

まとめ

平成25年度:

マスター遺伝子を基軸とした関連遺伝子の連鎖的捕捉

← 3次元Spline補間とその微分関数を利用し、遺伝子毎に発現変動起点候補と発現ピークの時点を抽出する技術を開発し解析を行う

■ Shh関連遺伝子が存在する

発現変動起点: 18~24 (胎生7.00~7.25)

発現ピークの時点: 36~54 (胎生7.75~8.50)

→ 8,306 psが抽出

→ 目視により生物学的変動を示すと考えられる遺伝子数:

648 ps (Shh関連遺伝子を含む)

→ 抽出遺伝子(648 ps)についての転写制御の解析(in silico):

37遺伝子が抽出

→ 発現の空間分布を検討(whole mount ISH データベース) (in silico):

8遺伝子については、Shh発現部位に隣接する中胚葉に局限する発現パターンが報告

※ Shh受容体を介さずにGli遺伝子の発現を制御する因子の存在が想定された:

→ Tgfβシグナルである可能性を示唆

Shhシグナルネットワークをモデルに、本解析手法の性能評価をしたところ、機能が既知の関連遺伝子だけではなく未知のものも抽出できた。

発現変動起点ごとの遺伝子数の分布 (3時間ごとに区分)

発現変動起点(時間) (胎齢)	抽出された 遺伝子数 (P.S.)	発現変動起点(時間) (胎齢)	抽出された 遺伝子数 (P.S.)
1~3 (胎生6.25~6.50日)	21	43~45 (胎生8.00~8.25日)	6
4~6 (胎生6.25~6.50日)	39	46~48 (胎生8.00~8.25日)	11
7~9 (胎生6.25~6.50日)	11	49~51 (胎生8.25~8.50日)	8
10~12 (胎生6.25~6.50日)	9	52~54 (胎生8.25~8.50日)	0
13~15 (胎生6.75~7.00日)	38	55~57 (胎生8.50~8.75日)	3
16~18 (胎生6.75~7.00日)	666	58~60 (胎生8.50~8.75日)	41
19~21 (胎生7.00~7.25日)	6,322	61~63 (胎生8.75~9.00日)	45
22~24 (胎生7.00~7.25日)	1,522	64~66 (胎生8.75~9.00日)	1
25~27 (胎生7.25~7.50日)	278	67~69 (胎生9.00~9.25日)	0
28~30 (胎生7.25~7.50日)	127	70~72 (胎生9.00~9.25日)	0
31~33 (胎生7.50~7.75日)	41	73~75 (胎生9.25~9.50日)	0
33~36 (胎生7.50~7.75日)	78	76~78 (胎生9.25~9.50日)	0
37~39 (胎生7.50~7.75日)	35	79~81 (胎生9.50~9.75日)	0
40~42 (胎生7.50~7.75日)	8	82~84 (胎生9.50~9.75日)	0

発現変動起点が胎生7.00~7.25日に存在する遺伝子数が多い
[Shhシグナルを検討した区間に相当]

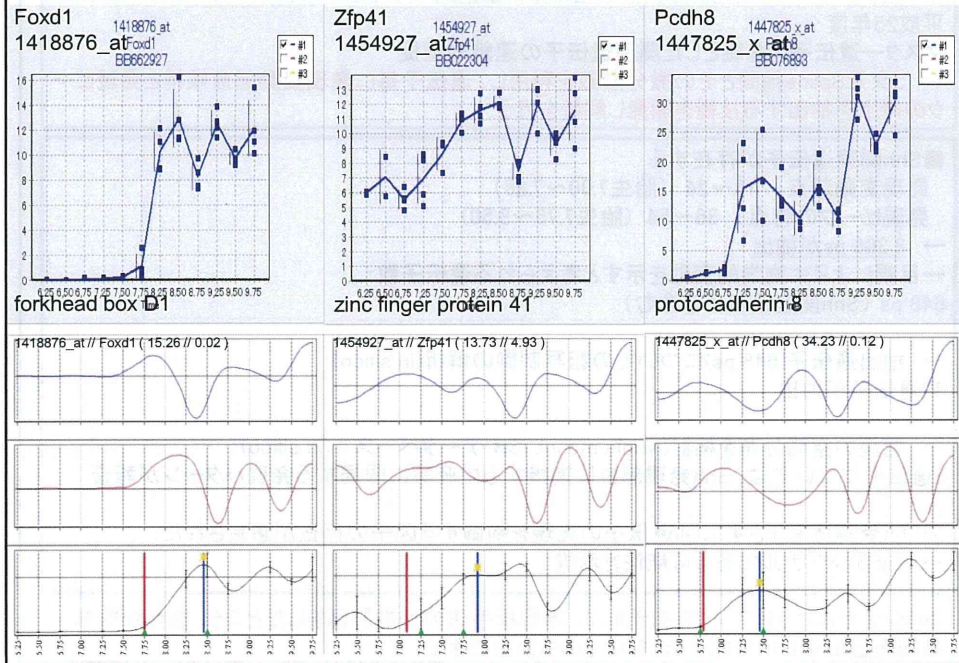
この時期は、中胚葉誘導や器官形成が活発な時期であり生物学的に妥当と考えられる

他方、本解析手法では、Spline関数を2回微分して得た曲線にて、最初に有意なピークを形成する時点を発現変動起点としている

→ 発現ピークが複数回、つまり発現変動起点が複数存在する遺伝子の場合、第二、第三のピーク時点での抽出が困難になる可能性がある

→ 今後、網羅的な検索に向け、最初だけではなく、複数回目のピークも含めて抽出する事を検討予定

発現変動起点が複数存在する遺伝子の例



目的

胎児発生過程におけるマスター遺伝子を基軸とした遺伝子発現ネットワークの網羅的解析

- 胎児発生過程: 自律的な遺伝子発現が多い
- 連続性のある遺伝子発現変動現象として長時間にわたるものであり、遺伝子発現シグナルの流れを解析するのに適している
- 活発な細胞増殖や多様な細胞分化が同時並行で起こるため、要素分析が困難

平成25年度:

マスター遺伝子を基軸とした関連遺伝子の連鎖的捕捉

← 3次元Spline補間とその微分関数を利用し、遺伝子毎に発現変動起点候補と発現ピークの時点を抽出する技術を開発し解析を行う

まとめ

既知のShhシグナルネットワークをモデルに、本解析手法の性能評価をしたところ、*in silico*のプロモーター解析及びwhole mount ISH データベースの利用しつつ解析した結果、機能が既知の関連遺伝子だけでなく未知のものも抽出できた

本解析手法では、Spline関数を2回微分して得た曲線にて、**最初に有意なピークを形成する時点を発現変動起点としている**

→ 発現ピークが複数回、つまり発現変動起点が複数存在する遺伝子の場合、第二、第三のピーク時点での抽出が困難になる可能性がある

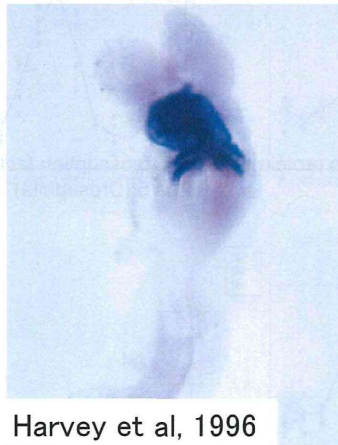
→ 今後、網羅的な検索に向け、最初だけではなく複数回目のピークも含めて抽出する事を検討予定

Nkx2.5シグナリング (心筋前駆細胞マーカー、心臓発生過程) についての検討



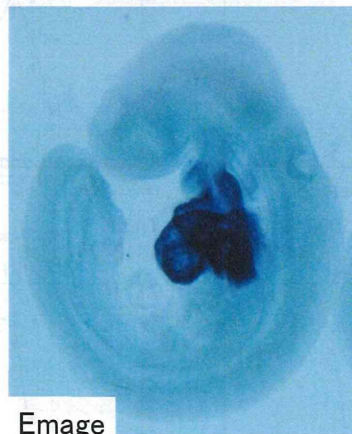
マウス胚におけるNkx2-5の発現

胎生8.75日



Harvey et al, 1996

胎生9.5日



Emage

初期心臓前駆細胞で発現するマーカー: Mesp1、Flk1 (Kdr)
 ↓
 心筋前駆細胞マーカー: Nkx2.5 (Nkx2-5)
 ↓
 心筋マーカー: Cardiac actin (Actc1), Troponin T2 (Tnnt2)

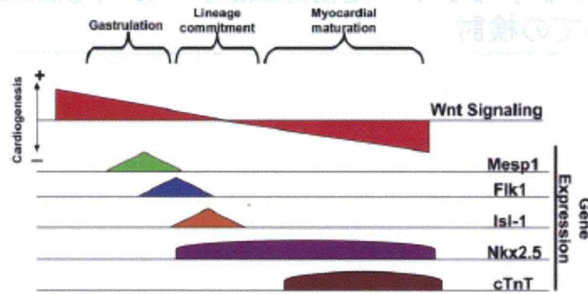
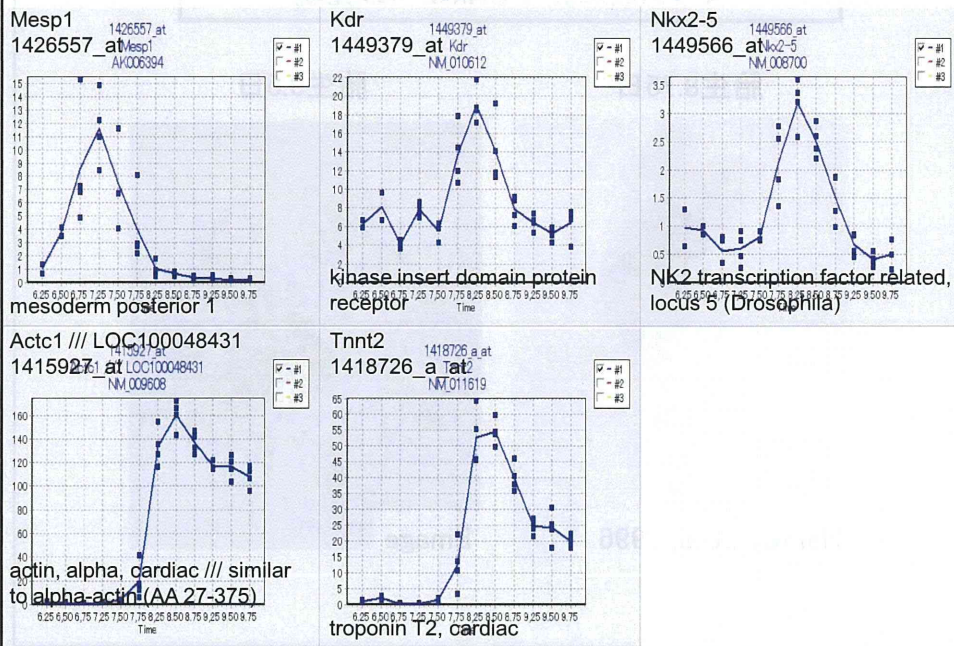


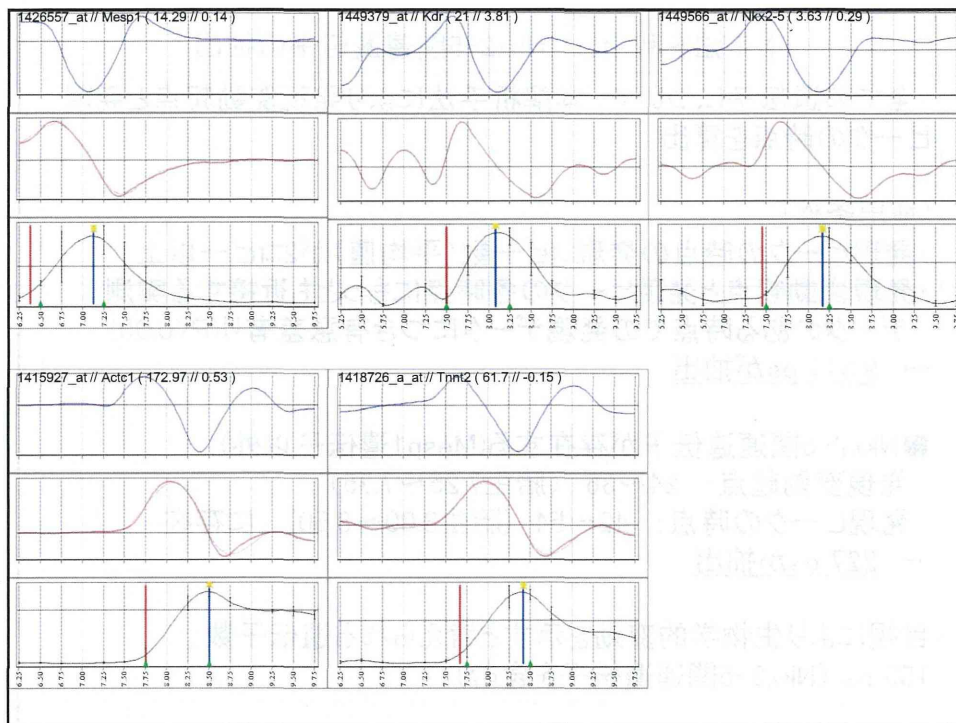
Figure 1. The Biphasic Effect of Wnt Signaling in Cardiac Mesoderm Induction and Myocardial Differentiation

The role of Wnt signaling in cardiovascular lineage specification and differentiation is depicted in the context of the expression of mesoderm and cardiac transcription factors during embryogenesis. cTnT, cardiac troponin T.

Wu SM, Mesp1 at the heart of mesoderm lineage specification. Cell Stem Cell 2008 3: 1-2, 2008.

Nkx2-5シグナル関連遺伝子の発現変動





Nkx2-5関連遺伝子の発現変動起点及び発現ピークの時点

遺伝子名 (Affymetrix No.)	発現変動起点(時間) (胎齢)	発現ピークの時点(時間) (胎齢)
Mesp1 (1426557_at)	3 (胎生6.25～6.50日)	21 (胎生7.00～7.25日)
Kdr (1449379_at)	30 (胎生7.50日)	44 (胎生8.00～8.25日)
Nkx2-5 (1449566_at)	29 (胎生7.25～7.50日)	46 (胎生8.00～8.25日)
Actc1 (1415927_at)	36 (胎生7.75日)	54 (胎生8.50日)
Tnnt2 (1418726_a_at)	34 (胎生7.50～7.75日)	52 (胎生8.25～8.50日)

- Nkx2-5関連遺伝子：Mesp1遺伝子以外は
- ・発現変動起点：24～36（胎生7.25～7.75）
 - ・発現ピークの時点：42～54（胎生8.00～8.50）に存在

この関連シグナルは「Mesp1→Kdr/Nkx2-5→Actc1/Tnnt2遺伝子」の順に発現
 → 今回の解析では先ず「Kdr/Nkx2-5→Actc1/Tnnt2遺伝子」について解析

本手法を利用したNkx2-5関連遺伝子の抽出

・全ての遺伝子について、本解析手法により発現変動起点と発現ピークの時点を算出

[抽出条件]

- ・発現ピークの時点の発現コピー数(平均値)が2コピー以上
- ・発現変動起点と発現ピークの各時点にもっとも近接する実測データのある時点での発現データにつき有意差有り(P<0.05)

→ 9,311 psが抽出

■ Nkx2-5関連遺伝子が存在する(Mesp1遺伝子以外)

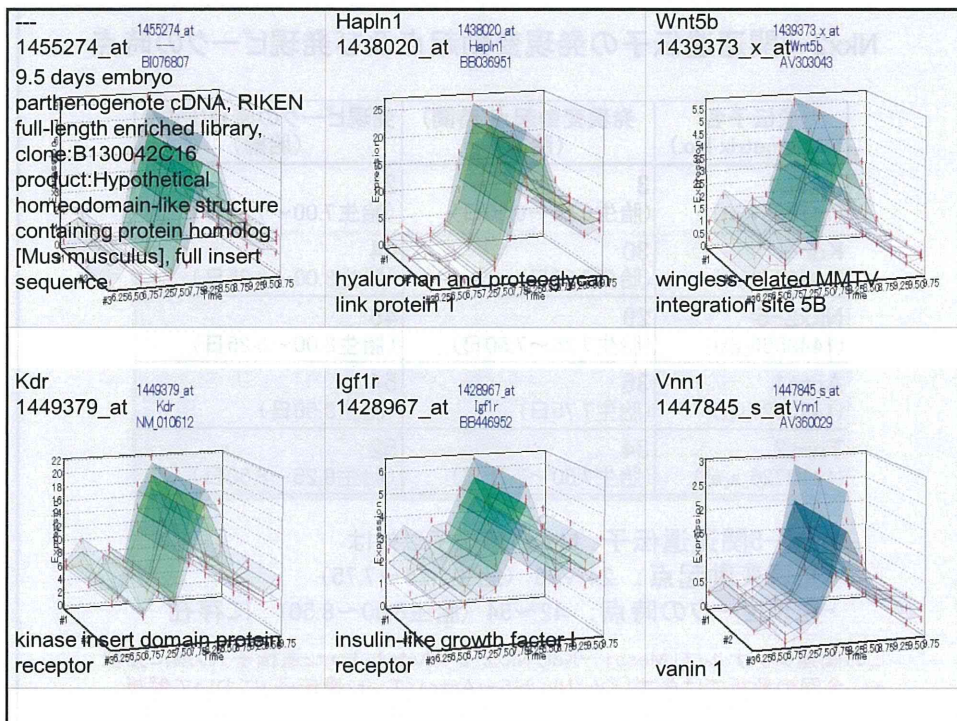
発現変動起点: 24~36 (胎生7.25~7.75)

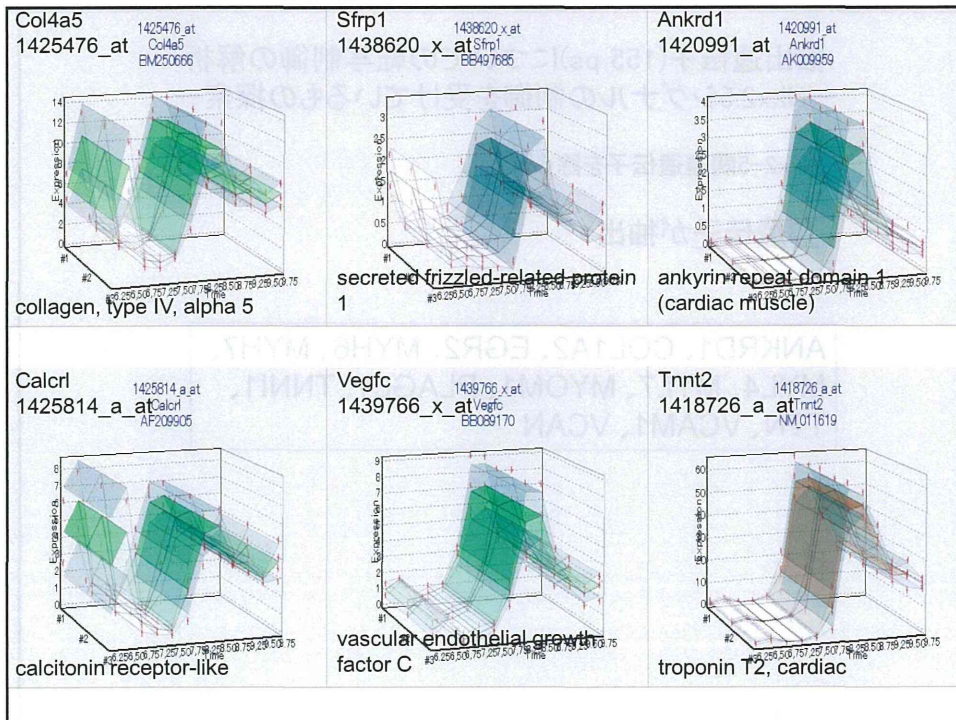
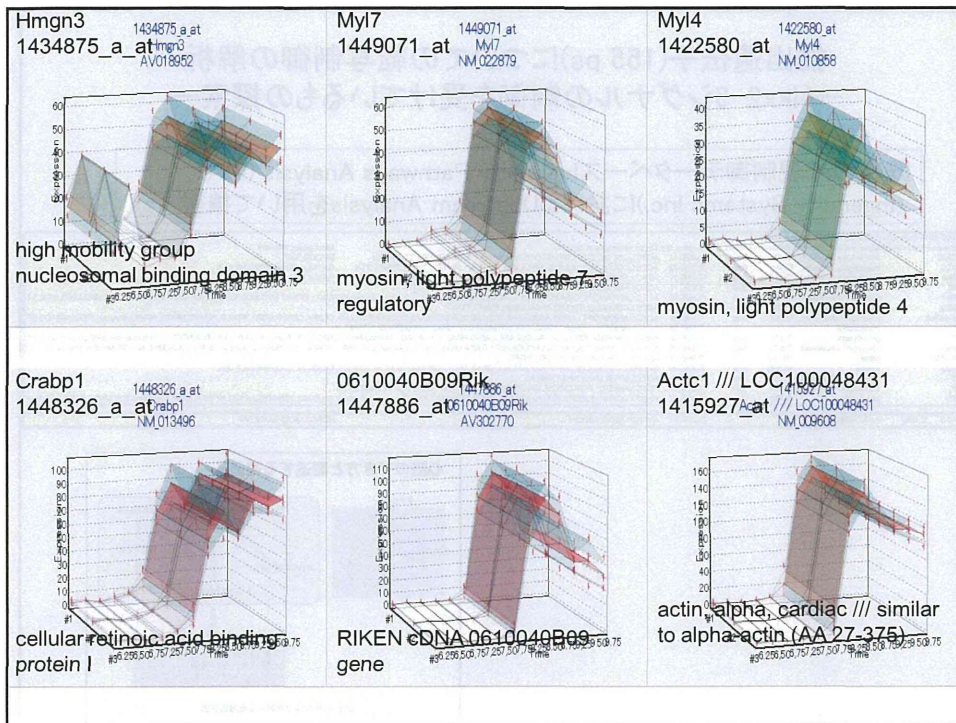
発現ピークの時点: 42~54 (胎生8.00~8.50) に存在

→ 227 psが抽出

目視により生物学的変動を示すと考えられる遺伝子数:

155 ps (Nkx2-5関連遺伝子を含む)

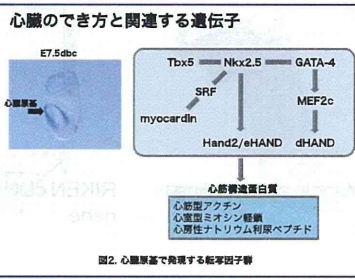




抽出遺伝子(155 ps)についての転写制御の解析 —Nkx2-5シグナルの制御を受けているもの探索—

既存の発現制御データベースIngenuity Pathways Analysis (IPA)
(Ingenuity Systems Inc.)におけるUpstream Analysisを用いて検討

Upstream F-Field	Cheng Molecule T1	Predicted A-Activation z	Notes	p-value of t-Target molecules in dataset	Mechanistic Network
MYOCD	transcription Activated	2.201	bias	2.85E-13	ACTC1, COL1A2, GUC1, MYH6, MYH7, MYL4, MYL7, TNNI1, TNNI2, TTN, VCAN MYOCD, SRF
MEF2C	transcription Activated	2.556	bias	2.39E-12	ACTC1, COL1A2, MYH6, MYH7, MYL4, MYL7, MYOM1, PLAGL1, TNNI1, TNNI2, TTN GATA4, GATA6, MEF2C, NKX2-5
GATA4	transcription Activated	2.584	bias	2.87E-11	ACTC1, ANKRD1, COL1A2, MYH6, MYH7, MYL4, MYL7, NKX2-5, TNNI2, TTN, VCAM1 GATA4, HDAC1, NKX2-5, SRF
TBX5	transcription Activated	2.214	bias	2.43E-11	ACTC1, ANKRD1, COL1A2, MYH6, MYL4, MYL7, NKX2-5, TNNI2, TTN
TGFβ1	growth fact Activated	2.675	bias	2.50E-10	ACTC1, APP, ANKRD1, ANKRD1, ARG1, CADM1, CDH2, COL1A2, COL1A2, COL4A3, EGR1, ERBB2, MYC, NCOA3, NFκB (complex), RELA, SMAD3, SMAD4, SP3, STAT3, TGFβ1
HAND2	transcription Activated	2.261	bias	2.39E-10	ACTC1, COL1A2, MYH6, MYH7, MYL4, MYL7, SHH, TNNI2, TTN
beta-estradiol	chemical - Activated	2.282	bias	2.10E-08	ACTC1, APP, ANKRD1, ARG1, ASB2, ATF3, CCDC80, CDH2, COL1A2, COL4A3, EGR2, HA, CEBPA, CEBPB, EGR1, FGF2, JUN, MYC, NFκB1, NFκB (complex), RELA, SMAD3, SP3
YY1	transcription	2.111	bias	2.10E-08	ACTC1, ANKRD1, CRABP1, HAS2, KDR, MYH6, MYOM1, NKX2-5, PLAGL1, TNNI1, V
AGT	growth fact	2.111	bias	2.73E-08	ANGPT1, ANP32A, ATF3, COL1A2, COL4A3, GAP43, HAS2, IGF1R, JAG1, MYH6, MYH7, N, AGT, EGR1, FGF2, JUN, MYC, NFATC3, NFκB1, NFκB (complex), RELA, SP3, SRC, STAT3
retinoin	chemical - Activated	2.573	bias	2.81E-08	APP, ARG1, ASB2, COL1A2, COL4A3, CRABP1, GAP43, HAS2, HOXA2, HOXA3, HOXB6, CEBPA, CEBPB, FGF2, Histone h3, IFNG, JUN, MYC, NFκB1, NFκB (complex), RELA, S
CEACAM1	other	2.182	bias	2.96E-08	ANGPT1, COL18A1, IGF1R, KDR, VEGFC
ERBB2	kinase	2.350	bias	2.41E-08	CADM1, CCDC80, COL18A1, HAS2, HMG2, IGF1R, JAG1, KDR, MAP1B, NCAPG, NPNT, ERBB2, NCOA3, NFκB1A, PTEN
OXF	other - Activated	2.236	bias	2.56E-08	ACTC1, MYH6, MYH7, MYL7, NKX2-5
SRF	transcription Activated	2.190	bias	2.21E-07	ACTC1, ANKRD1, EGR2, MYH6, MYH7, MYL3, MYL4, MYOM1, NKX2-5, SHH, TNNI2, TTN
PTEN	phosphatase	2.280	bias	2.30E-07	ANGPT1, CSNK1E, EGR2, HMG2, IGF1R, JAG1, KDR, NKX2-5, SHH, Tmsb4x (includes t Akl, EGR1, JUN, MYC, NFκB1, NFκB1A, NFκB (complex), P38, MAPK, PTEN, RELA, SP3

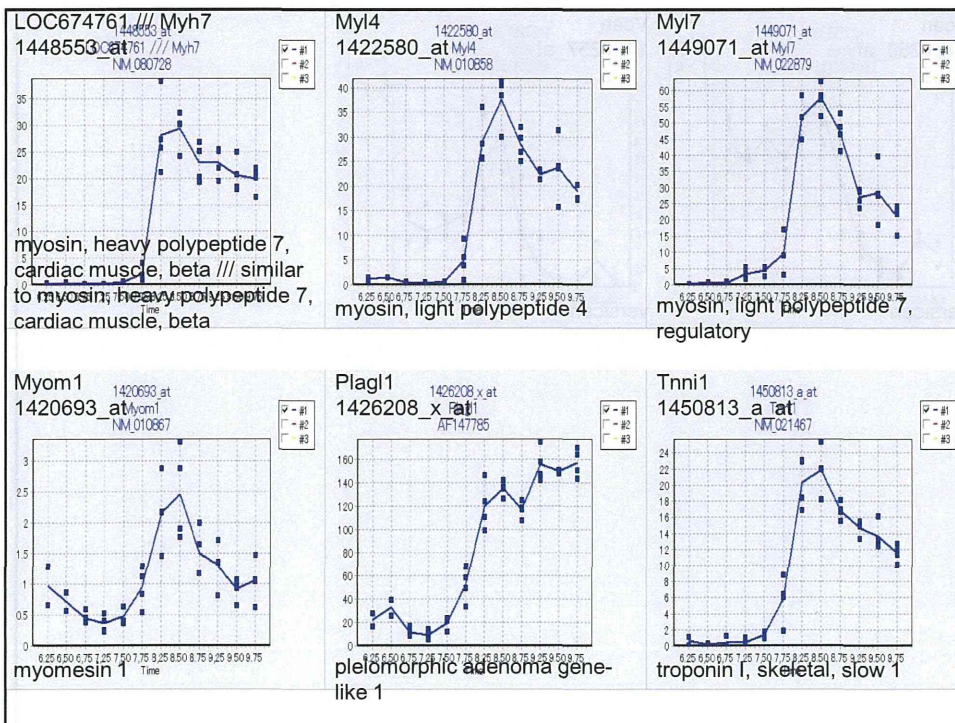
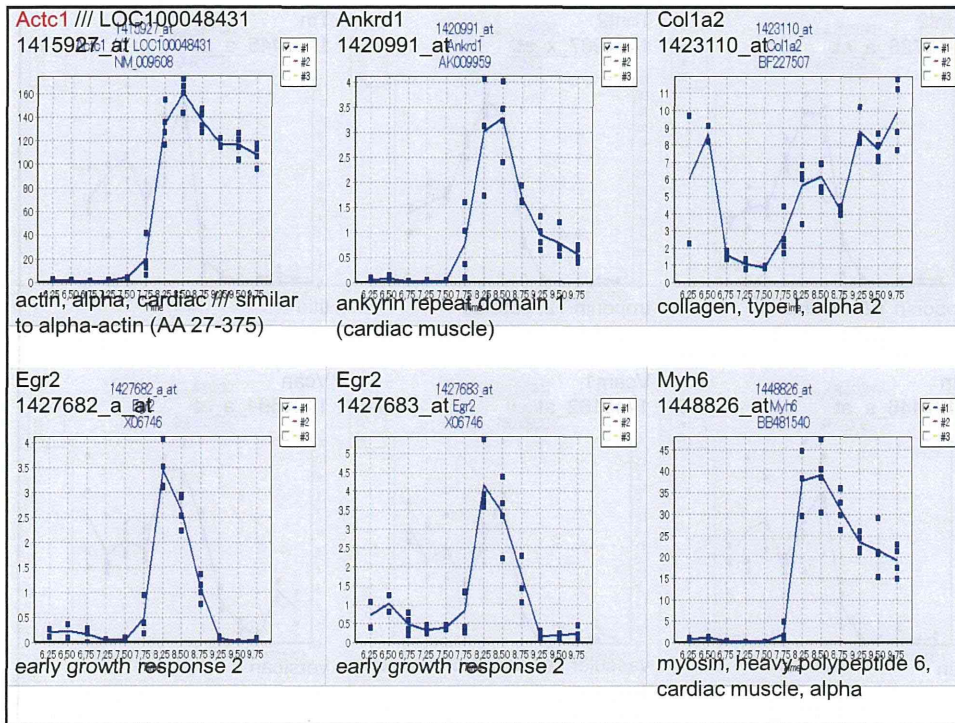


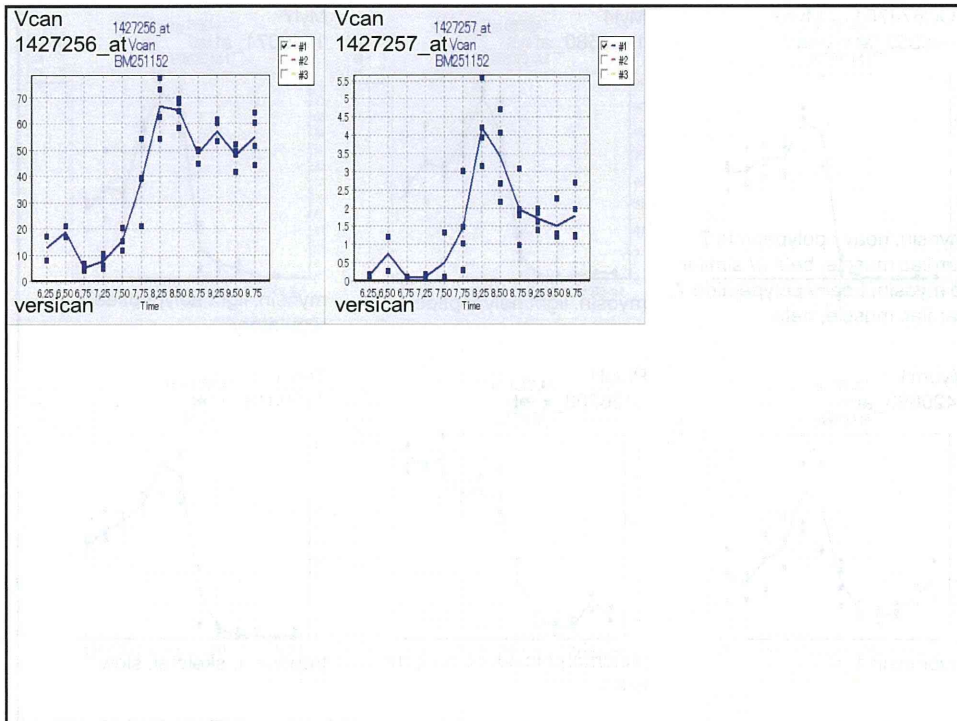
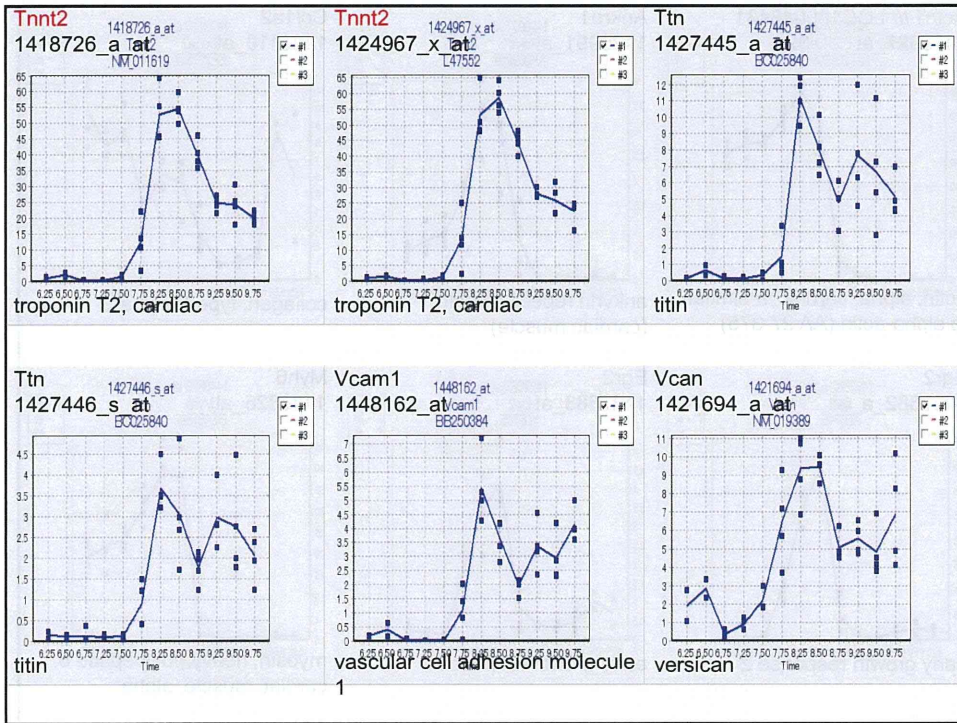
抽出遺伝子(155 ps)についての転写制御の解析 —Nkx2.5シグナルの制御を受けているもの探索—

Nkx2-5関連遺伝子を除くと

13遺伝子が抽出

ANKRD1, COL1A2, EGR2, MYH6, MYH7, MYL4, MYL7, MYOM1, PLAGL1, TNNI1, TTN, VCAM1, VCAN





以上は、あくまでも発現変動起点と発現制御による抽出

→ 発現の空間分布を検討する必要がある

Pubmed検索による文献調査あるいは、公開データベースEmage (http://www.emouseatlas.org/emagewebapp/pages/emage_gene_browse.jsf)による検索

→ 胎生7.00~8.50日を含め、wholmount ISHデータを見いだすことが出来なかった

※少なくともMyh6(心房型ミオシン重鎖遺伝子)をはじめ、心臓に発現するな細胞骨格系遺伝子であるCOL1A2、Myh7、Myl4、Myom1、Tnni1、Ttn、Vcam1、Vcan遺伝子については、Nkx2-5シグナルネットワークに属し機能しているものと考えられた。

●Mesp1→Nkx2-5のシグナルネットワークについても、同様に解析できるもの
と考える

まとめ2

平成25年度:

マスター遺伝子を基軸とした関連遺伝子の連鎖的捕捉

← 3次元Spline補間とその微分関数を利用し、遺伝子毎に発現変動起点候補と発現ピークの時点抽出する技術を開発し解析を行う

■Nkx2-5関連遺伝子が存在する(Mesp1遺伝子以外)

・発現変動起点: 24~36 (胎生7.25~7.75)

・発現ピークの時点: 42~54 (胎生8.00~8.50) に存在

→ 227 psが抽出

→ 目視により生物学的変動を示すと考えられる遺伝子数:

155 ps (Nkx2-5関連遺伝子を含む)

→ 抽出遺伝子(155 ps)についての転写制御の解析(in silico):

13遺伝子が抽出

→ 少なくともMyh6(心房型ミオシン重鎖遺伝子)をはじめ、心臓に発現するな細胞骨格系遺伝子であるCOL1A2、Myh7、Myl4、Myom1、Tnni1、Ttn、Vcam1、Vcan遺伝子については、Nkx2-5シグナルネットワークに属し機能しているものと考えられた。

Nkx2-5シグナルネットワークをモデルに、本解析手法の性能評価をしたところ、機能が既知の関連遺伝子を抽出できた。

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）

分担研究報告書

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－

分担研究課題：「Percellome 3次元データ等の為の専用解析ソフトウェアの開発研究」

研究分担者：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・第一室長

研究要旨

先行研究に於いて遺伝子発現データの絶対量化技術である Percellome 手法を実用化し、既に100余の化学物質による遺伝子発現変動情報を収録して現在もさらに拡張しつつある網羅的遺伝子発現情報データベース（Percellome データベース）を構築している。この高精度大規模データベースの有効活用には、時間×暴露用量×遺伝子発現量からなる遺伝子発現変動情報を生物学者によるデータ把握が容易な3次元波動面（Surface グラフ）に変換して解析する直感的で効率のよい手法（"Millefeuille"（ミルフィーユ、MF）データ処理）を採用している。本分担研究では、Percellome 手法や Surface グラフの特徴を活かし、遺伝子発現反応の網羅的解析を効率良く行うためのプログラムの開発・改良を行い、トキシコゲノミクス技術を利用した毒性予測・評価システムの実用化を推進する。

平成24年度は、Percellome 法の適用を介して、医薬基盤研・トキシコゲノミクスプロジェクト（TGP）のラットデータを、マウスデータからなる Percellome データベースに結合し、統合トキシコゲノミクスデータベースの構築を進めた。また非 Percellome データの絶対量推定ソフトウェア SnCalc.exe を開発した。さらに Percellome データベースシステムの WebAPI を開発し、ライフサイエンス研究用ソフトウェアの国際共通プラットフォーム GARUDA プロジェクト等、外部の学術・行政システムからのオンラインアクセスを可能にする本格的な一般公開の準備を整えた。

平成25年度は各班員のデータ解析の効率と精度の向上を優先して平成26年度予定の計画を実施し、候補遺伝子抽出プログラム RSort に新規フィルタールーチンを追加して自動抽出精度を向上させたほか、経時変化データ等の線グラフ表示データを対象とした発現変動起点の自動抽出アルゴリズムの新規開発や、前年度に開発

した SnCalc.exe のラットデータ対応のためのリファレンスデータベースの構築、及び Percellome データベース一般公開システムの WebAPI の機能拡張を実行した。

A. 研究目的

本研究班が化学物質による生体影響の分子メカニズムに依拠した毒性評価手法の実用化の為にインフォマティクス開発を目指す中であって特に、100余の化学物質による遺伝子発現変動情報を絶対量化して収録している高精度大規模遺伝子発現情報データベース (Percellome データベース) を活用し、遺伝子発現反応の網羅的解析を効率良く行うためのプログラムの開発・改良を行って、トキシコゲノミクス技術を利用した毒性予測・評価システムの実用化を推進する。

B. 研究方法

B-1: 参照データ

a) 遺伝子発現データ: Percellome プロジェクトで生成したマウスの遺伝子発現データ、および TGP プロジェクトで生成したラットの遺伝子発現データを用いた。データ標準化には Percellome 法を利用した。

b) 遺伝子のアノテーション情報: 米 Affymetrix 社および Gene Ontology Consortium、独 BIOBASE 等が提供している情報を参照した。

c) 原著論文 (J Toxicol Sci. 38(4):643-54) 等のヒューマンキュレーションを経た候補遺伝子リスト。

B-2: ソフトウェア作成に用いた開発言語及びコンポーネント

開発効率と生成する実行バイナリの実行速度を重視して、Win32/64 開発は RAD (Rapid Application Development) 対応の

Delphi ver.7 もしくは XE3 (Object Pascal 言語、USA, Embarcadero Technologies, Inc.) を用いた。Web アプリケーション開発には Delphi もしくは PHP、JavaScript を用いた。1 億件以下の小～中規模のデータベース処理に際しては組み込み型リレーショナルデータベースコンポーネントの DBISAM (USA, Elevate Software, Inc.) を、一般的なグラフ描画には TeeChart (Spain, Steema Software SL) を利用した。また WebAPI の構築には DataSnap (USA, Embarcadero Technologies, Inc.) 用いた。

B-3: データ解析計算

主たる計算は独自に開発したプログラムにより実施した。検証は必要に応じて Excel (USA Microsoft Corporation) や R 言語 (オープンソース R Development Core Team) で実施し、浮動小数点誤差以上の乖離がないことを確認した。

大規模計算が必要な場合は、高速データベースエンジンである Teradata データベース (日本 Teradata 社) を装備する研究計算用サーバーシステム (MF サーバーシステム) にアプリケーションソフトウェアを移植して実施した。

C. 研究結果

平成24年度は、化学物質評価用の遺伝子発現データベースの有用性を高めるために、医薬基盤研トキシコゲノミクスプロジェクト (TGP) のラットデータをマウスの遺伝子発現データからなる

Percellomeデータベースに統合すべく、マウスとラットのデータをシームレスに一括解析する手法（マウス・ラットの相同遺伝子対を一意に示す統合IDとその効率的な処理アルゴリズム）を生成し、TGPデータをPercellome変換（絶対量変換）した上で、Percellomeデータベースとの統合を進めた。

またデータベース及び解析ツールの公開に向け、Percellome化せずに取得した外部のマイクロアレイデータとPercellome絶対量化データとの比較を可能にする絶対量推定ソフトウェアSnCalc.exeを開発したほか、外部研究システムから直接、Percellomeデータベースを利用するためのWebAPIを作成し、運用を開始した。

平成25年度は、各班員のデータ解析の効率と精度の向上を優先して平成26年度予定であった計画を実施し、候補遺伝子抽出プログラムRSortに新規フィルタールーチンを追加して自動抽出精度向上の改良をおこなったほか、微分解析による遺伝子変動起点の自動抽出アルゴリズムの新規作成を中心に、前年度に作成したSnCalc.exeのラットデータ対応のためのリファレンスデータベースの構築やPercellomeデータベース一般公開システムのWebAPIの機能拡張を進めた。詳細は以下の通り。

C-1：RSortの改良

RSortは、2条件（主に用量、時間）の組み合わせにおける遺伝子発現量を3次元平面で表現した遺伝子発現変動パターンの凹凸を評価し、全遺伝子に対応する総数4～5万個の発現データから、ノイズや解析不能

パターンを除去して、候補遺伝子リスト（通常、総数の1/10程度）を短時間（1～2分）で自動抽出し、データ解析の作業効率を大幅に高めている。ただし、毒性評価上の必要から偽陰性を極力排除するよう最適化されていることもあり、従来版（ver.0.17）では偽陽性が多発し、自動抽出結果の2/3～3/4を占めていたため、一層の改良が必要であった。

そこで偽陽性データの混入を減らすべく、既存のroughnessフィルタと独立した追加フィルタの作成を検討し、3次元の遺伝子発現変動パターンを構成する各2次元切片を対象として、増減パターン組み合わせ数や変曲点数、連続性指標、グラフ密度などを検討して、最適条件を求めた。

その結果、偽陰性データの発生数を数個～200個程度に抑えつつ、従来版RSortの抽出結果から数百～2000個程度の偽陽性データを削減することに成功した。

C-2：発現変動起点の自動抽出アルゴリズムの開発

RSortは、時間と用量と発現量の3次元表示データを効率的に処理すべく開発されてきたものなので、経時変化データ等の線グラフ表示データの処理については精度が低下する傾向があった。そこで、分担研究(2)が対象とする個体発生の経時変動データをサンプルとし、線グラフ表示データからの効率的な候補遺伝子抽出アルゴリズムを作成した。

特に、データ点数の多い線グラフデータを解析する場合、遺伝子誘導の結果であるピークに着目して線グラフの凹凸を評価するより、遺伝子発現の起点（発現変動起点）

に着目したほうが、シグナルネットワーク抽出のために有用である。

そこで、各群の平均値をなめらかに繋ぐ3次スプライン曲線を求め、その一階微分曲線と二階微分曲線、三階微分曲線を算出して、これらを元に発現変動起点を推定するアルゴリズムを作成した。

実証のためのプログラムを作成し、性能試験を行ったところ、分担研究(2)の成果で詳細を記載したとおり、既知のシグナルネットワークに対応する候補遺伝子リストを適切に抽出する事に成功した。

C-3:SnCalc.exeのラットデータ対応のためのリファレンスデータベースの構築

平成24年度に開発した非Percellomeデータの絶対量推計ソフトウェアSnCalc.exeは、当初、マウスデータを対象としていたが、ラットやヒトなど、他の動物種由来のデータにも対応できるよう改良を加えた。実際に絶対量推定計算を行うためには、リファレンスとなる、各動物種のPercellomeデータが一定量以上必要だが、ここでは医薬基盤研・トキシコゲノミクスプロジェクト(TGP)のラットデータを利用して、リファレンスデータベースを構築した。

C-4:Percellome データベース一般公開用WebAPIの機能拡張

初年度にPercellome公開用Webサーバーに実装したREST(現時点で最も普及しているソフトウェアアーキテクチャの1つ)インターフェイスについては、当該システムを利用したオンライン解析能力を向上させるべく、機能を拡張し、RSortで抽出した候補遺伝子リストをインターネット経由

で提供するなどの機能強化を行った。

D. 考察

Percellome 3次元データ等の為の専用解析ソフトウェアの開発研究においては、本年度、自動的にノイズデータを除外し、研究者が操作する候補遺伝子数を減らすことで解析効率の向上に大きな役割を果たしているRSortの性能を一層向上させた。今までは、生物学的な意味のある遺伝子発現データを除外してしまわないように、若干の余裕をもってノイズデータを除去していたことから、研究者が操作する段階で、若干のノイズデータが残存していた。平成25年度は、この残存ノイズデータを更に高精度に除去する改良を加えた。この改良は、個々のデータの網羅的遺伝子解析作業の効率を高めるのみならず、複数の候補遺伝子リストの和集合計算を行う必要性が生じる大規模解析、例えば複数の化学物質毎に特異的に発現する遺伝子群の比較解析時に、その効果が明瞭に現れる重要な技術である。

また今までの時間と用量と発現量の3次元表示データを中心に開発してきた解析ソフトウェアに加え、経時変化データ等の線グラフ表示データに特化した候補遺伝子抽出アルゴリズムによるソフトウェアを用意することが出来た。これにより3次元表示データに匹敵する解析精度や作業効率の向上が見込まれ、この一部の技術は3次元表示データ解析にも還元可能であり、相互に統合的解析が可能となる。

E. 結論

Percellome 3次元データ等の為の専用解析ソフトウェアの開発研究では、平成24年

度成果の異種動物由来のデータ統合技術や絶対量化されていない非 Percellome データの絶対量推定技術、及び今年度成果の RSort 技術の改良により、網羅的遺伝子発現解析の効率向上を押し進めている。

また平成 24 年度から公開している Percellome データベース一般公開システムの WebAPI の改良により、外部のオンライン解析ソフトウェアからも、RSort による候補遺伝子情報にアクセス出来るようになり、解析効率の向上が期待される。

F. 研究発表

(1) 論文発表

Kanno J, Aisaki K, Igarashi K, Kitajima S, Matsuda N, Morita K, Tsuji M, Moriyama N, Furukawa Y, Otsuka M, Tachihara E, Nakatsu N, Kodama Y. (2013) Oral administration of pentachlorophenol induces interferon signaling mRNAs in C57BL/6 male mouse liver. *J Toxicol Sci.* 38(4):643-54.

Abe S, Kurata M, Suzuki S, Yamamoto K, Aisaki K, Kanno J, Kitagawa M.(2012) Minichromosome maintenance 2 bound with retroviral Gp70 is localized to cytoplasm and enhances DNA-damage-induced apoptosis. *PLoS One.* 7(6):e40129.

(2) 学会発表

北嶋 聡,小川幸男, 大西 誠 ,相磯成敏,相崎健一,五十嵐勝秀, 高橋祐次, 菅野 純
シックハウス症候群レベルの極低濃度暴露の際の海馬における Percellome 法に

よる吸入トキシコゲノミクス 第 40 回
日本毒性学会学術年会(2013.6.18)

Kitajima S, Aisaki K, Igarashi K, Kanno J. Application of Percellome Toxicogenomics approach to food safety: A flavor, estragole appears to be a PPAR-alpha agonist. The XIII International Congress of Toxicology 2013 (ICT 2013)] (2013.7.3.), Seoul, Korea

Tanemura K, Igarashi K, Furukawa Y, Otsuka M, Aisaki K, Kitajima S, Sato E, Kanno J. Delayed Effects on CNS Induced by Disturbance of Neural Activity during Development – Behavioral Impairment in Male Adult Mice Induced by Postnatal Oral Intake of Acephate. The XIII International Congress of Toxicology 2013 (ICT 2013)] (2013.7.3.), Seoul, Korea

G. 知的財産所有権の出願・登録状況（予定も含む）

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし



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—
(H24-化学-指定-006)

分担研究報告

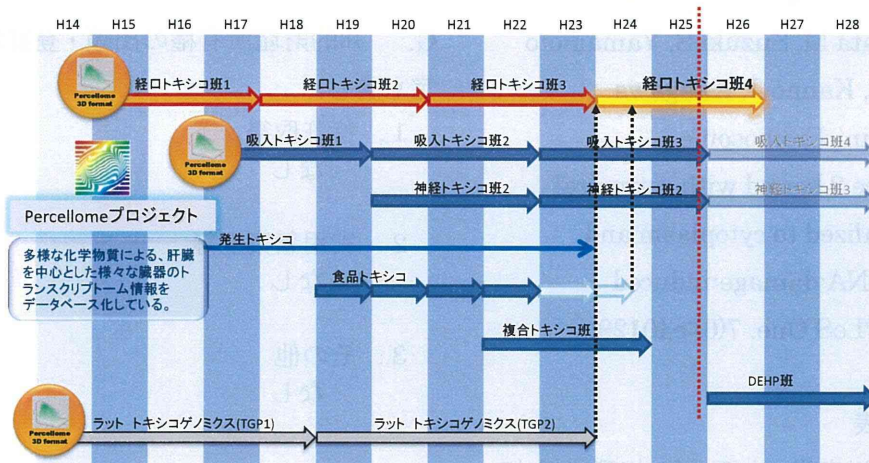
Percellome 3次元データ等の為の 専用解析ソフトウェアの開発研究

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
相崎 健一

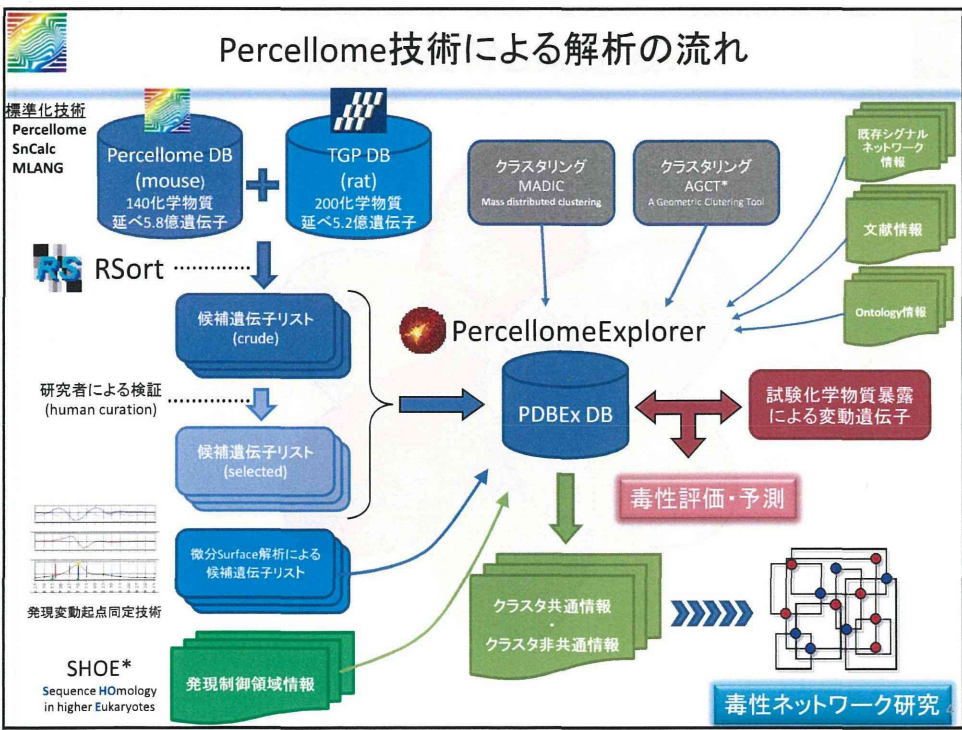
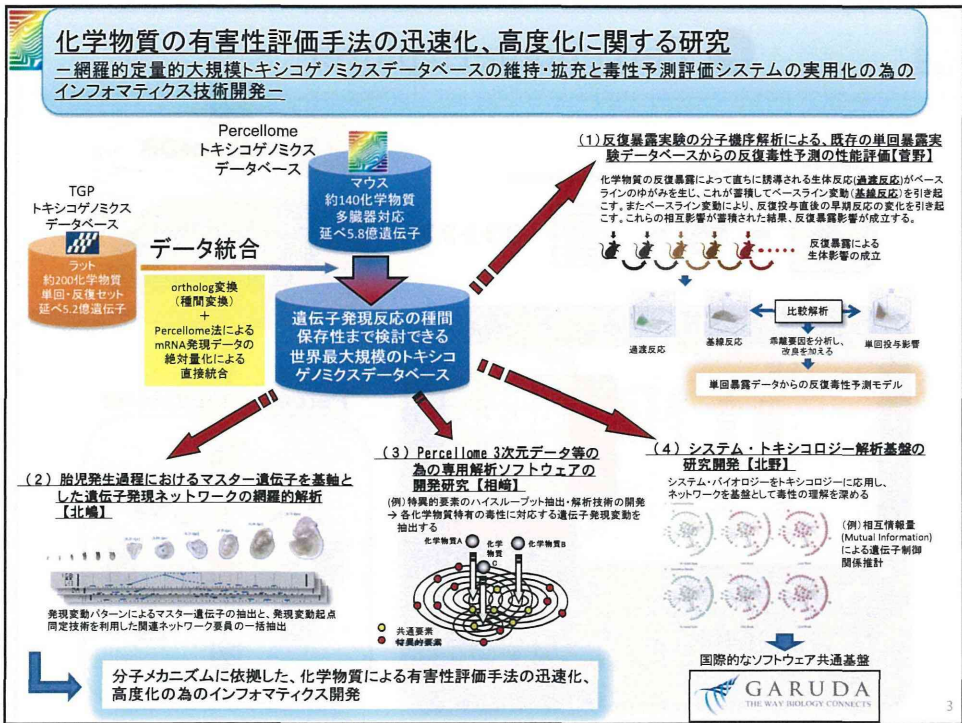
平成25年度 班会議 (2014 / 2 / 6)

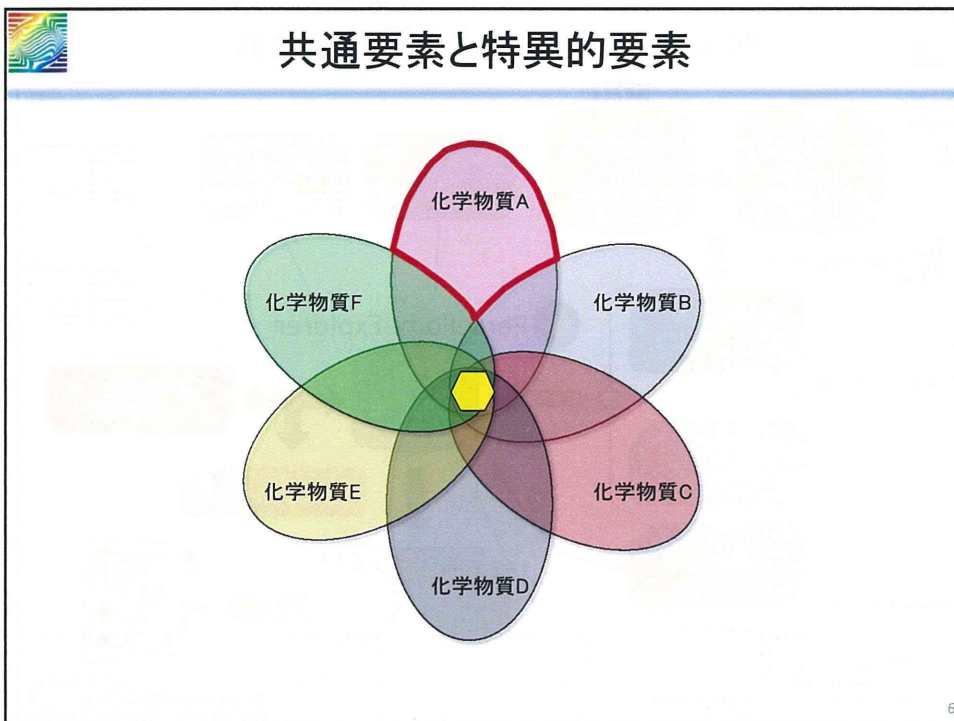
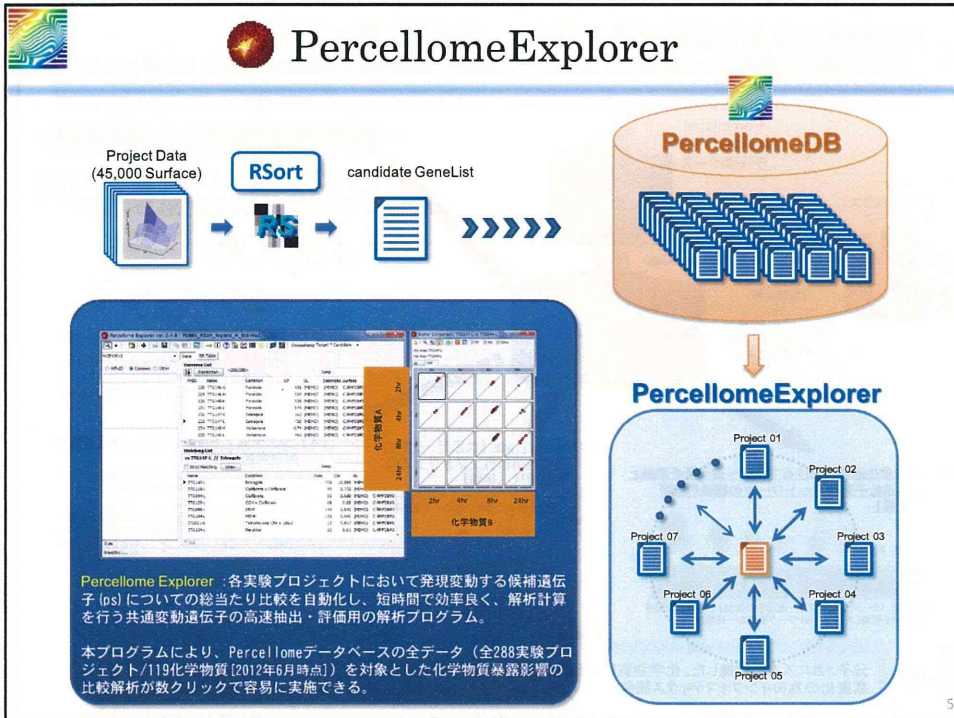


毒性部が展開するトキシゲノミクス研究



これらすべての研究が絶対値化したデータを利用=利点:相互の直接比較が可能である

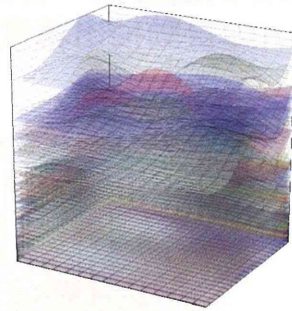




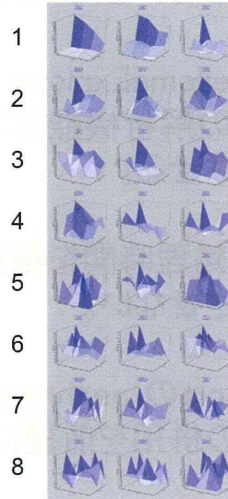


RSort

発現パターン曲面の凹凸の程度・特徴点の位置(=実験条件)を評価
 → 明確な発現誘導パターンを呈する遺伝子を抽出



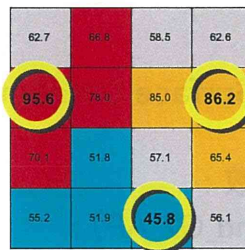
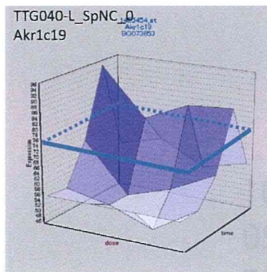
(peak数)



7



RSort ~ roughness filter



mean 63.6
 SD 13.1
 intermediate 57.1~70.2

凹凸判定 = 3

データ

62.7	66.8	58.5	62.6
95.6	78.0	85.0	86.2
70.1	51.8	57.1	65.4
55.2	51.9	45.8	56.1



| データ-平均 |

1.0	3.2	5.1	1.1
32.0	14.3	21.4	22.5
6.5	11.9	6.6	1.7
8.4	11.8	17.9	7.6



順位

16	13	12	15
1	9	3	2
11	6	10	14
8	7	4	9

8