

全ての遺伝子について、発現変動起点ごとに抽出

- ・発現変動起点での発現コピー数が0.3以上のものを選択: 4,395 psを抽出
- 目視による生物学的変動と考えられる遺伝子の抽出: 2,218 psを抽出

### 目視時に見いだした事

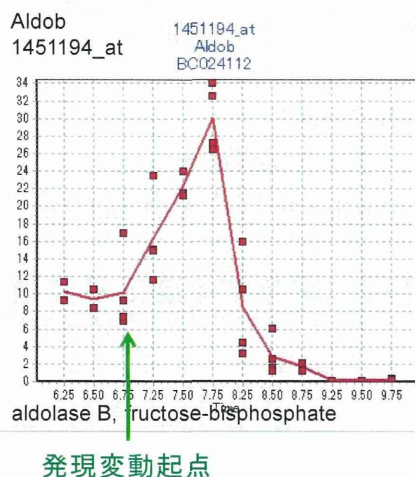
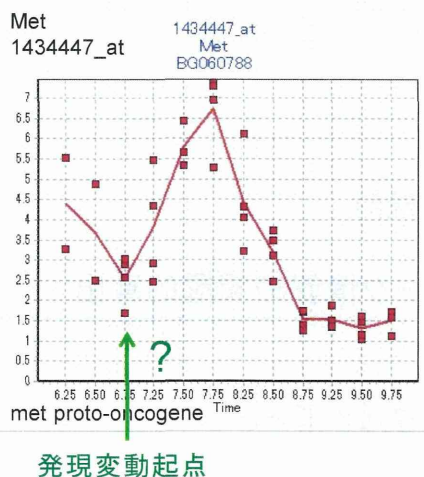
- ・本トランスクリプトームデータの開始点である胎生6.25日に、ほぼ全ての遺伝子で発現が認められる(98%、2,166 ps) →全て選択
- ・胎生6.25日時点で発現変動あるいは発現のピークを示し、その後に再び発現変動する(二峰性)遺伝子が多い(40%、895ps) →どの時点で発現変動起点となるか不明
- 本解析では二峰性の発現変動を示す遺伝子は選択せず、一峰性を示す遺伝子のみについて検討を進める: 1,323 ps (60%)

VS: Visual Selection (=MOKUSHI)

1=6.25      2=6.50      3=6.75      4=7.25      5=7.50      6=7.75  
 7=8.25      8=8.50      9=8.75      10=9.25      11=9.50      12=9.75  
 baseline 0= no signal at 6.25      baseline 1= some signal at 6.25  
 init = ESPの一つあとの時点(明らかに発現増加が起こった点)

;		baseline	init 1	peak 1	init 2	peak 2
1418971_x_at	Bcl10		1	1	1	4
1420086_x_at	Fgf4		1	1	1	4
1435228_at	BC023829		1	1	1	4
1436992_x_at	Vdac1		1	1	1	4
1442865_at	Dgkk		1	1	1	4
1416883_at	Clptm1		1	1	1	4

二峰性の発現変動を示す遺伝子の例: Met遺伝子(左)  
 一峰性の発現変動を示す遺伝子の例: Aldob遺伝子(右)



グラフの線は各平均値を結び、点は各データの素点を表す(n=2~4)。  
 縦軸は、発現コピー数、横軸は胎齢を表す

## 発現変動起点ごとの遺伝子数

目視による生物学的変動と考えられる遺伝子の内、  
一峰性を示す遺伝子: 1,323 ps

発現変動起点	遺伝子数(ps)
6.50	3
6.75	7
7.25	239
7.50	837
7.75	209
8.25	28
計	1,323

### 発現変動起点:

明らかに発現増加が  
起こった時点  
(発現のピークと重な  
る場合もある)

目視: 標準偏差及び、  
発現変動起点と発現のピーク  
での発現量の差を基に判断

発現変動起点ごとに自動抽出した際、発現変動起点が胎生8.50、8.75、9.25、  
9.50、9.75のものは得られなかった  
→発現ピークが定まらない為、抽出されなかったものと考えられた

・目視により生物学的変動と考えられ一峰性を示す遺伝子: 1,323 ps

→発現変動起点別に分類

→発現変動起点毎に、遺伝子の発現パターン毎に分類

←発現制御因子とその標的遺伝子について、発現変動起点は前者が早い  
が、発現変動パターンは両者で似ているとの仮説

→それぞれについて、

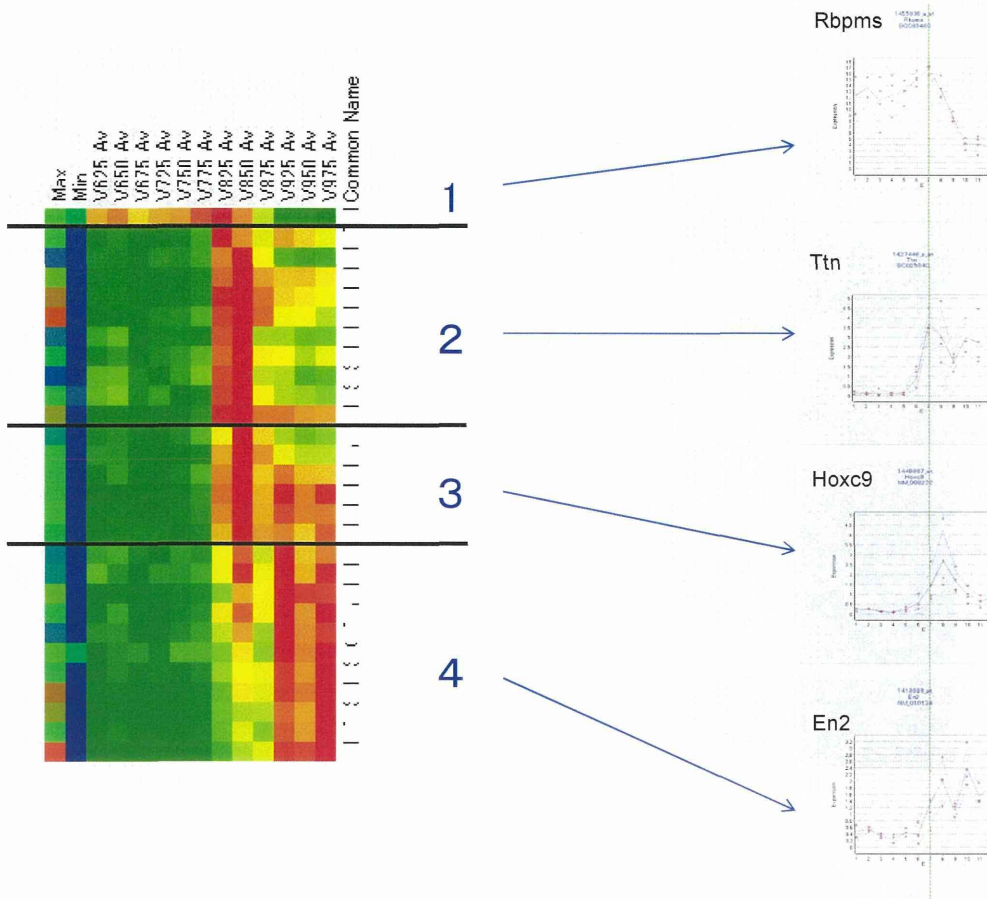
・プロモーター解析(*in silico*)

・wholemout ISHによる発現の空間局在を検討

胎児発生過程に関与する遺伝子発現ネットワーク情報の網羅的導出

まず発現変動起点8.25日の解析へ

発現変動起点 8.25 dpc [一峰性] 28 ps: 4つのグループに分類 8.25 dpc



発現変動起点 7.75 dpc [一峰性] 28 ps: 4つのグループに分類

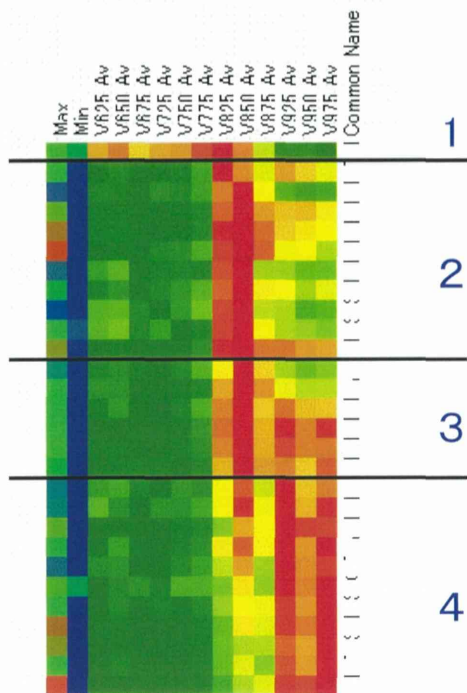
各グループにつき、発現調節因子の探索

[Upstream解析] (IPA)

< E-04



発現変動起点 8.25 dpc [一峰性] 28 ps: 4つのグループに分類

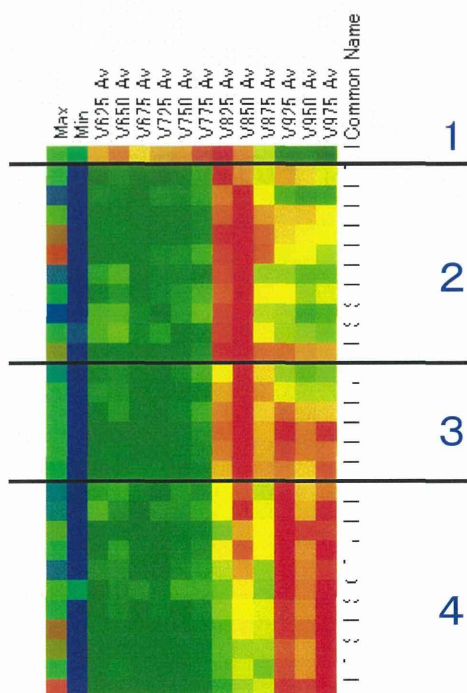


[Upstream解析] (IPA)

上流遺伝子が見いだせなかった

発現変動起点 8.25 dpc [一峰性] 28 ps: 4つのグループに分類

[Upstream解析] (IPA)



Gene	Function
USP44	ubiquitin-protein ligase
USP43	ubiquitin-protein ligase
USP42	ubiquitin-protein ligase
USP41	ubiquitin-protein ligase
USP40	ubiquitin-protein ligase
USP39	ubiquitin-protein ligase
USP38	ubiquitin-protein ligase
USP37	ubiquitin-protein ligase
USP36	ubiquitin-protein ligase
USP35	ubiquitin-protein ligase
USP34	ubiquitin-protein ligase
USP33	ubiquitin-protein ligase
USP32	ubiquitin-protein ligase
USP31	ubiquitin-protein ligase
USP30	ubiquitin-protein ligase
USP29	ubiquitin-protein ligase
USP28	ubiquitin-protein ligase
USP27	ubiquitin-protein ligase
USP26	ubiquitin-protein ligase
USP25	ubiquitin-protein ligase
USP24	ubiquitin-protein ligase
USP23	ubiquitin-protein ligase
USP22	ubiquitin-protein ligase
USP21	ubiquitin-protein ligase
USP20	ubiquitin-protein ligase
USP19	ubiquitin-protein ligase
USP18	ubiquitin-protein ligase
USP17	ubiquitin-protein ligase
USP16	ubiquitin-protein ligase
USP15	ubiquitin-protein ligase
USP14	ubiquitin-protein ligase
USP13	ubiquitin-protein ligase
USP12	ubiquitin-protein ligase
USP11	ubiquitin-protein ligase
USP10	ubiquitin-protein ligase
USP9	ubiquitin-protein ligase
USP8	ubiquitin-protein ligase
USP7	ubiquitin-protein ligase
USP6	ubiquitin-protein ligase
USP5	ubiquitin-protein ligase
USP4	ubiquitin-protein ligase
USP3	ubiquitin-protein ligase
USP2	ubiquitin-protein ligase
USP1	ubiquitin-protein ligase
USP	ubiquitin-protein ligase

発現変動起点 8.25 dpc [一峰性] 28 ps: 4つのグループに分類

## グループ2 (10 ps)のUpstream解析

### 上流遺伝子

### 当該遺伝子

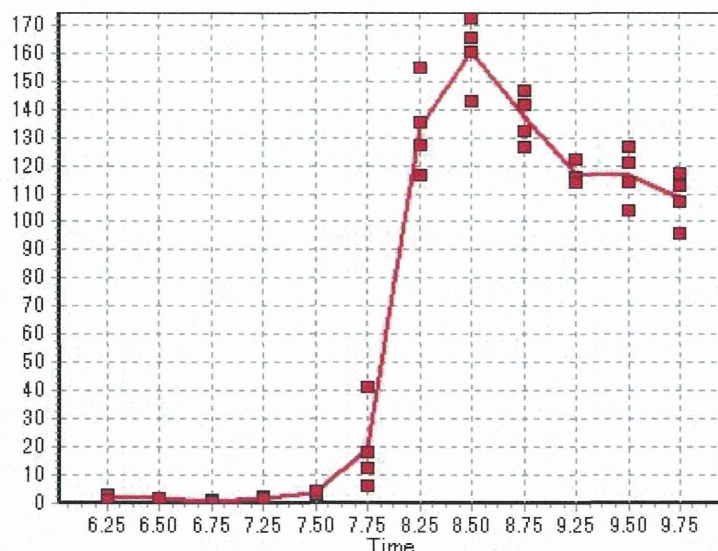
Upstream #	Fold Change	Molecule Type	Predicted Activation	Activation z	p-value of d	Target molecules in dataset
© 2000-2015 QIAGEN. All rights reserved.						
TDGF1		growth factor			2.37E-09	MYH6,MYH7,MYL7
MYOCD		transcription regulator	1.969		1.13E-08	MYH6,MYH7,MYL7,TTN
MEF2C		transcription regulator	1.939		2.45E-08	MYH6,MYH7,MYL7,TTN
OXT		other			5.62E-08	MYH6,MYH7,MYL7
GATA4		transcription regulator	1.930		3.00E-07	MYH6,MYH7,MYL7,TTN
HAND2		transcription regulator			7.75E-07	MYH6,MYL7,TTN
TBX5		transcription regulator			1.92E-06	MYH6,MYL7,TTN
TARBP2		other			2.90E-06	NKX3-1,RET
L-triiodothyronine		chemical - endogenous	-0.015		5.75E-06	MYH6,MYH7,RET,TTN
PRKRA		other			6.21E-06	NKX3-1,RET
FOXP1		other			1.26E-05	MYH6,MYH7
Foxp1		transcription regulator			1.45E-05	MYH6,MYH7
ZFPM2		transcription regulator			1.65E-05	MYH6,MYH7
TEAD1		transcription regulator			1.88E-05	MYH6,MYH7
STAT5B		transcription regulator			2.97E-05	MYH6,MYH7,MYL7
SOX10		transcription regulator			3.18E-05	PLP1,RET
HEY2		transcription regulator			4.83E-05	MYH6,MYL7
NFATC4		transcription regulator			5.20E-05	MYH6,MYH7

得られた上流遺伝子の中から、発現変動起点が、当該遺伝子のものの直前の観測時点のもの、またその発現変動起点以降の発現変動パターンが当該遺伝子のものと同様なものを選択

## 上流遺伝子の発現変動パターンと当該遺伝子の図示方法

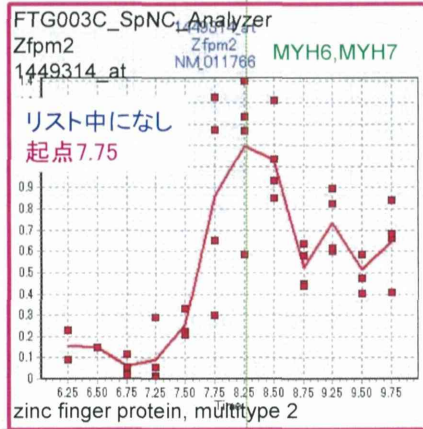
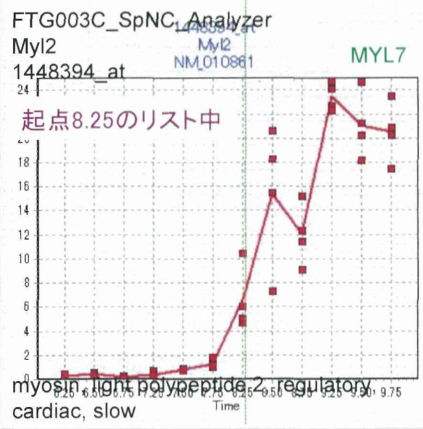
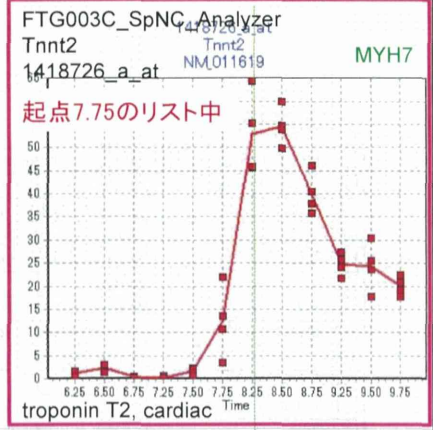
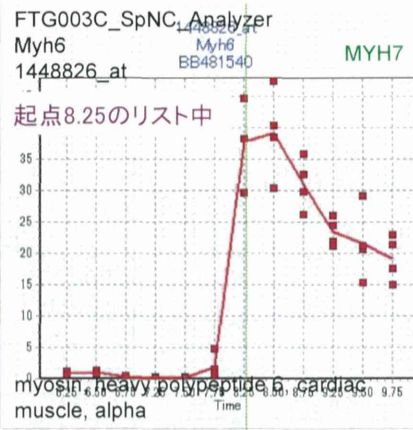
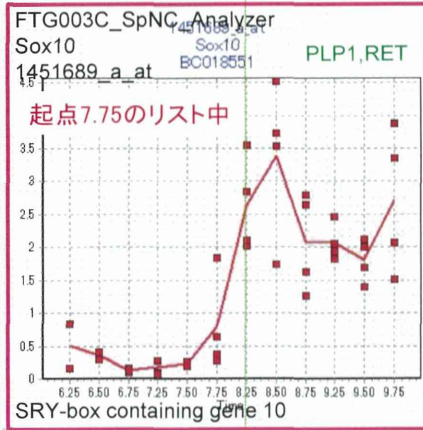
### 上流遺伝子

当該遺伝子A, 当該遺伝子B,  
当該遺伝子C,



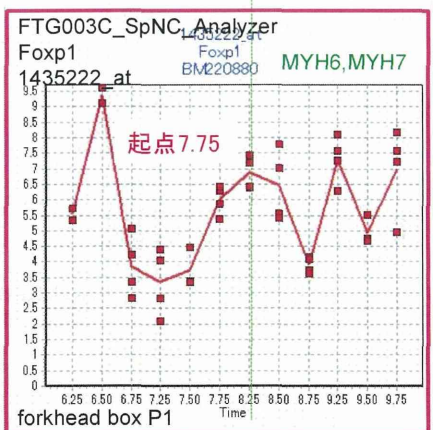
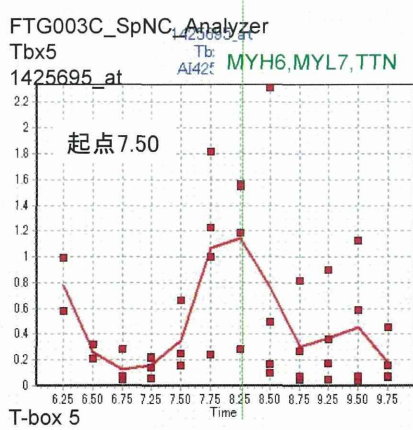
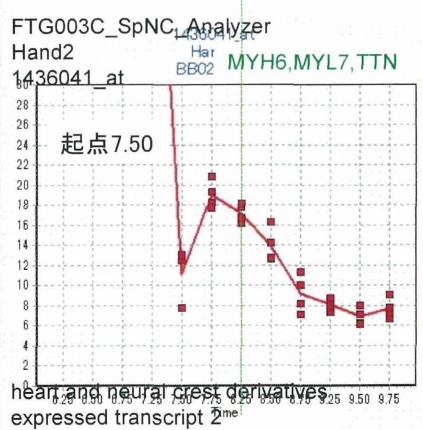
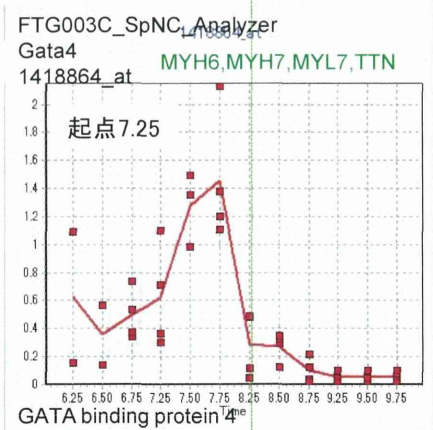
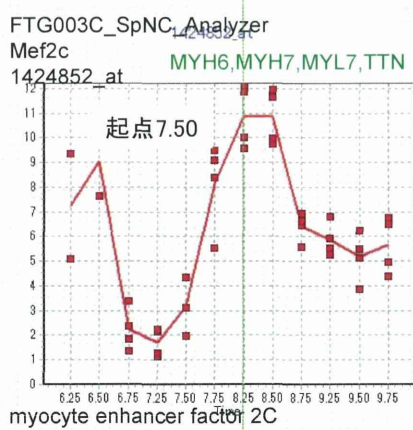
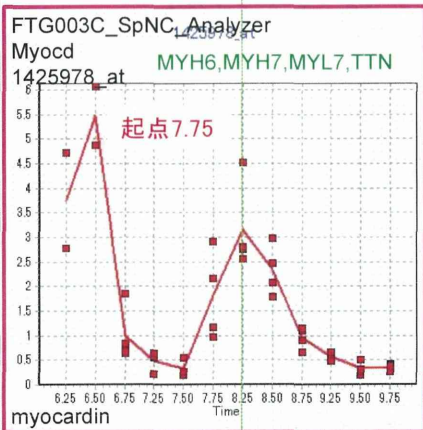


発現変動起点8.25 dpcのグループ2の遺伝子の転写制御遺伝子の発現変動: 一峰性のもの



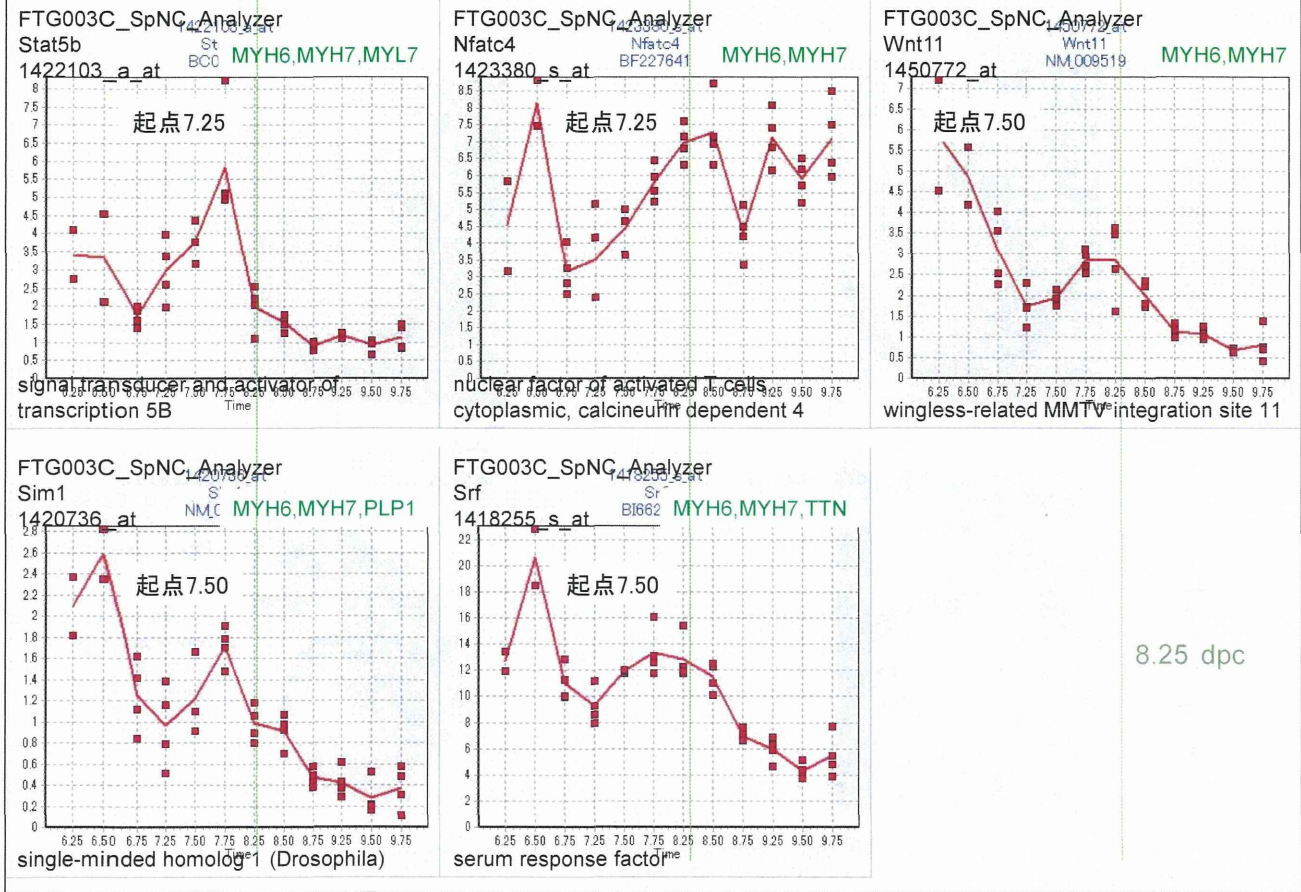
8.25 dpc

発現変動起点8.25 dpcのグループ2の遺伝子の転写制御遺伝子の発現変動: 二峰性のもの

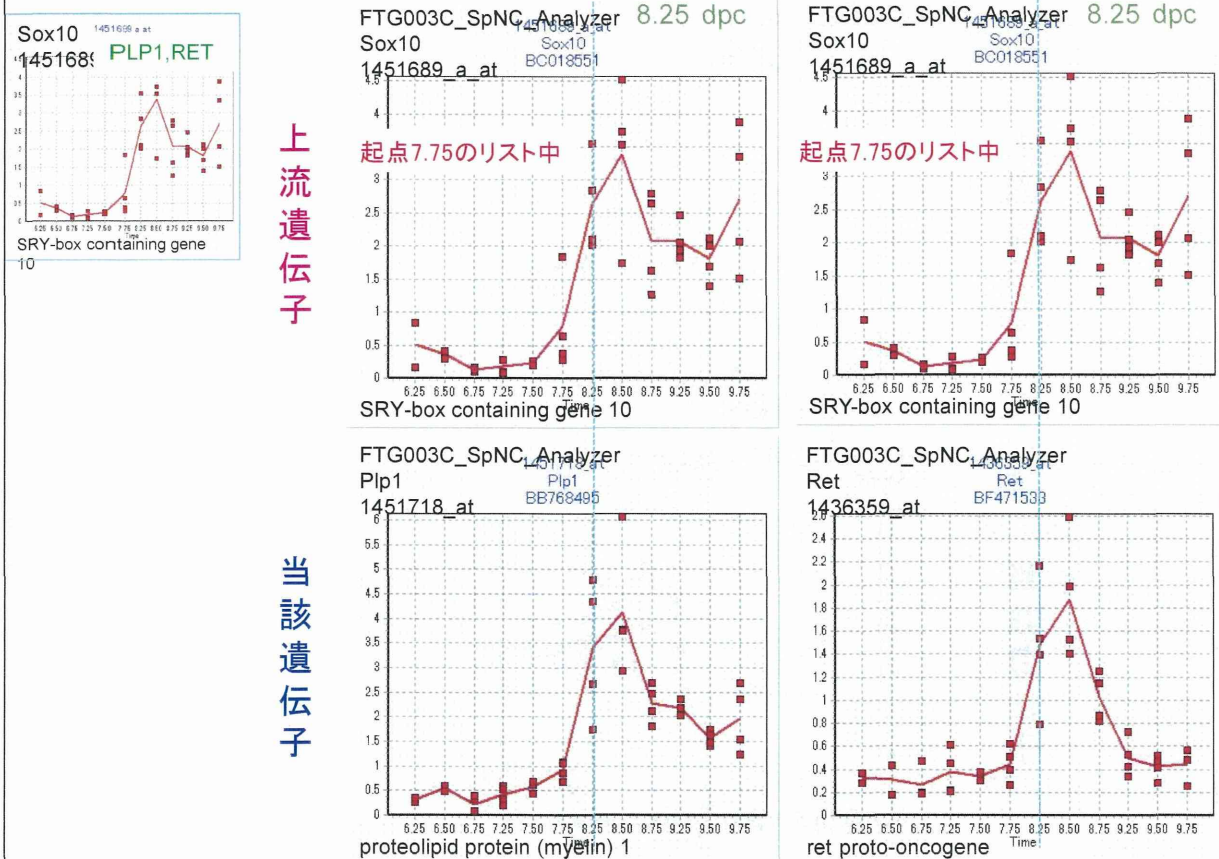




発現変動起点8.25 dpcのグループ2の遺伝子の転写制御遺伝子の発現変動：二峰性のもの



発現変動起点8.25 dpcのグループ2の当該遺伝子とその上流遺伝子の発現変動：一峰性



発現変動起点8.25 dpcのグループ2の当該遺伝子とその上流遺伝子のISH (EMAGEデータベース)

上流遺伝子

Sox10

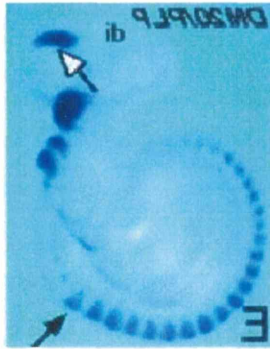


Sox10



当該遺伝子

Plp1



報告なし

Ret



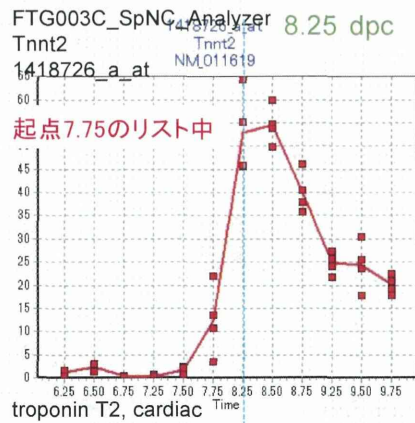
報告あり:  
Lang, D., Epstein, J. A. Sox10 and Pax3 physically interact to mediate activation of a conserved c-RET enhancer. Hum. Molec. Genet. 12: 937-945, 2003.

当該遺伝子の発現は、上流遺伝子の発現部位と同様な空間的発現パターン  
→当該遺伝子は上流遺伝子のシグナルネットワークに属し機能

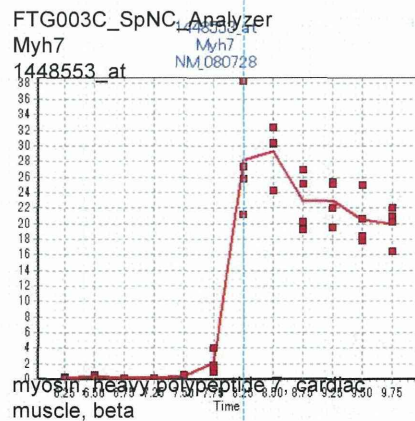
Sox10 → Plp1, Ret

発現変動起点8.25 dpcのグループ2の当該遺伝子とその上流遺伝子の発現変動: 一峰性

上流遺伝子



当該遺伝子

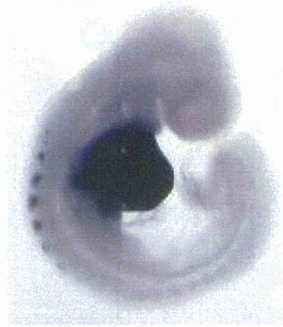




発現変動起点8.25 dpcのグループ2の当該遺伝子とその上流遺伝子のISH (EMAGEデータベース)

Tnnt2

上流遺伝子



Myh7

当該遺伝子



報告なし

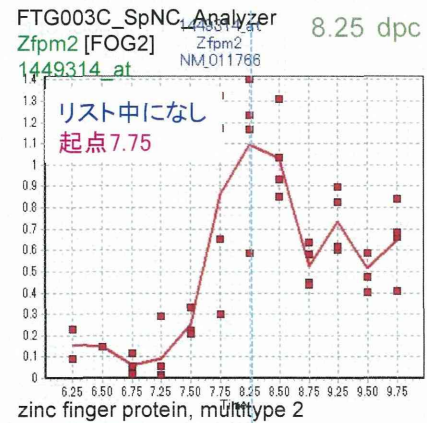
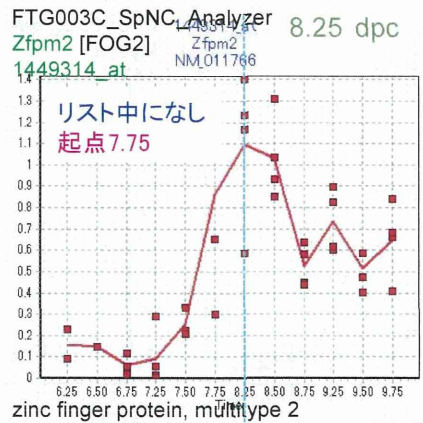
Myh7: Amann R et al.,  
Dev Biol 394(2): 228-241, 2014から引用

当該遺伝子の発現は、上流遺伝子の発現部位と同様な空間的发現パターン  
→当該遺伝子は上流遺伝子のシグナルネットワークに属し機能

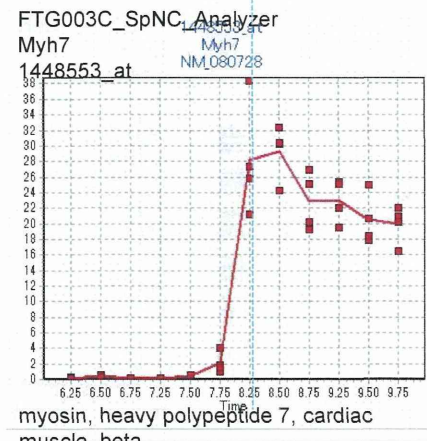
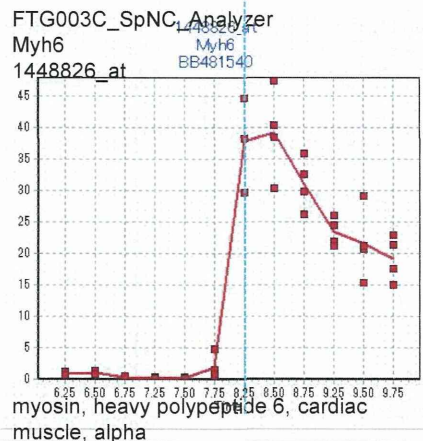
Tnnt2 → Myh7

発現変動起点8.25 dpcのグループ2の当該遺伝子とその上流遺伝子の発現変動: 一峰性

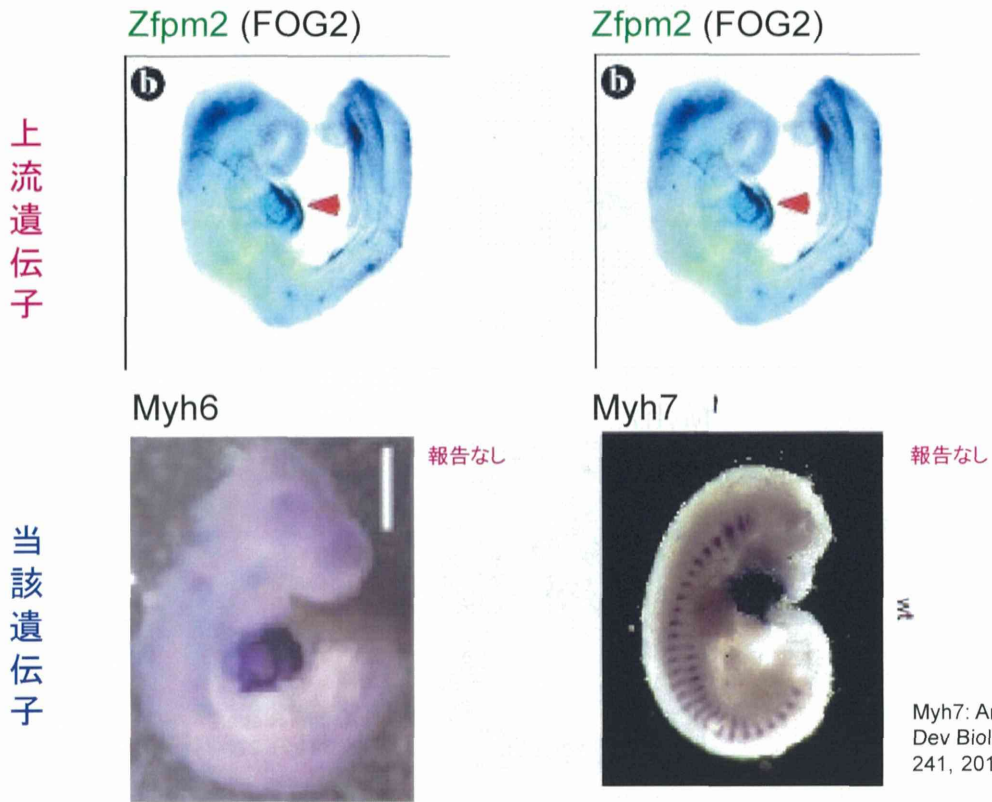
上流遺伝子



当該遺伝子



発現変動起点8.25 dpcのグループ2の当該遺伝子とその上流遺伝子のISH (EMAGEデータベース)



当該遺伝子の発現は、上流遺伝子の発現部位と同様な空間的発現パターン  
→当該遺伝子は上流遺伝子のシグナルネットワークに属し機能

Zfp203 → Myh6, Myh7

発現変動起点8.25 dpcのグループ2の当該遺伝子とその上流遺伝子の発現変動：二峰性

