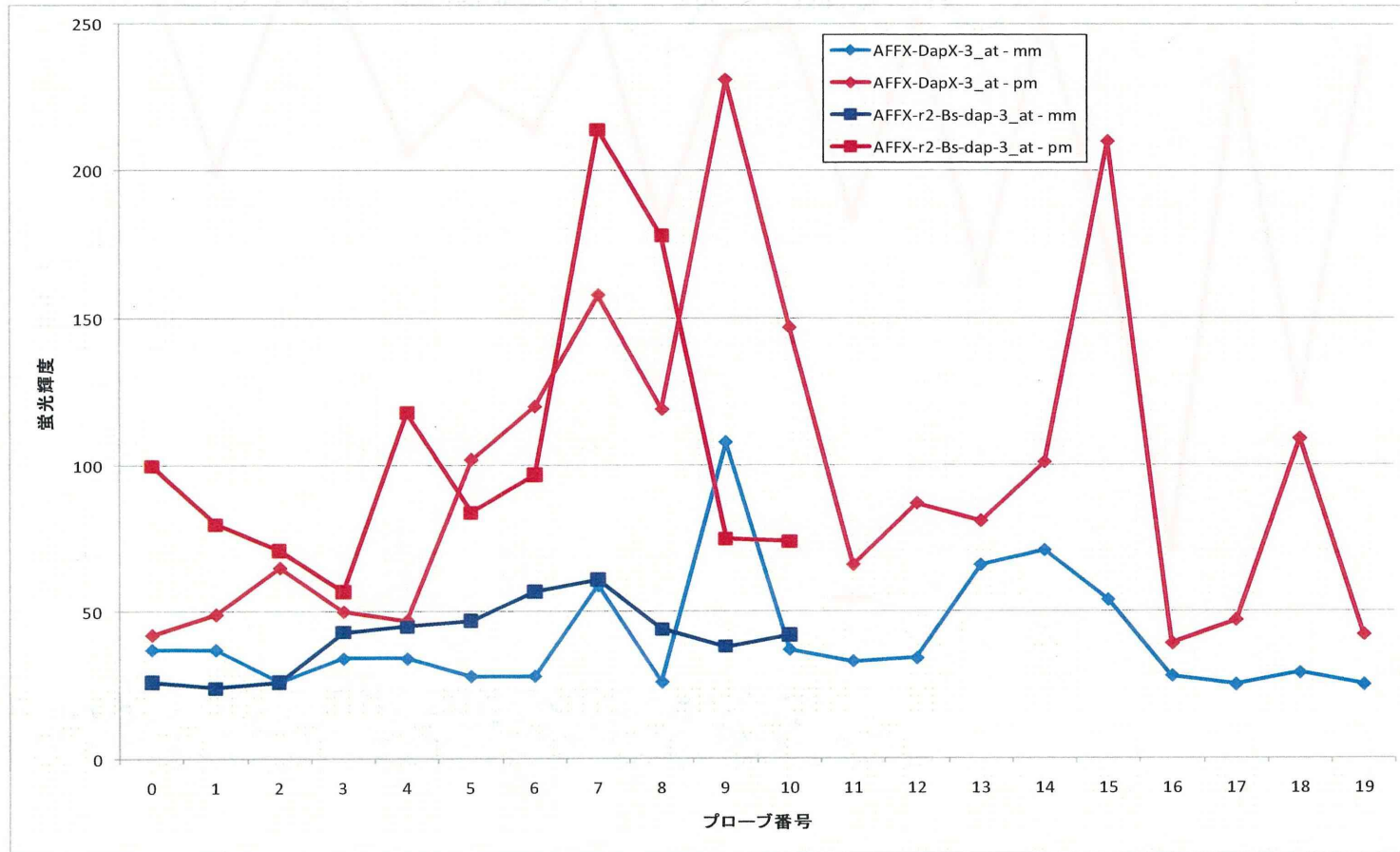
GSC-PHE 3'プローブの蛍光値



全体的にばらつきがあるが、PMがMMを上回っており、想定範囲の結果である

2.2.GSCのみを計測したチップの蛍光値

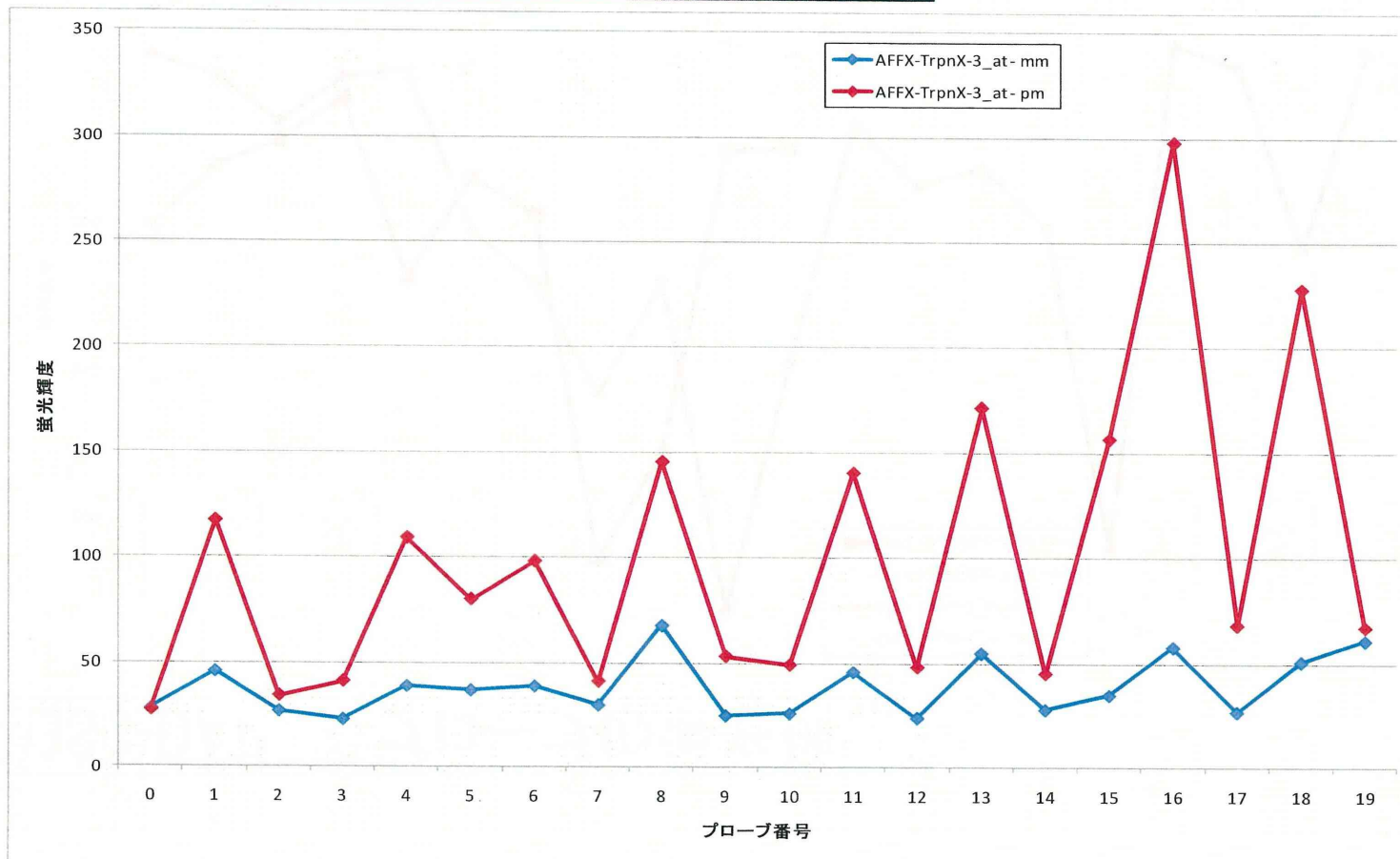
GSC-DAP 3'プローブの蛍光値



全体的にばらつきがあるが、PMがMMを上回っており、想定範囲の結果である

2.2.GSCのみを計測したチップの蛍光値

GSC-Trpn 3'プローブの蛍光値



全体的にばらつきがあるが、PMがMMを上回っており、想定範囲の結果である

2.2.GSCのみを計測したチップの蛍光値

- 一般プローブ(GSC、BioBCD,Cre以外のプローブ)
 - かなり明るいプローブが存在した。

No.	Prb_no	PrbNo	pm	GSC実験 時蛍光値	ブランク時平均 蛍光値	差異	Prb_ID
1	45063	11 pm		7157	80.67	7076.33	AFFX-MURINE_B2_at
2	45063	10 pm		6514	64.00	6450.00	AFFX-MURINE_B2_at
3	45063	9 pm		6284	72.00	6212.00	AFFX-MURINE_B2_at
4	26006	8 pm		5056	44.67	5011.33	1441700_at
5	38018	1 pm		4157	43.67	4113.33	1453723_x_at
6	19949	1 pm		4038	45.33	3992.67	1435643_x_at
7	45063	8 pm		3684	48.67	3635.33	AFFX-MURINE_B2_at
8	19949	2 pm		3558	55.67	3502.33	1435643_x_at
9	38018	2 pm		3490	46.33	3443.67	1453723_x_at
10	4771	5 pm		3397	94.33	3302.67	1420465_s_at
11	300	10 pm		3272	35.67	3236.33	1415969_s_at
12	45063	4 pm		3197	81.67	3115.33	AFFX-MURINE_B2_at
13	45041	19 pm		3109	31.67	3077.33	AFFX-b-ActinMur/M12481_3_at
14	4771	4 pm		3149	73.67	3075.33	1420465_s_at
15	45063	6 pm		3121	55.33	3065.67	AFFX-MURINE_B2_at

プローブとターゲット配列が一致するかを、係数作成の13塩基連続一致より短い8塩基以上として一致確認をしたが、関係が見つからなかった。

次の可能性が考えられる。

- (1)ターゲット配列が遺伝子全体を表していない
- (2)ターゲット配列と実験マウスの配列が異なる
- (3)もっと短い部分一致配列が蛍光値を決定している

通常の計測では、明るくならないプローブも明るくなっていた。(3)の可能性が高い

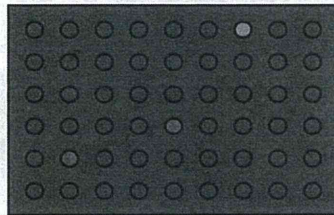
2.3.GSCのみを計測したチップの 蛍光値に対する考察

- ・ 通常の計測では影響を及ぼさないような関係で、影響を与えている可能性が示唆された。
- ・ GSCのみを計測した場合、ブランクを計測した場合には、通常のハイブリダイゼーションと異なり、RNAの存在量が大きく異なる。このため、通常のハイブリダイゼーションでは結合しないプローブにも大量に結合したのではないかと考えられる。
- ・ GSCのみを計測した結果とブランクチップの結果を用いて、係数を作成する点の課題が明らかになったものと考えられる。

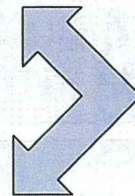
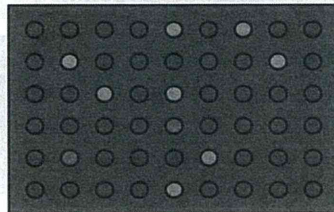
3.MLANG係数計算

従来はMLANGの係数の初期値として、ブランクとGSCのみを計測した結果の差から、GSCと各プローブの間の係数が存在するとして、当該組み合わせの係数を作成した。しかし、これらの関係は計測時のRNA濃度の違いなどから発生する物性の違いをも反映しているのではないかと思われる。

ブランク



GSC



差をGSCとの結合によるものと考え、係数を作成していた。

特殊な条件での初期係数を作成せず、プローブの配列とターゲットRNAの配列のマッチング条件から、プローブの端を含む場合には12mer以上の連続一致・プローブの端を含まない場合には13mer以上の連続一致している場合に係数を作成する

3.1.学習時における手動補正

・ 学習途中に手動にて、次の補正を実施した

1

プローブセット中PMプローブの幾何平均値を1に保つようにターゲット単位で補正を加える。異常を示したプローブは除外する

2

係数が小さくなりすぎた場合には、MM Probe、PM Probeの半特異的結合は、あり得ないとして削除。PM Probeの特異的結合は、他の関係があるはずとして、ランダムで追加し、係数を若干大きくする

3

背景用ターゲットの係数が小さくなりすぎた場合には、他の関係があるはずとして、係数を追加し、自身の係数を大きくする

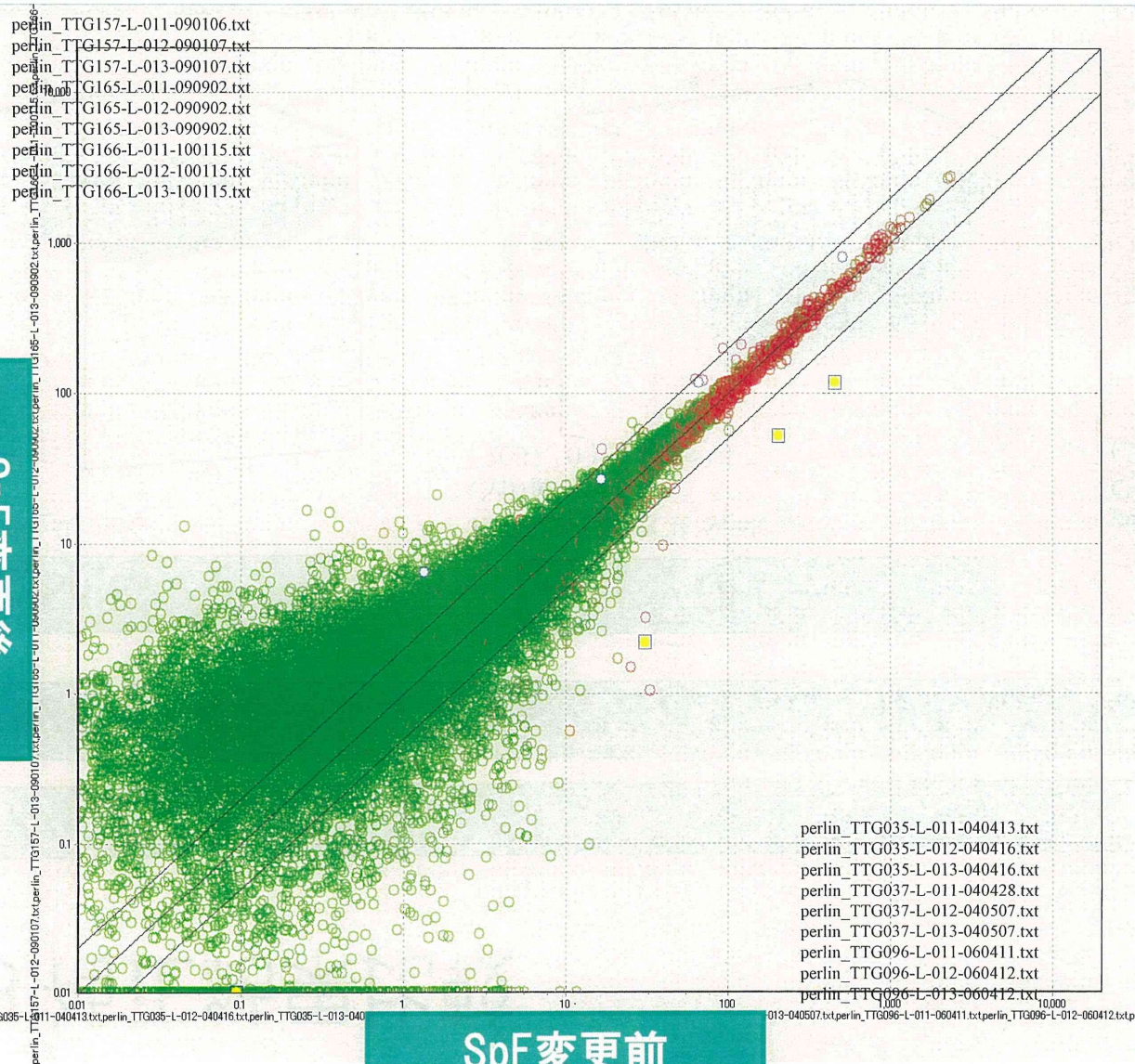
4

係数が大きくなりすぎる場合には、背景用ターゲットで表現されるべきであるとして、係数を削除する。

5

ターゲット用プローブの係数が5を超えた場合には、異常を示したプローブとしてマークする。係数が0.5~2の間の場合には改善したとして、異常のマークを外す

3.2.SpF変更前後の補正結果比較



補正係数の学習が適切に進んでいるかを確認するために、SpF変更前後の肝臓溶媒群の補正を実施した

高濃度において、対角線上にあり、ほぼ同じコピー数を推定できている

-147-

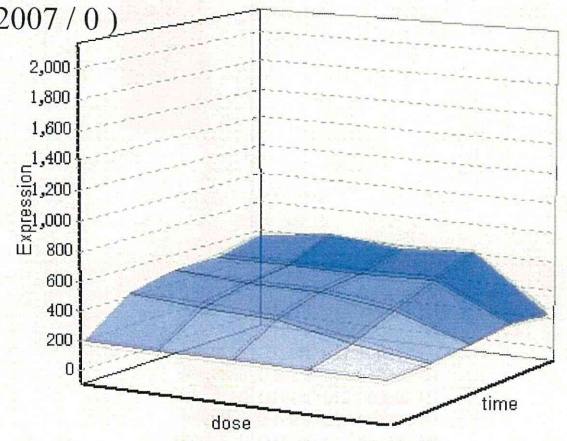
3.3.補正結果比較

TTG020-L(TCDD肝臓)

Cyp1a2 ダイオキシン類で誘導されることが知られている

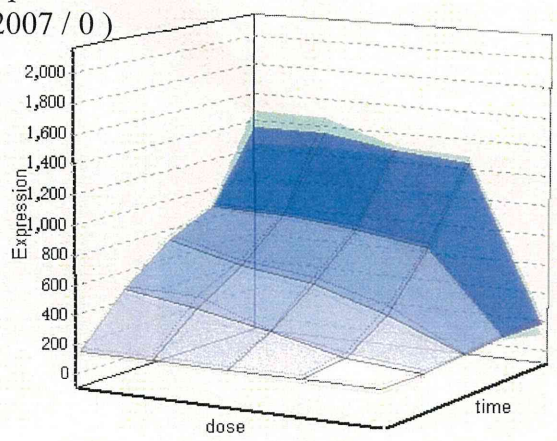
SpNC

TTG020-L_SpNC_050715_at
Cyp1a2
(2007/0)



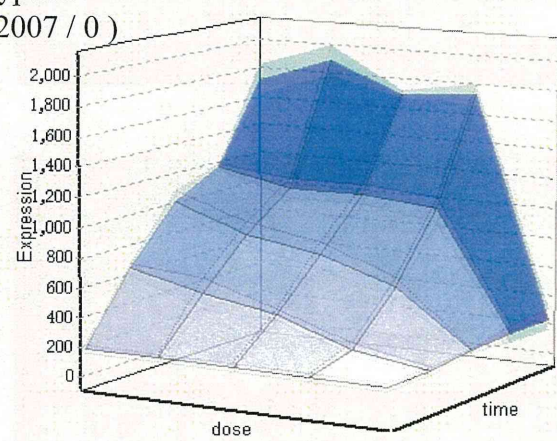
QPCR

TTG020-L_QPCR_SpNC_050715_at
Cyp1a2
(2007/0)



MLANG

perclin_TTG020-L_07200_050715_at
Cyp1a2
(2007/0)



飽和状況が改善されている

-148-

3.3.補正結果比較

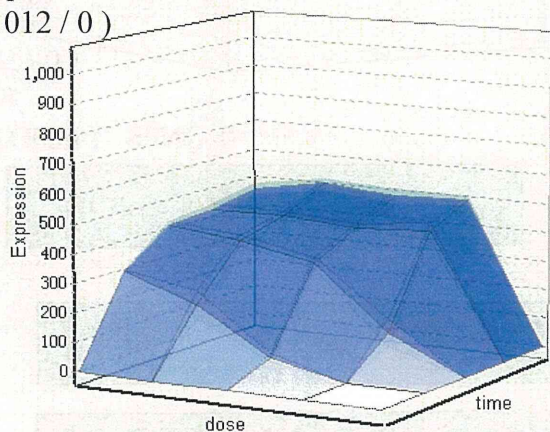
TTG020-L(TCDD肝臓)

Cyp1a1

ダイオキシン類で誘導されることが知られている

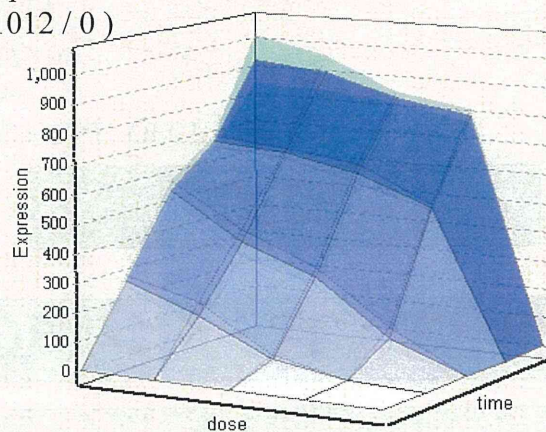
SpNC

TTG020-L_SpNC_0
Cyp1a1
(1012/0)



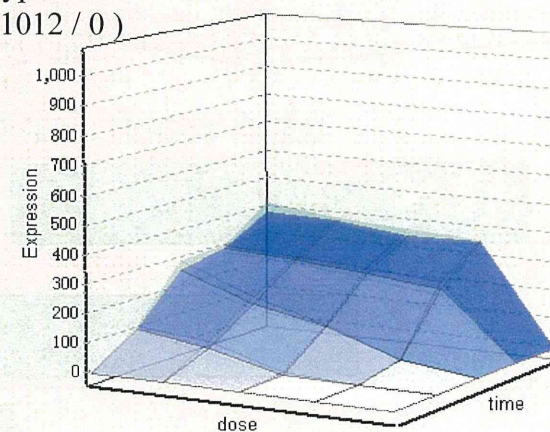
QPCR

TTG020-L_QPCR_SpNC_0
Cyp1a1
(1012/0)



MLANG

perclin_TTG020-L_07200
Cyp1a1
(1012/0)



飽和状況が改善されているが、MLANGは結果全体が低い

3.3.補正結果比較

TTG020-L(TCDD肝臓)

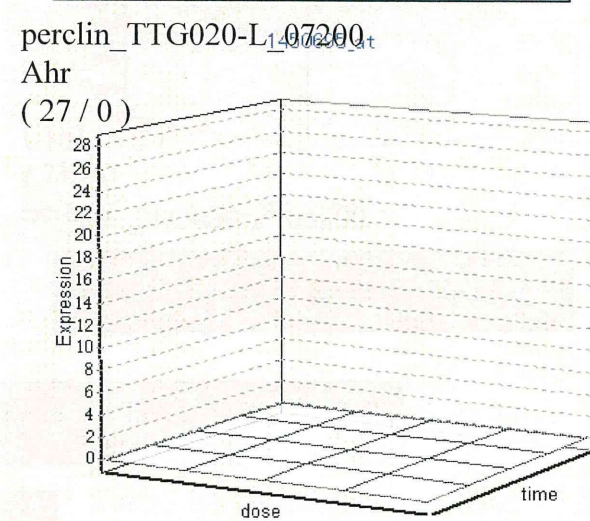
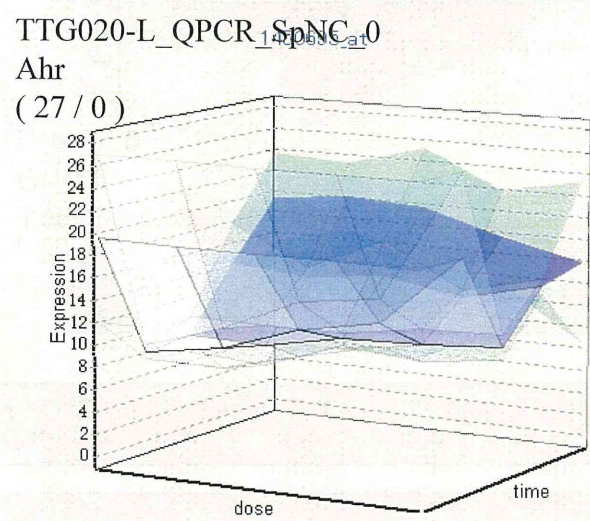
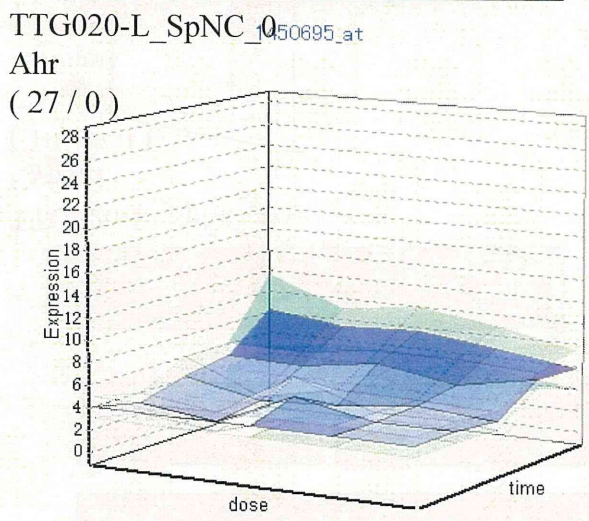
Ahr ダイオキシン類のレセプターとして知られている

SpNC

QPCR

MLANG

-150-



MLANGは結果全体が低い(0となっている)

3.3.補正結果比較

TTG020-L(TCDD肝臓)

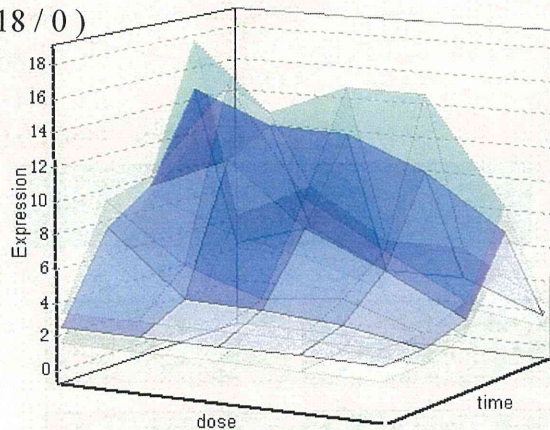
Per2

概日リズムの遺伝子として知られている

SpNC

TTG020-L_SpNC_1017602_at

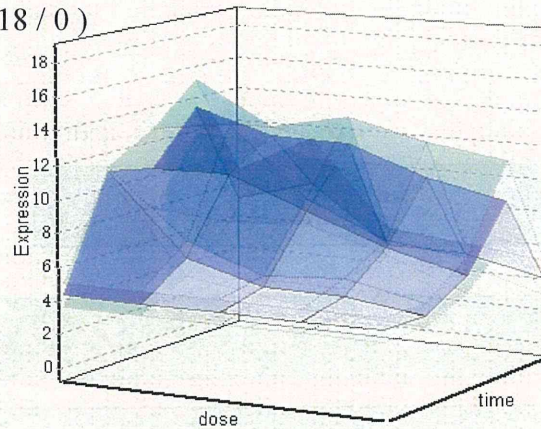
Per2
(18 / 0)



QPCR

TTG020-L_QPCR_SpNC_1017602_at

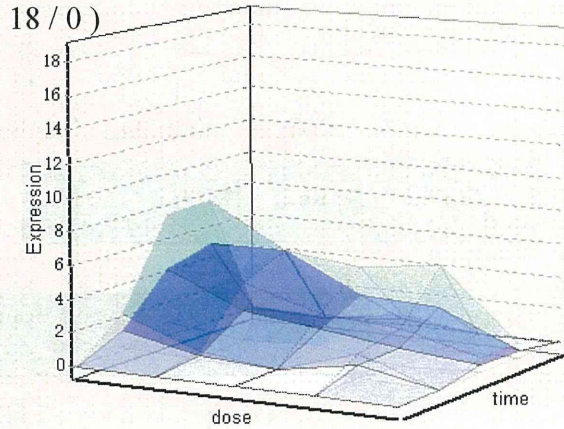
Per2
(18 / 0)



MLANG

perclin_TTG020-L_107200_at

Per2
(18 / 0)



MLANGは結果全体が低い

3.3.補正結果比較

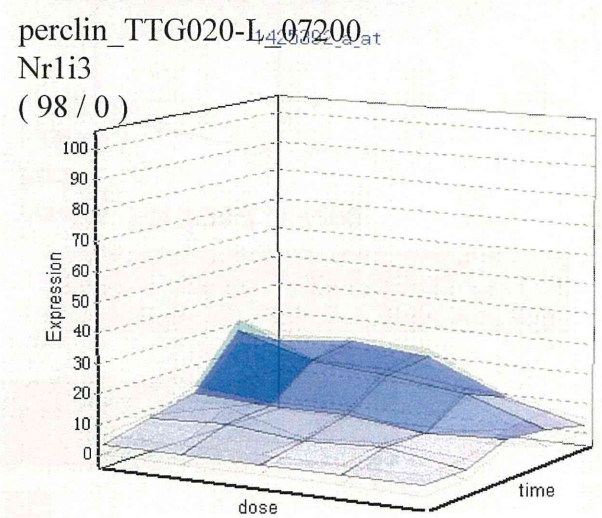
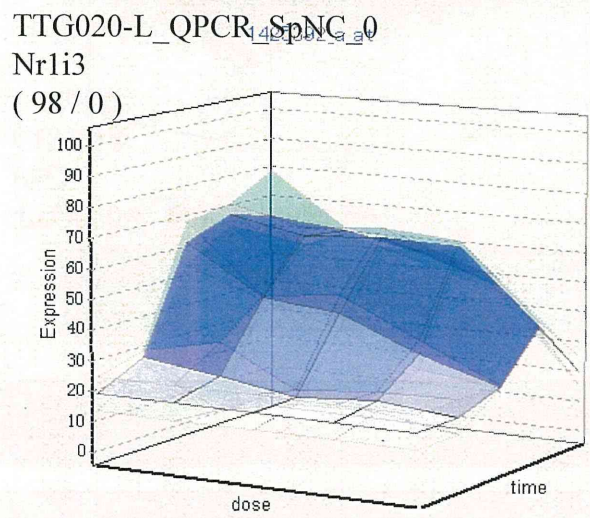
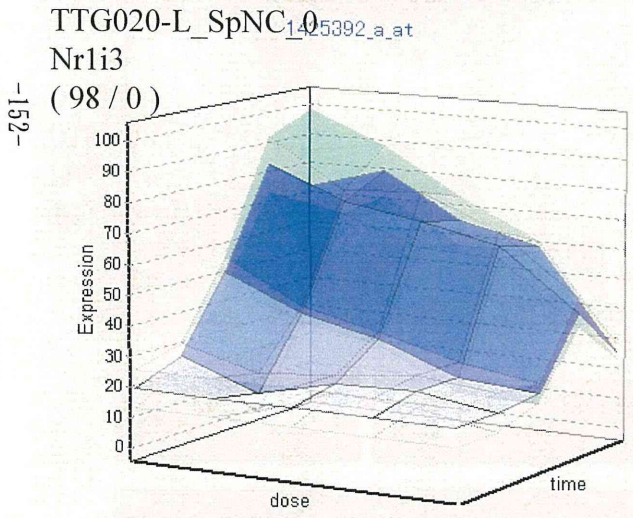
TTG020-L(TCDD肝臓)

Nr1i3 アンドロスタンレセプター

SpNC

QPCR

MLANG



MLANGは結果全体が低い

4.化合物分類

- ・ MLANG補正における、SpFの変更による遺伝子濃度推定結果への影響を排除できた。
- ・ 化合物分類を実施し、その結果を検証する。

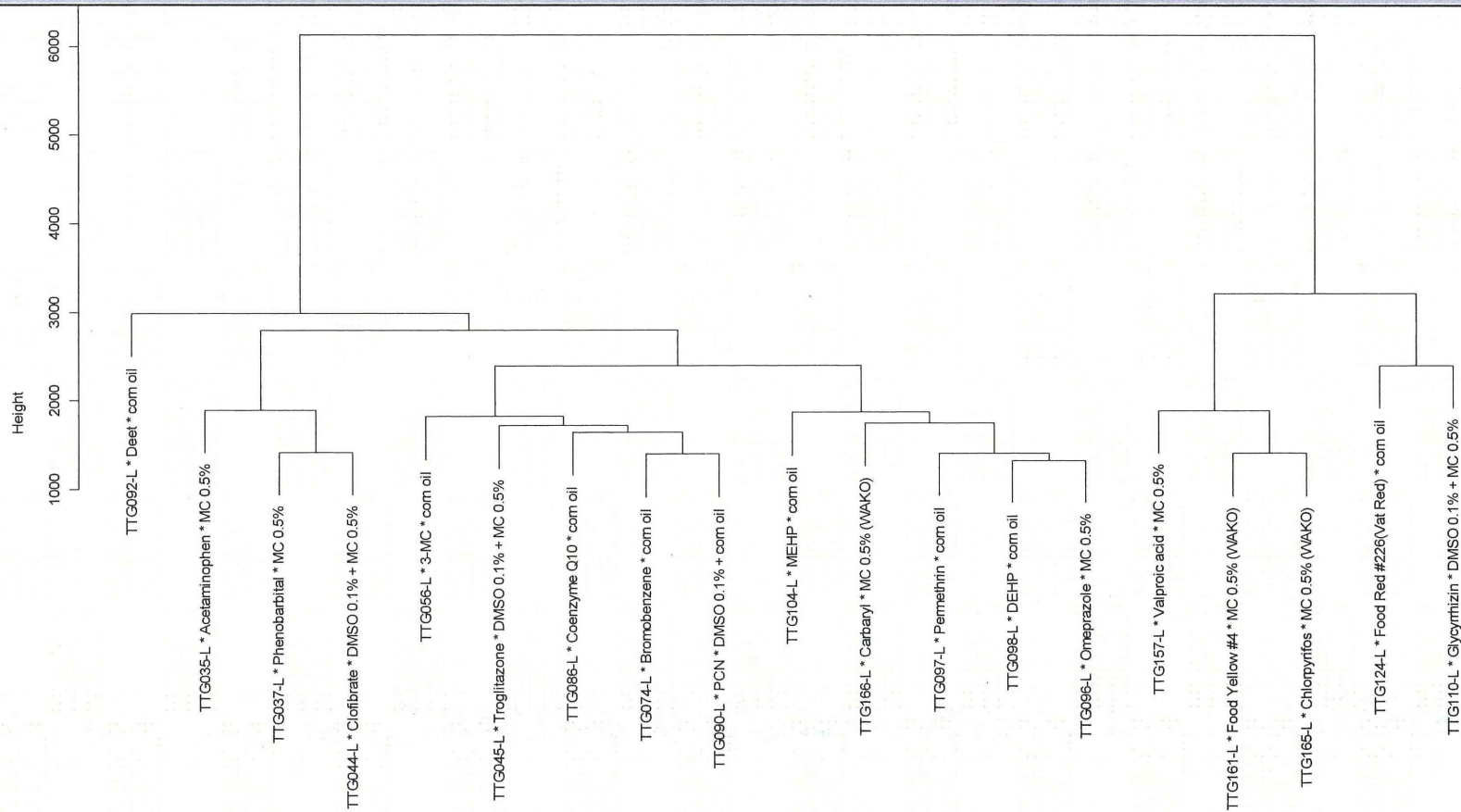
4.1.対象化合物

先の分類と同様に、次の19化合物を対象に分析を試みる

Project No.	Project Name	Chemical	SpF	Vehicle	date
0086TTG035-L		Acetaminophen	0.02	MC 0.5%	2004/2/26
0014TTG037-L		Phenobarbital	0.02	MC 0.5%	2004/2/19
0033TTG044-L		Clofibrate	0.02	DMSO 0.1% + MC 0.5%	2004/5/13
0029TTG045-L		Troglitazone	0.02	DMSO 0.1% + MC 0.5%	2004/5/20
0052TTG056-L		3-MC	0.02	corn oil	2004/9/16
0090TTG074-L		Bromobenzene	0.02	corn oil	2005/5/12
0271TTG086-L		Coenzyme Q10	0.02	corn oil	2005/11/15
0237TTG090-L		PCN	0.02	DMSO 0.1% + corn oil	2005/10/20
0219TTG092-L		Deet	0.02	corn oil	
0272TTG096-L		Omeprazole	0.02	MC 0.5%	2006/3/30
0273TTG097-L		Permethrin	0.02	corn oil	2006/4/13
0107TTG098-L		DEHP	0.02	corn oil	
0108TTG104-L		MEHP	0.02	corn oil	2006/5/16
0183TTG110-L		Glycyrrhizin	0.02	DMSO 0.1% + MC 0.5%	
0147TTG124-L		Food Red #226(Vat Red)	0.005	corn oil	2007/1/25
0245TTG157-L		Valproic acid	0.005	MC 0.5%	2008/12/18
0274TTG161-L		Food Yellow #4	0.005	MC 0.5% (WAKO)	2009/4/23
0275TTG165-L		Chlorpyrifos	0.005	MC 0.5% (WAKO)	2009/7/16
0276TTG166-L		Carbaryl	0.005	MC 0.5% (WAKO)	2009/12/17

4.2.階層クラスタリング結果（溶媒群）

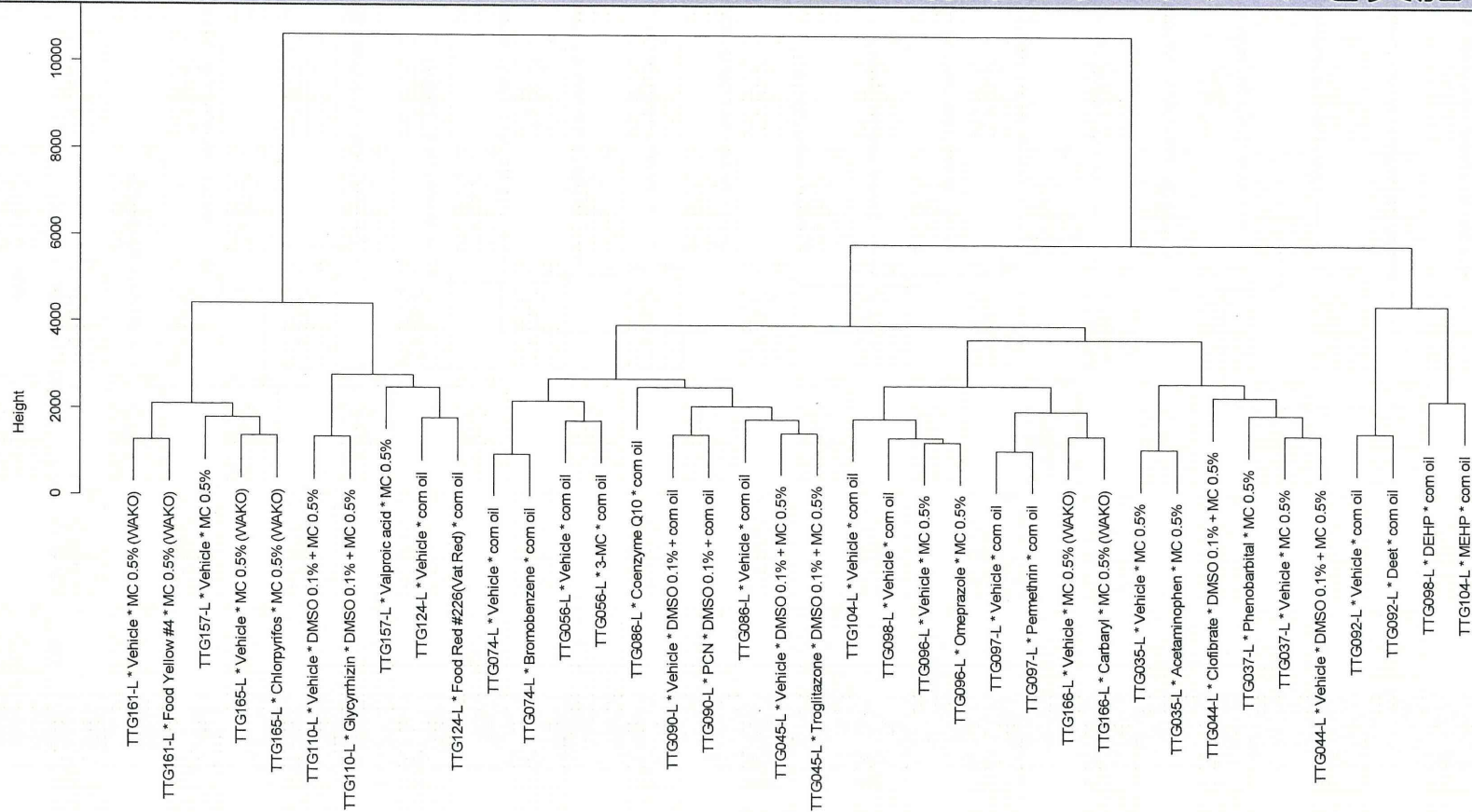
溶媒群同士の距離を求め、階層クラスタリングを実施した。



分岐に影響を与えている情報の判読は難しい

4.3.溶媒群および最大Dose

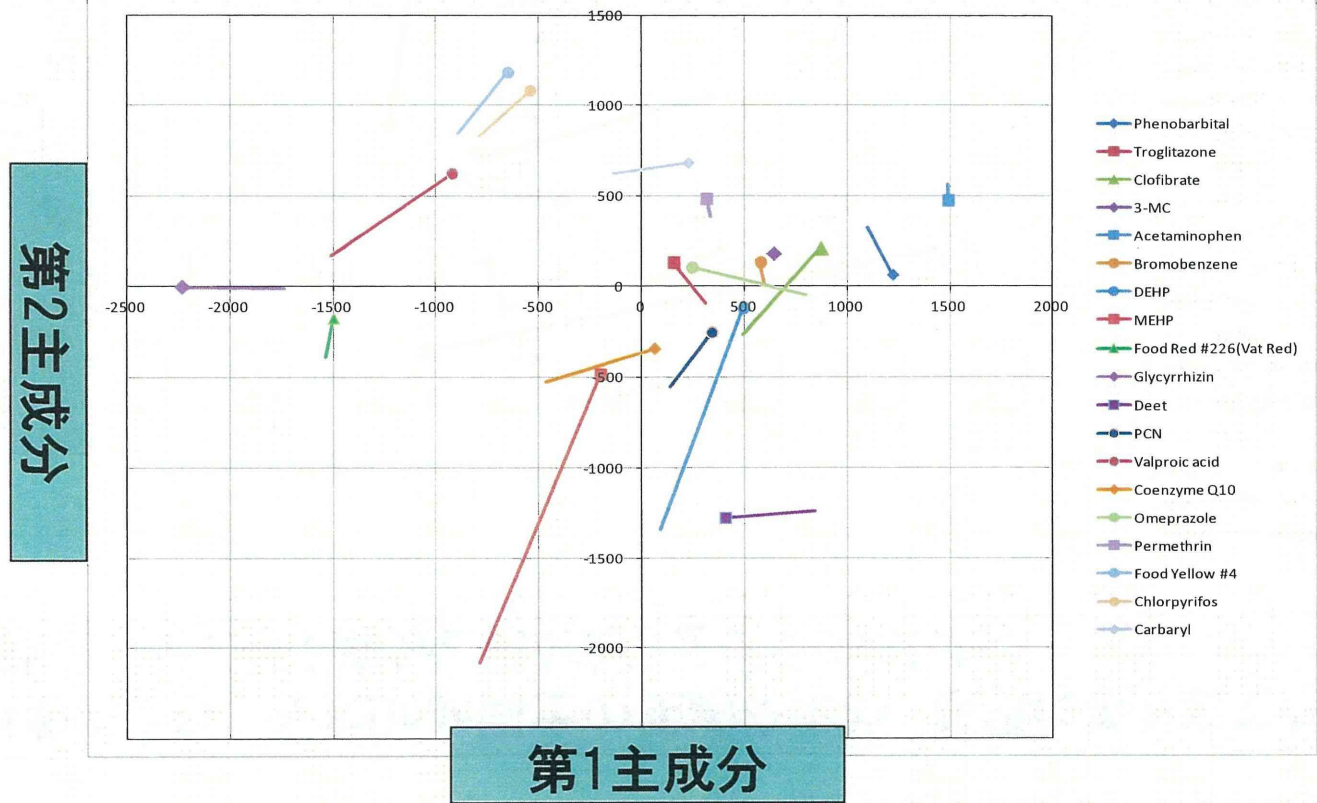
溶媒群および、最大Dose同士の距離を求め、階層クラスタリングを実施した。



分岐に影響を与えている情報の判読は難しい

4.4.1.主成分分析結果

溶媒群および、最大Dose同士の距離を求め、座標に割り当てた後、主成分分析を実施した。その第1成分と第2成分をグラフにした。



第1主成分は、プロジェクト間の違いを表しているように思われる。第2主成分は、MEHP、DEHPの反応を表しているように思われる。