



■ DNA → mRNA → たんぱく質 → 形質発現

■ トキシコゲノミクス

■ トキシコプロテオミクス

■ 毒性病理学(形態学・機能学)

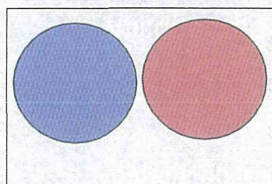
網羅性、ハイスループット性、信頼性に優れた技術が利用可能  
(cDNAマイクロアレイ技術)  
【全ゲノムが解読されたことが背景にある】

### 形質非依存的アプローチ phenotype情報を用いない方法の必要性

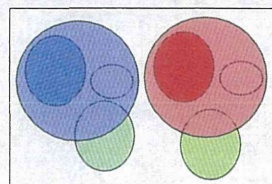
例え話: ウイルス肝炎

- ひと昔前: A型、B型、non-A non-B型  
- データを 3通りに分類してきた
- 少し前: C型の出現、  
- データを、4通りに分類し直し
- 遺伝子発現情報は、いまは未認識の「分類」を含んでいる。  
- 既知情報で分類してしまう弊害: 新分類の発見を障害する

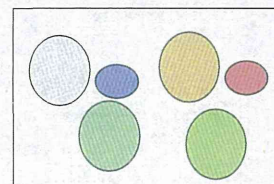
Known phenotype



Combination



Transcriptome clusters



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。

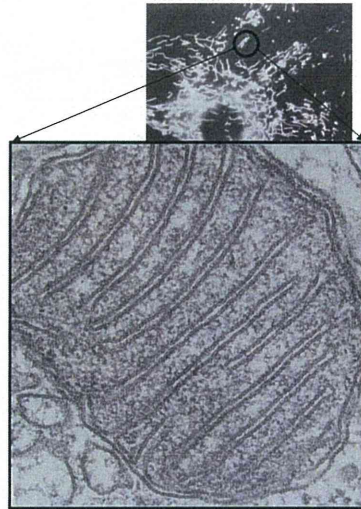
電子顕微鏡の教科書や図譜が出来るまでに、10~20年。  
研究者が多数の電子顕微鏡写真をアーカイブ化した。

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。



## 形質非依存型 Toxicogenomics Phenotype-independent Toxicogenomics

“No direct links  
between **mRNA expression** profile and **toxicity (phenotype)**”

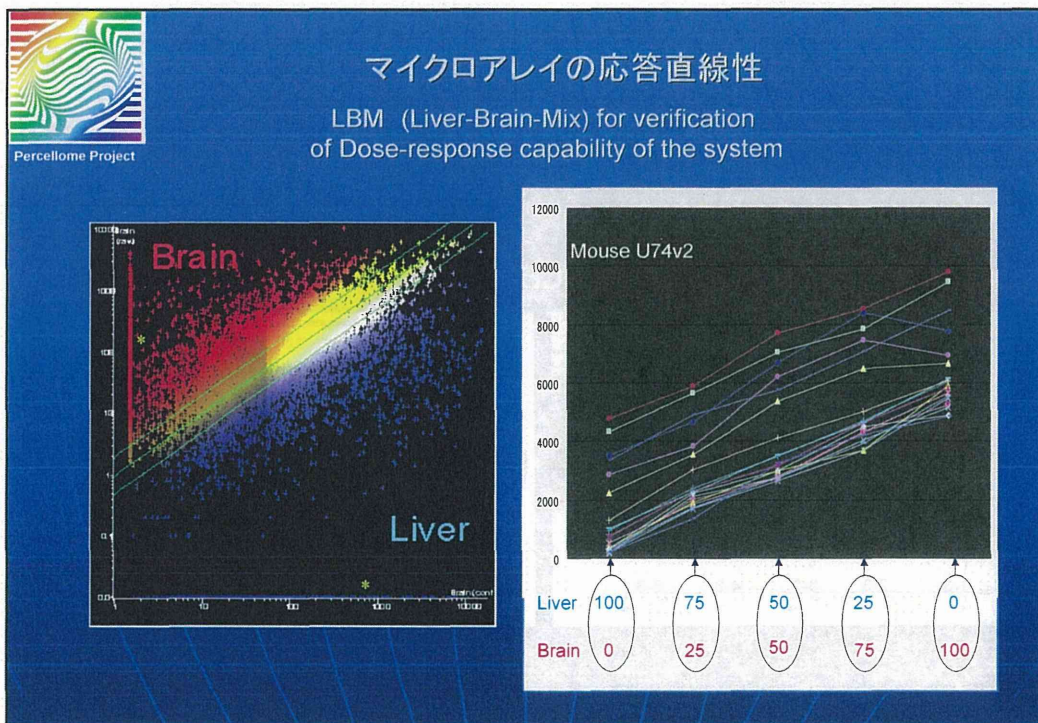
--- 全ての遺伝子が平等に重要

- データ蓄積が必須
- 増 減 不変 全てが知りたい Up / Down / Unchanged
- Least Cross-Hybridization
- データの連続性・互換性 Data Continuity / Compatibility
  - 時間 Time (version-up)
  - 空間 Space (machine, buffer, etc.)
  - ...

強力な標準化が必須 Intensive normalization strategy

## Percellome 法

遺伝子発現を細胞あたりのコピー数  
(平均)として求める





Percellome Project

# Two color system

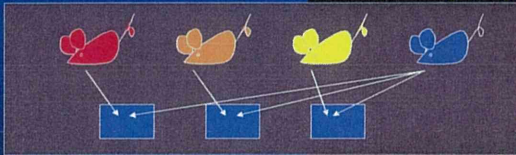
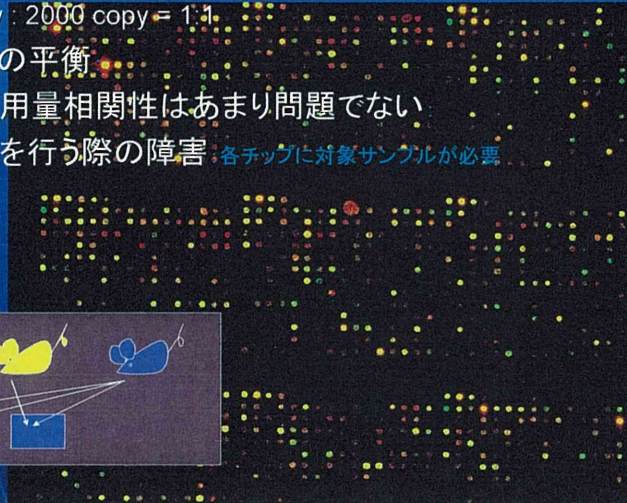
## ■ Ratio Only

- 100 copy : 100 copy = 1:1
- 2000 copy : 2000 copy = 1:1

## ■ 飽和状態での平衡

## ■ 蛍光強度の用量相関性はあまり問題でない

## ■ 複数の実験を行う際の障害: 各チップに対象サンプルが必要

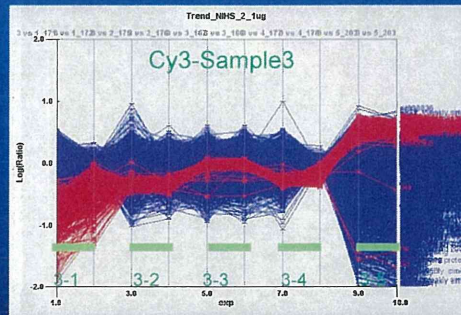
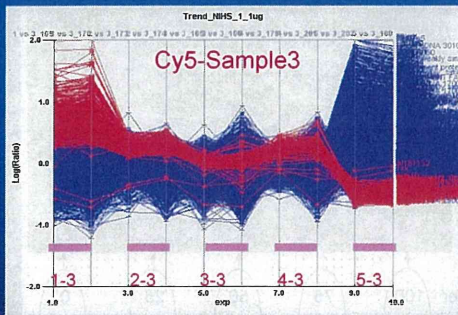


Percellome Project

# Liver-Brain Mix sample by 2-color array

## ■ Y axis: LogRatio

## ■ X axis: Array (duplicate)





Percellome Project

# BMC Genomics



Methodology article

Open Access

## "Per cell" normalization method for mRNA measurement by quantitative PCR and microarrays

Jun Kanno\*<sup>†1</sup>, Ken-ichi Aisaki<sup>†1</sup>, Katsuhide Igarashi<sup>1</sup>, Noriyuki Nakatsu<sup>1</sup>, Atsushi Ono<sup>1</sup>, Yukio Kodama<sup>1</sup> and Taku Nagao<sup>2</sup>

Address: <sup>1</sup>Division of Cellular and Molecular Toxicology, National Institute of Health Sciences, 1-18-1, Kamiyoga, Setagaya-ku, Tokyo 158-8501, Japan and <sup>2</sup>President, National Institute of Health Sciences, 1-18-1, Kamiyoga, Setagaya-ku, Tokyo 158-8501, Japan

Email: Jun Kanno\* - kanno@nihs.go.jp; Ken-ichi Aisaki - aisaki@nihs.go.jp; Katsuhide Igarashi - igarashi@nihs.go.jp; Noriyuki Nakatsu - nakatsu@nihs.go.jp; Atsushi Ono - atsushi@nibio.go.jp; Yukio Kodama - kodama@nihs.go.jp; Taku Nagao - nagao@nihs.go.jp

\* Corresponding author †Equal contributors

Open Access

on line journal: **BMC Genomics. 2006 Mar 29;7(1):64**

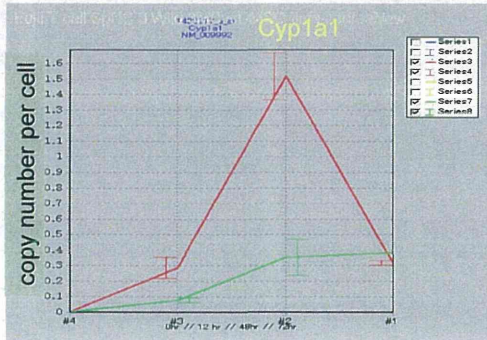
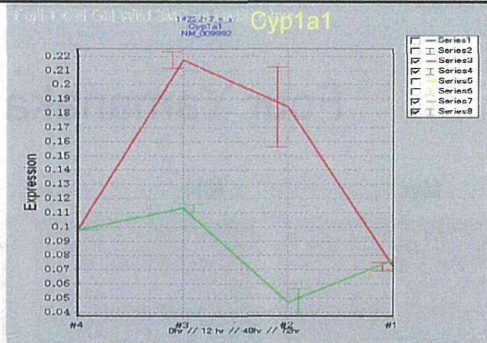
PMID: 16571132

## Global Normalization

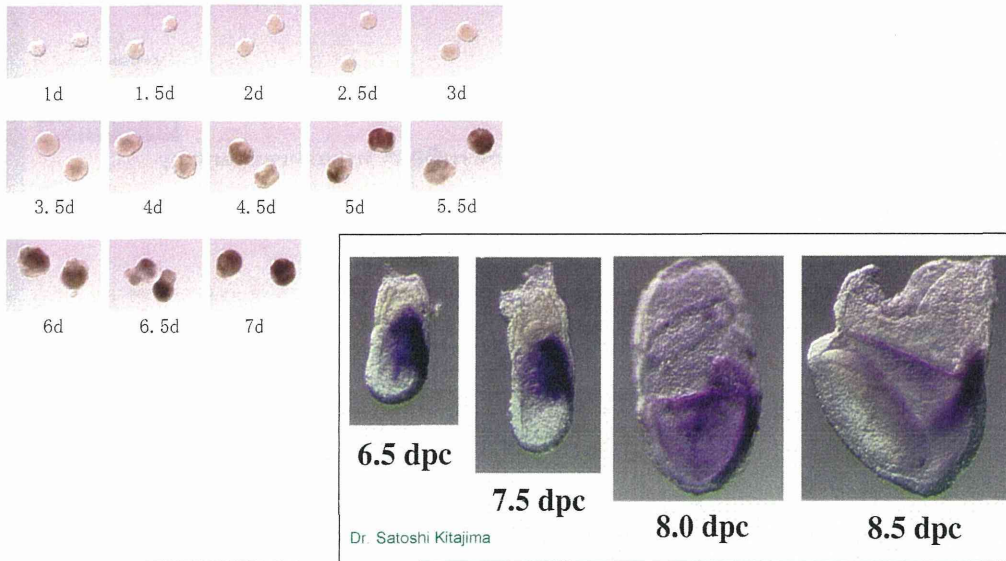
*In vitro* Experiment

Cyp1a1 induction by an AhR ligand chemical

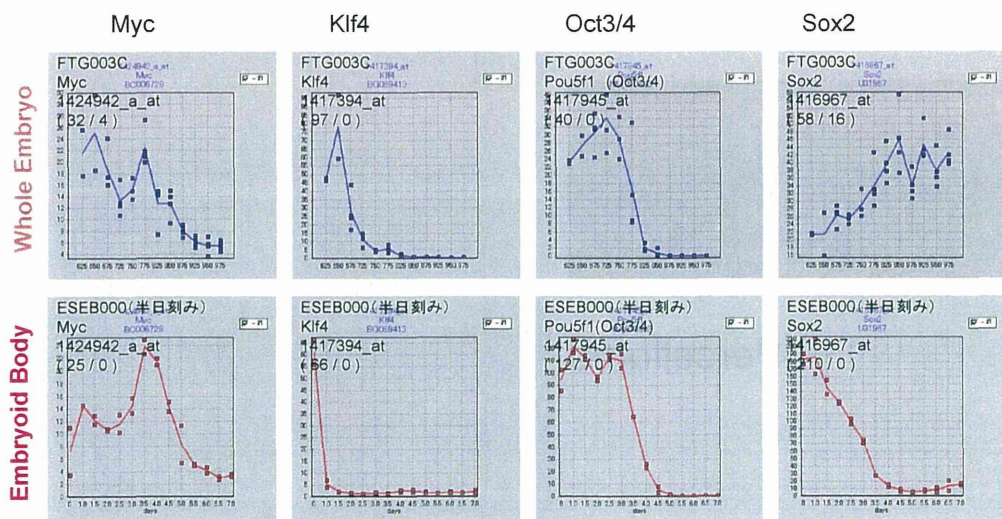
## Percellome



## Fetus (Developmental) toxicogenomics (Percollome)

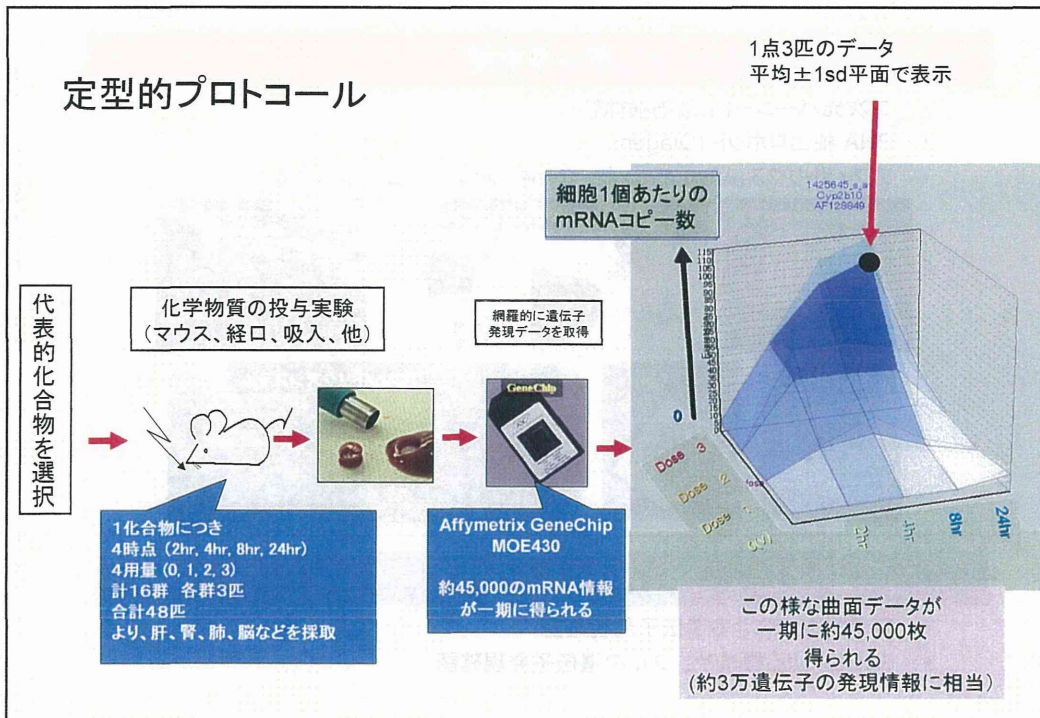


## Four Yamanaka iPS genes



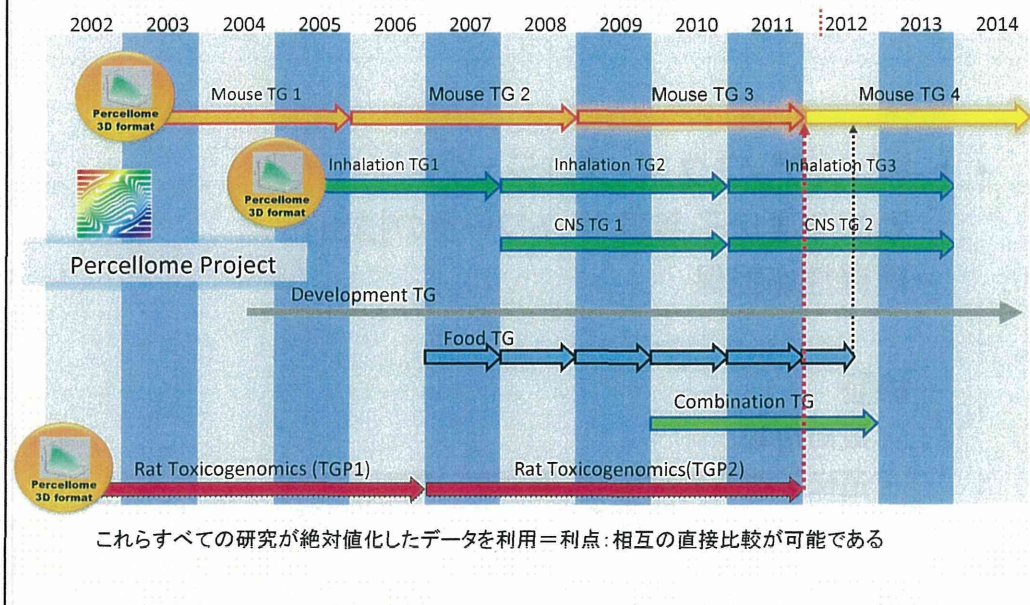
- トキシコゲノミクス・プロジェクト
  - 動的な遺伝子発現ネットワークの描出
  - 網羅性を担保
- 検証
  - 既知情報
  - 遺伝子改変動物による客観データ

## 定型的プロトコール



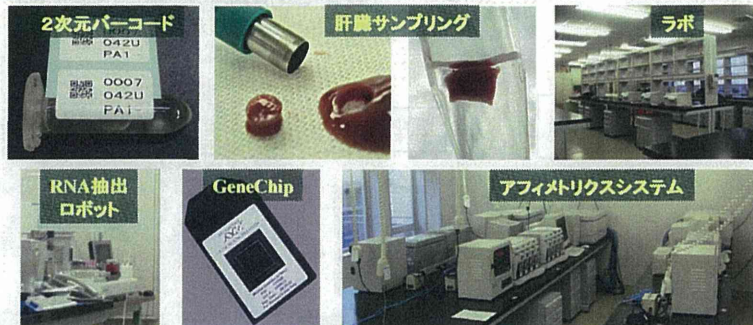


## 毒性部が展開するトキシコゲノミクス研究



### データ生成

- 二次元バーコードによる検体管理
- RNA 抽出ロボット (Qiagen)
- アフィメトリクス(Affymetrix) 社 Genechipシステム (3システム)



### 精度管理

- 定量的PCRによる遺伝子発現確認
- SAGEによる標準サンプルの遺伝子発現確認

