

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—」
(H24-化学-指定-006)

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（特許 4415079 号）を実用化し、既に約 140 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 法の適用を以て、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 の開発に着手した。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、適用対象がマウスに限定されていた SnCalc.exe のラットデータへの適用の可能性を検討し、また 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。

本年度（平成 26 年度）は、SnCalc.exe による非 Percellome データの絶対量推定を、参照データベースにラット単回投与データに適用拡大すべく、医薬基盤研トキシコゲノミクスプロジェクト（TGP）の単回投与実験の溶媒群データ^(*)を SnCalc リファレンスデータベースに追加・拡充し、絶対量推定性能を確認したほか、遺伝子発現変動評価の標準値とすべく、SnCalc リファレンスデータベースから溶媒別の標準溶媒コントロールデータを生成した。また実験間の共通変動遺伝子を高速抽出するプログラム PercellomeExplorer を改良を進め、各化学物質に特異的な生体反応要素のハイスループット抽出解析を実現した。さらに Percellome 専用解析ソフトウェア群の基本ツールとなっている MFSurface.exe のユーザーインターフェイス、特に解析結果保存機能の拡充を行うなど、本研究班で開発してきた諸ソフトウェアが、より一層ユーザー本位の解析ツールとなるよう改良作業を行った。

(*) TGP はその発足時に当研究者らが Percellome 法を基軸に設計したものであり、その生データから絶対量化や後述の 3 次元波面表示・解析が可能である。

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推進の為のインフォマティクス開発を目指す中であって、本分担研究は、その中核を成す約 140 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・改良を実施する。

B. 研究方法

B-1: 参照データ

遺伝子発現データとしては、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。

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。

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

コンパイルを繰り返す実験的な開発における作業効率と、生成するソフトウェア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、XE5 (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.) を用いた。

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 ; NTT コムウェア・NTT データ) 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 (絶対量化) 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 化せず取得した外部のマイクロアレイデータ (以下、非 Percellome 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 を開発した。加えて、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計画当初は平成 26 年度予定であった研究を実施した。即ち、候補遺伝子抽出プログラム RSort の改良を行い、偽陰性データの発生数を数個～200 個程度に抑えつつ、偽陽性データを従来版 RSort よりも数百～2000 個程度の削減することに成功した。また、適用対象がマウスに限定されていた SnCalc.exe のラットデータへの適用の可能性を検討したのに加え、平成 24 年度に作成した Percellome 公開用 Web サーバーの 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、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。

平成 26 年度は、非 Percellome データの絶対量推定プログラム SnCalc をラットにも拡大適用した。その為に、以下の手順を踏んだ。TGP は、その発足に際し当研究者らが Percellome 法を基軸に設計したものであり、そのラットデータには絶対量化に必要な情報が含まれているが、運営上、Percellome 法の実施に必要な品質管理を行っていなかったため、本研究において溶媒群データを中心に Percellome 計算ソフト

ウェア SCalc による品質チェックを追加的に行い、データ品質に大きな問題がない 2072 枚分のラット GeneChip データを収集した。これを利用し、SnCalc が必要とする参照データベースを拡充することにより、ラットに於いても非 Percellome データの絶対量推定を可能とした(ただし、適用は TGP データと同様のトランスクリプトーム分布を有するデータに限定される)。

また拡充された SnCalc リファレンスデータベースを有効活用し、遺伝子発現変動評価の標準値とすべく、溶媒別の標準溶媒コントロールデータを生成した。これは本研究班本テーマの新型反復暴露試験の解析において、基線反応の変動の有無を評価する際の標準値とした。

さらに実験間の共通変動遺伝子の抽出など、多数の化学物質暴露データを用いた複雑な集合計算を簡便に行うためのソフトウェア PercellomeExplorer の改良を進め、各化学物質に特異的な生体反応要素のハイスループット抽出解析を実現したほか、Percellome 専用解析ソフトウェア群の基本ツールとなっている MFSurface.exe のユーザーインターフェイス、特に解析結果保存機能の拡充を行った(図)。これらにより、本研究班で開発してきた諸ソフトウェアが、より一層ユーザー本位の解析ツールとなった。

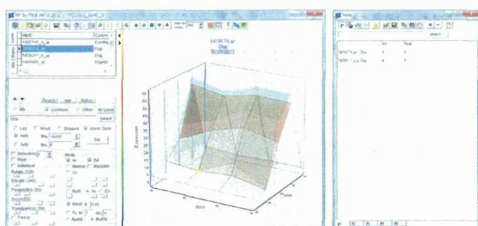


図. 解析結果保存機能を拡充した MFSurface.exe

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、3年間を通じて新規アルゴリズムの開発や既存ソフトウェア、データベースの改良を行い、性能向上や適用範囲の拡大(汎用化)を実現した。

特にマウスデータだけでなくラットデータにも解析対象を広げたこと、非 Percellome データについても絶対量推定がある程度の精度をもって可能になったことは、Percellome 技術の普及、利用拡大を推進し、以てトキシコゲノミクス研究の発展に寄与するものと期待される。

本年度は、今までの研究の総まとめとして、解析対象となるデータを拡大し、評価基準となるような標準データをデータベースから生成し、開発した解析用ソフトウェアのユーザーインターフェイスの改良を行って、解析効率・精度の向上に努めた。

今後は、動作環境の拡大も視野に、GARUDA(北野宏明博士らが進める各種の生物学的研究ソフトウェアの Web 公開型統合プラットフォーム <http://www.garuda-alliance.org>) を介したオンライン化や PercellomeDB の WebAPI の強化を進める。

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 RSort 技術、PercellomeExplorer 技術の改良により、網

羅的遺伝子発現解析の効率向上を推進している。

また平成 24 年度から継続的に公開している Percellome データベース一般公開システムの WebAPI の改良・強化により、GARUDA 等、外部のオンライン解析ソフトウェアからも、本研究班の成果にアクセス出来るようになり、Percellome データベースの一層の普及と、毒性や創薬といった研究分野の解析能力・効率の向上が期待される。

F. 研究発表

1. 論文発表

Janesick A, Nguyen TT, Aisaki K, Igarashi K, Kitajima S, Chandraratna RA, Kanno J, Blumberg B. Active repression by RAR γ signaling is required for vertebrate axial elongation., *Development*. (2014);141(11):2260-70.

Tanaka M, Yamazaki Y, Kanno Y, Igarashi K, Aisaki K, Kanno J, Nakamura T. Ewing's sarcoma precursors are highly enriched in embryonic osteochondrogenic progenitors. *J Clin Invest*. (2014);124(7):3061-74.

2. 学会発表

Jun Kanno, Ken-ichi Aisaki, Satoshi Kitajima, Percellome Toxicogenomics, 50th Congress of the European Societies of Toxicology (EUROTOX2014) (2014. 9. 9) Edinburgh, UK, poster

Jun Kanno, Ken-ichi Aisaki, Satoshi Kitajima, Percellome toxicogenomics

project as the 3R-toxicology and the foundation of in vitro- and in silico-toxicology, the 9th World Congress on Alternatives and Animal Use in the Life Sciences (WC9) (2014. 8. 27), Prague, Czech Republic, Oral

相崎健一、北嶋 聡、菅野 純、遺伝子発現から見た毒性学—Percellome トキシコゲノミクスの進捗—、第 36 回日本中毒学会総会・学術集会(2014. 7. 25) 東京、シンポジウム

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吸入暴露時の海馬 Percellome トキシコゲノミクス—化学構造が異なる 3 物質の比較—、第 41 回日本毒性学会学術年会 (2014. 7. 3) 神戸、口演

菅野 純、相崎健一、北嶋 聡、Percellome Project の進捗—新型反復暴露による慢性毒性の予測に向けての分子背景の解析—、第 41 回日本毒性学会学術年会 (2014. 7. 2) 神戸、シンポジウム

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
 ー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ー」
 (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

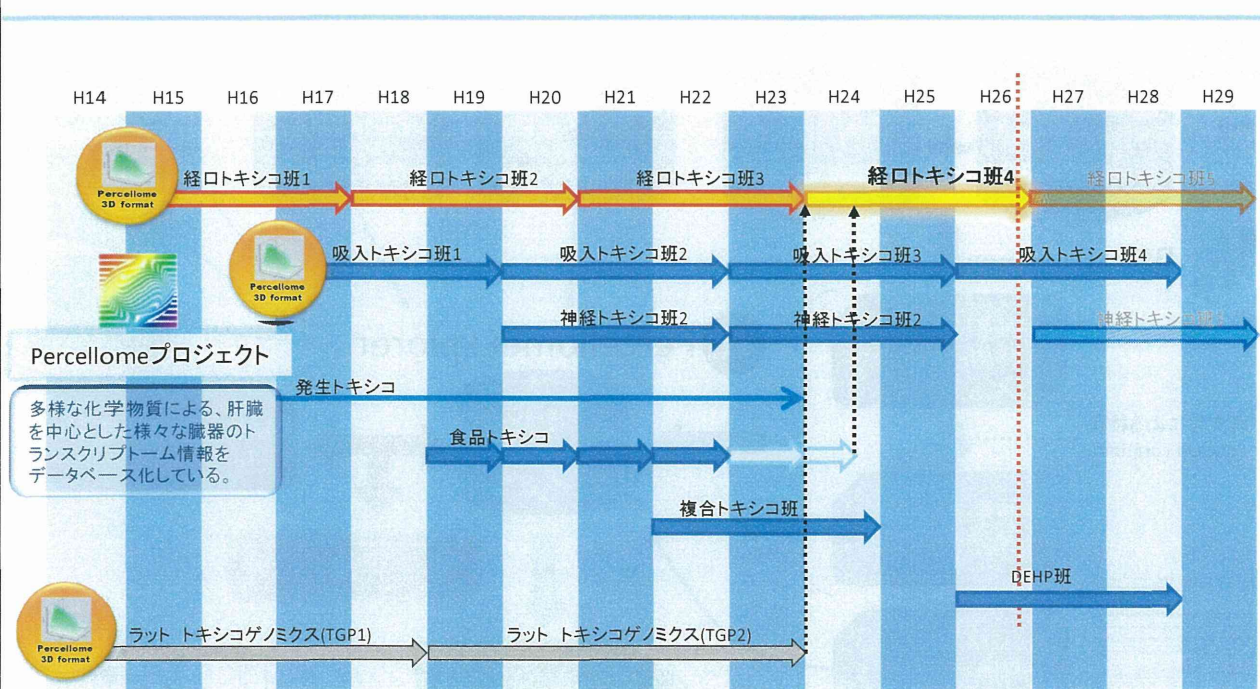
毒性部

相崎 健一

平成26年度 班会議 (2015 / 2 / 13)



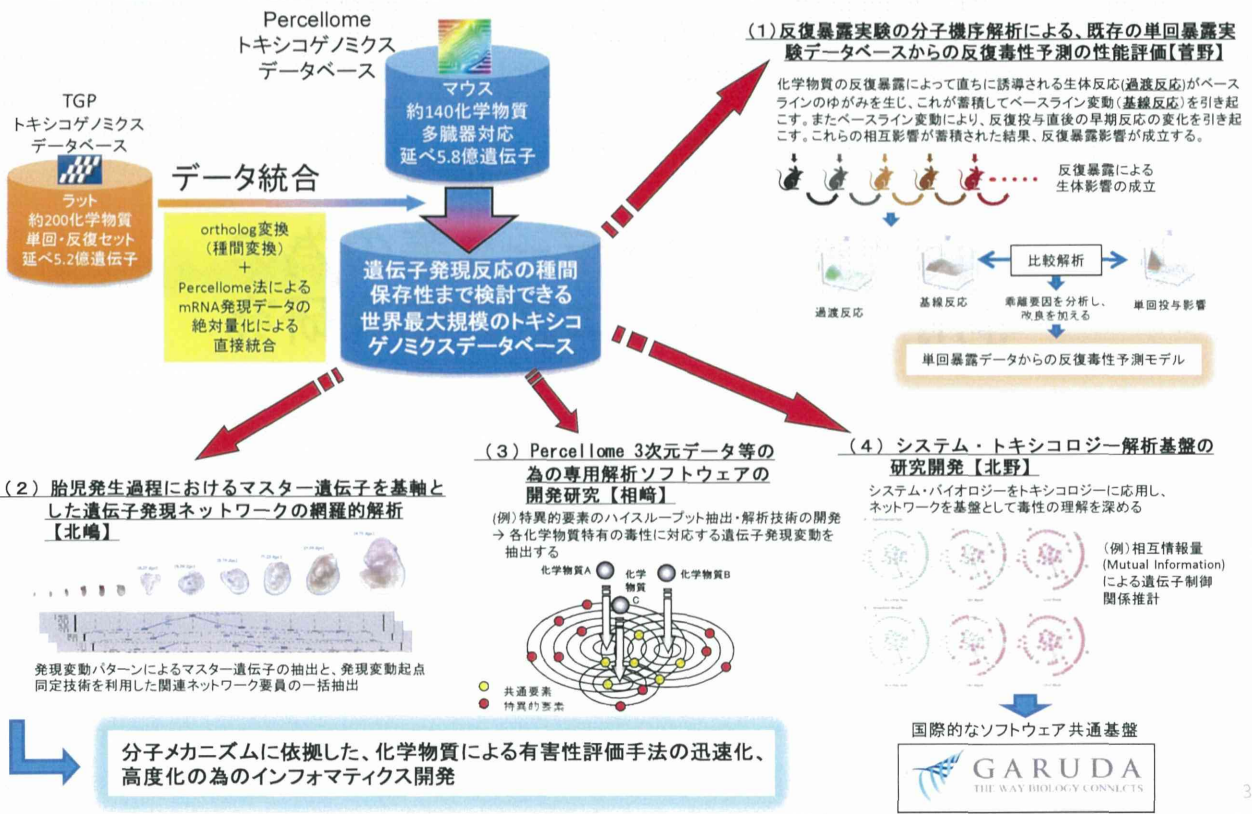
毒性部が展開するトキシコゲノミクス研究



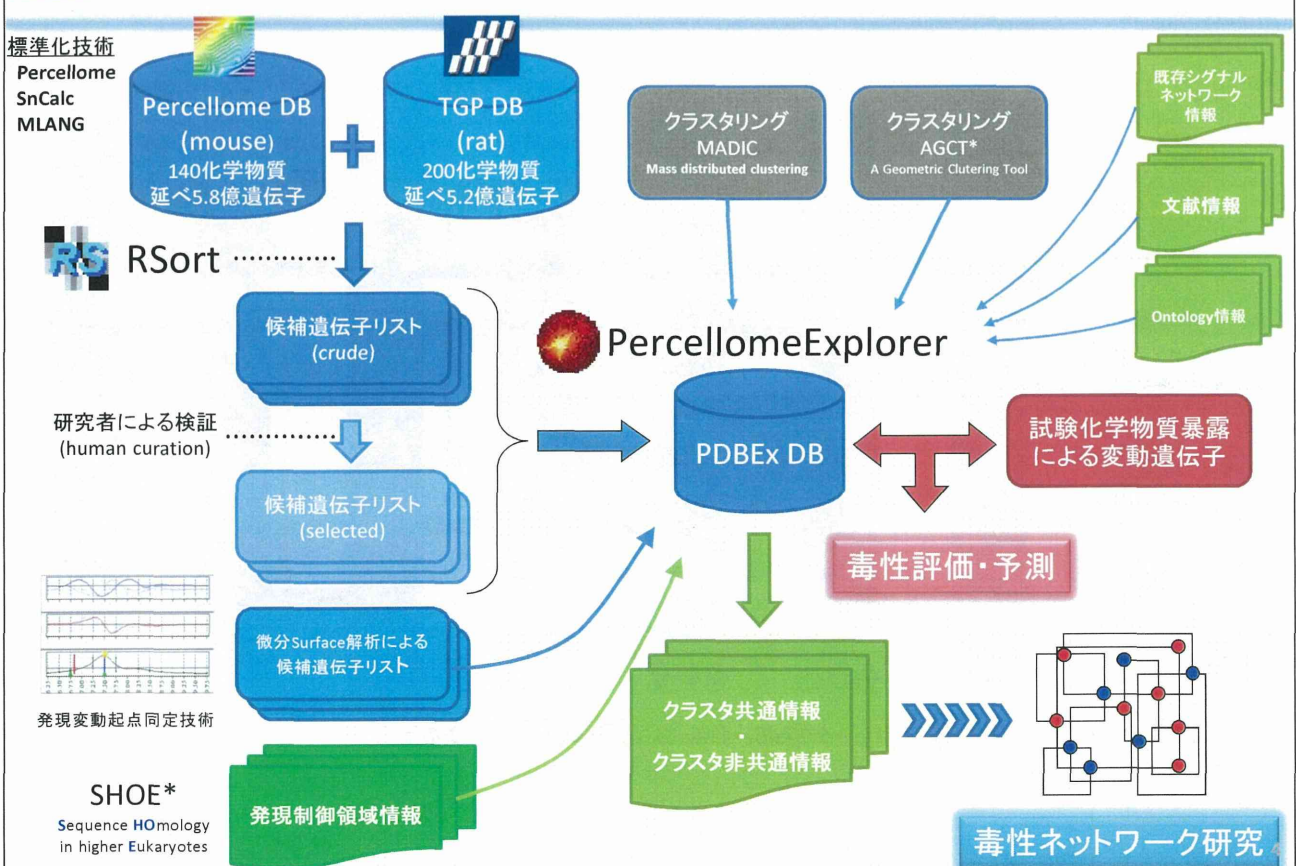
これらすべての研究が絶対値化したデータを利用 = 利点: 相互の直接比較が可能である

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—



Percellome技術による解析の流れ





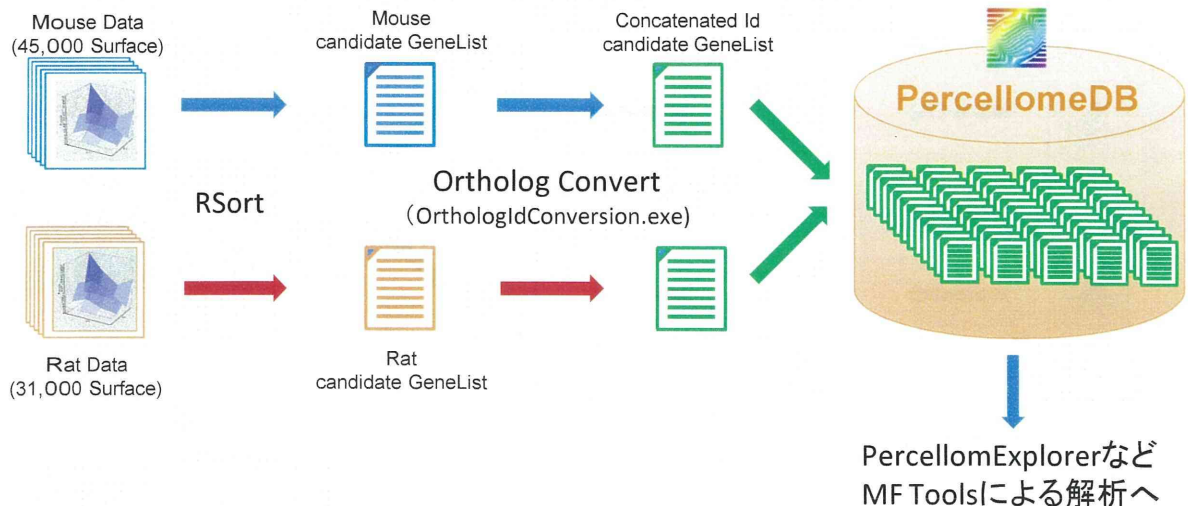
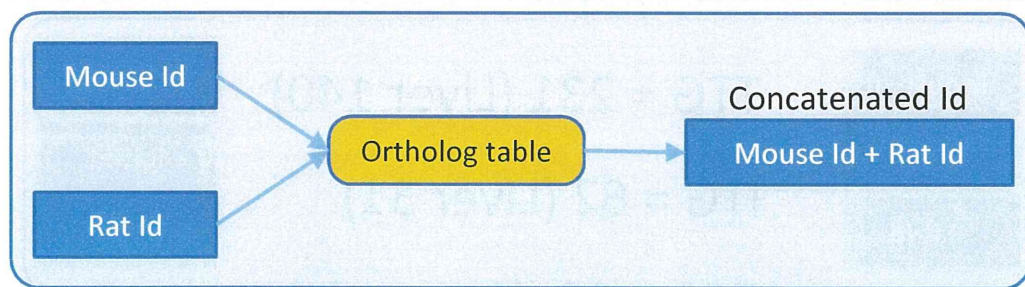
ラット・トキシコゲノミクスデータの統合

シームレスなOrtholog発現解析技術の開発

5



処理コンセプト



6



Concatenated Id

MoeRaeOrth : Concatenated Id (= Ortholog Pair, 39246)

Moe430v2 : 24950 ps (coverage 55.3%, most Freq =20)

Rae230v2 : 16867 ps (coverage 54.2%, most Freq =26)

Table - MoeRaeOrth (C:\MilleFeuille\MoeRaeOrth)

Browse Data | Structure | Indexes | Full Text Indexing

Select Visible Fields... Copy On Append

AffyId	Common	GenBank	Description
1415670_at-1371810_at	Copg Copg	BC024686 BF284093	(MEMO)
1415670_at-1372464_at	Copg Copg	BC024686 BE109050	(MEMO)
1415671_at-1388365_at	Atp6v0d1 Atp6v0d1	NM_013477 BI276424	(MEMO)
1415672_at-1398895_at	Golga7 Golga7	NM_020585 BM389419	(MEMO)
1415673_at-1375964_at	Psph Psph	NM_133900 BF282282	(MEMO)
1415674_a_at-1373907_at	Trappc4 Trappc4	NM_021789 BI288890	(MEMO)
1415676_a_at-1371348_at	Psm5 Psm5	NM_011186 BI285627	(MEMO)
1415676_a_at-1385531_at	Psm5 Psm5	NM_011186 BI281524	(MEMO)
1415676_a_at-1385532_x_at	Psm5 Psm5	NM_011186 BI281524	(MEMO)
1415677_at-1389407_at	Dhrs1 Dhrs1	NM_026819 BE099453	(MEMO)
1415678_at-1368859_at	Ppm1a Ppm1a	BC008595 NM_017038	(MEMO)
1415679_at-1371338_at	Psenen Psenen	NM_025498 AI232272	(MEMO)
1415680_at-1373744_at	Anapc1 Anapc1	NM_008569 BF548006	(MEMO)

If the current table contains BLOB fields, simply double-click on the field to view and/or modify the field contents

Last Updated On 2012年12月15日 1:08:01

7

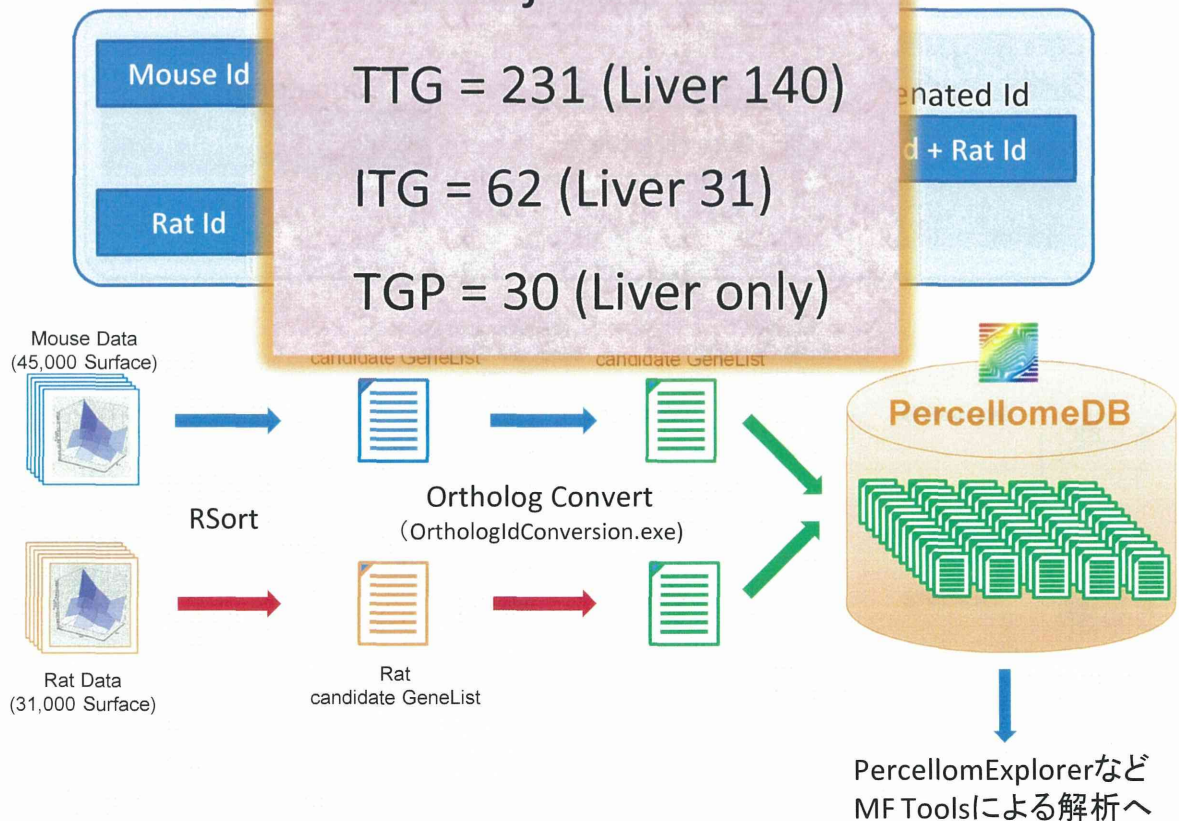


Total Project# = 323

TTG = 231 (Liver 140)

ITG = 62 (Liver 31)

TGP = 30 (Liver only)



8



Percellome外部SpikeRNAを添加していない 測定済みマイクロアレイデータの 絶対量推定

一般公開関連技術の開発

9



Percellome絶対量化手法の拡張の意義

- 一般的な(外部Spikeが添加されていない)測定済みマイクロアレイデータの絶対量推定
 - >>> Percellomeの利用促進
 - Percellomeデータの一層の高精度化
 - >>> 外部Spikeの添加エラーによるデータ不安定化の抑制
- >>>> SnCalcの生成

10



SnCalc 基本コンセプト

- Percellomeデータベースの規模を活かし、Percellome法で絶対量化した溶媒群データを参照して、各データの絶対量(コピー数/細胞)を推定する。

<前提>

トランスクリプトームの分布がPercellomeデータベース由来の参照データと同様であること。

>>> トランスクリプトーム分布状況の検証実施

専用ツールDDComp.exe (Difference of Distribution Compare) を作成済み

11



① raw dataより基準点候補のプロブセットリストを作成する。

② PercellomeDBより、サンプルと同条件で測定された溶媒群の絶対量化データを集める。

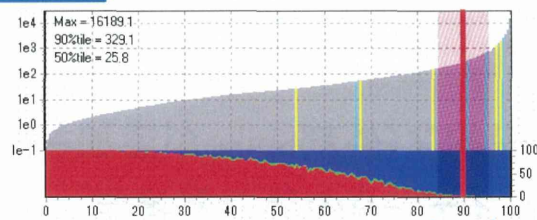
③ 2における1の候補プロブセット群の絶対量化データを抽出する。

④ 3のデータ群の中央値を、基準点の絶対量化データとして採用する。

⑤ log-log空間で、原点と基準点を結ぶ直線を検量線として、遺伝子毎の絶対量を計算する。

raw data

Center 90%tile / Range 1000ps = 90%tile ± 5%



Reference
ProbeSet List



- 計算対象の測定済みサンプルに Percellome外部Spike RNAが添加されていなくても良い!
- 推定計算の基準点を、特定のプロブセットに固定しない為、より多様なサンプルに適用可能である。
- PercellomeDB全体を参照する為、個々の参照データの誤差による影響を排除できる。

12

① raw dataより基準点候補のプローブセットリストを作成する。

② PercellomeDBより、サンプルと同条件で測定された溶媒群の絶対量化データを集める。

③ 2における1の候補プローブセット群の絶対量化データを抽出する。

④ 3のデータ群の中央値を、基準点の絶対量化データとして採用する。

⑤ log-log空間で、原点と基準点を結ぶ直線を検量線として、遺伝子毎の絶対量を計算する。



Species, Tissue, Time, Vehicle, SpikeFactorが一致する溶媒群の絶対量化データ



13

① raw dataより基準点候補のプローブセットリストを作成する。

② PercellomeDBより、サンプルと同条件で測定された溶媒群の絶対量化データを集める。

③ 2における1の候補プローブセット群の絶対量化データを抽出する。

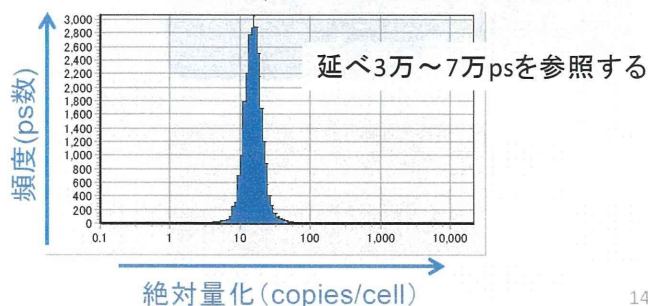
④ 3のデータ群の中央値を、基準点の絶対量化データとして採用する。

⑤ log-log空間で、原点と基準点を結ぶ直線を検量線として、遺伝子毎の絶対量を計算する。

Reference ProbeSet List



$$\text{参照データ量} = \frac{\text{range (1001)}}{\text{標準chip数 (30~70)}} \times$$



14

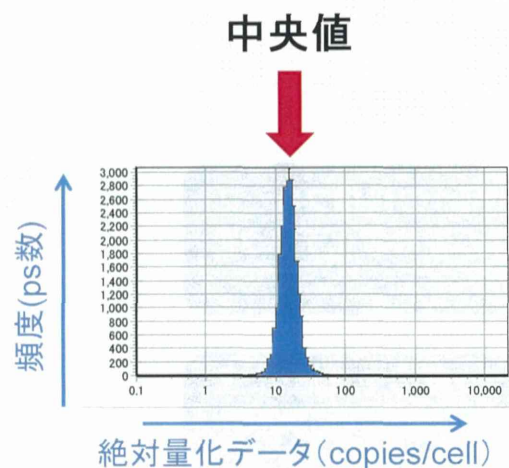
① raw dataより基準点候補のプロブセットリストを作成する。

② PercellomeDBより、サンプルと同条件で測定された溶媒群の絶対量化データを集める。

③ 2における1の候補プロブセット群の絶対量化データを抽出する。

④ 3のデータ群の中央値を、基準点の絶対量化データとして採用する。

⑤ log-log空間で、原点と基準点を結ぶ直線を検量線として、遺伝子毎の絶対量を計算する。



15

① raw dataより基準点候補のプロブセットリストを作成する。

② PercellomeDBより、サンプルと同条件で測定された溶媒群の絶対量化データを集める。

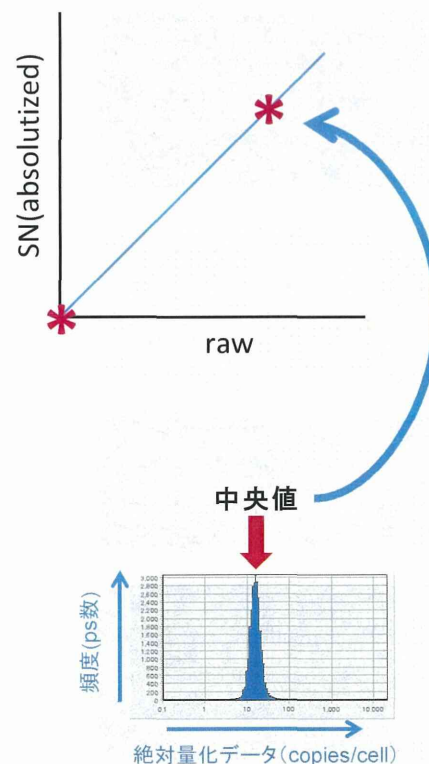
③ 2における1の候補プロブセット群の絶対量化データを抽出する。

④ 3のデータ群の中央値を、基準点の絶対量化データとして採用する。

⑤ log-log空間で、原点と基準点を結ぶ直線を検量線として、遺伝子毎の絶対量を計算する。

SN data

原点と基準点を通る直線を検量線とする



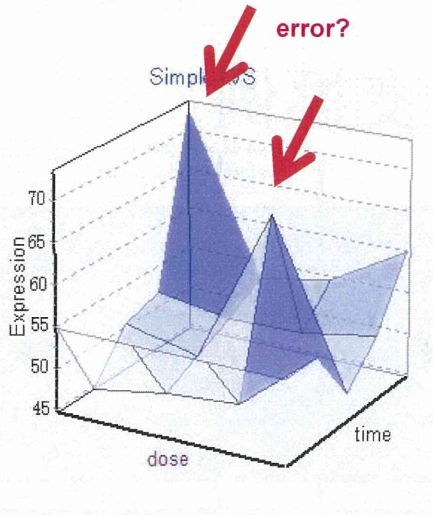
16



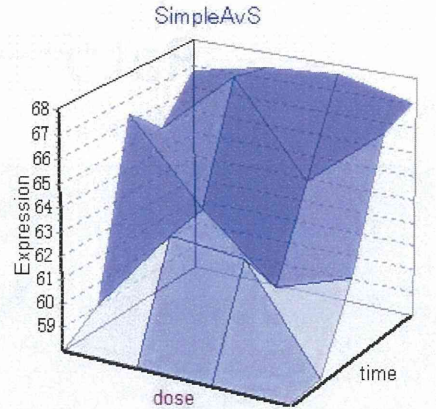
SnCalcによる系統誤差の補正(例)

全プローブセットの単純平均Surface

Percellome (SpNC)



SnCalc



SnCalc参照データの拡充(H26)

Mouse

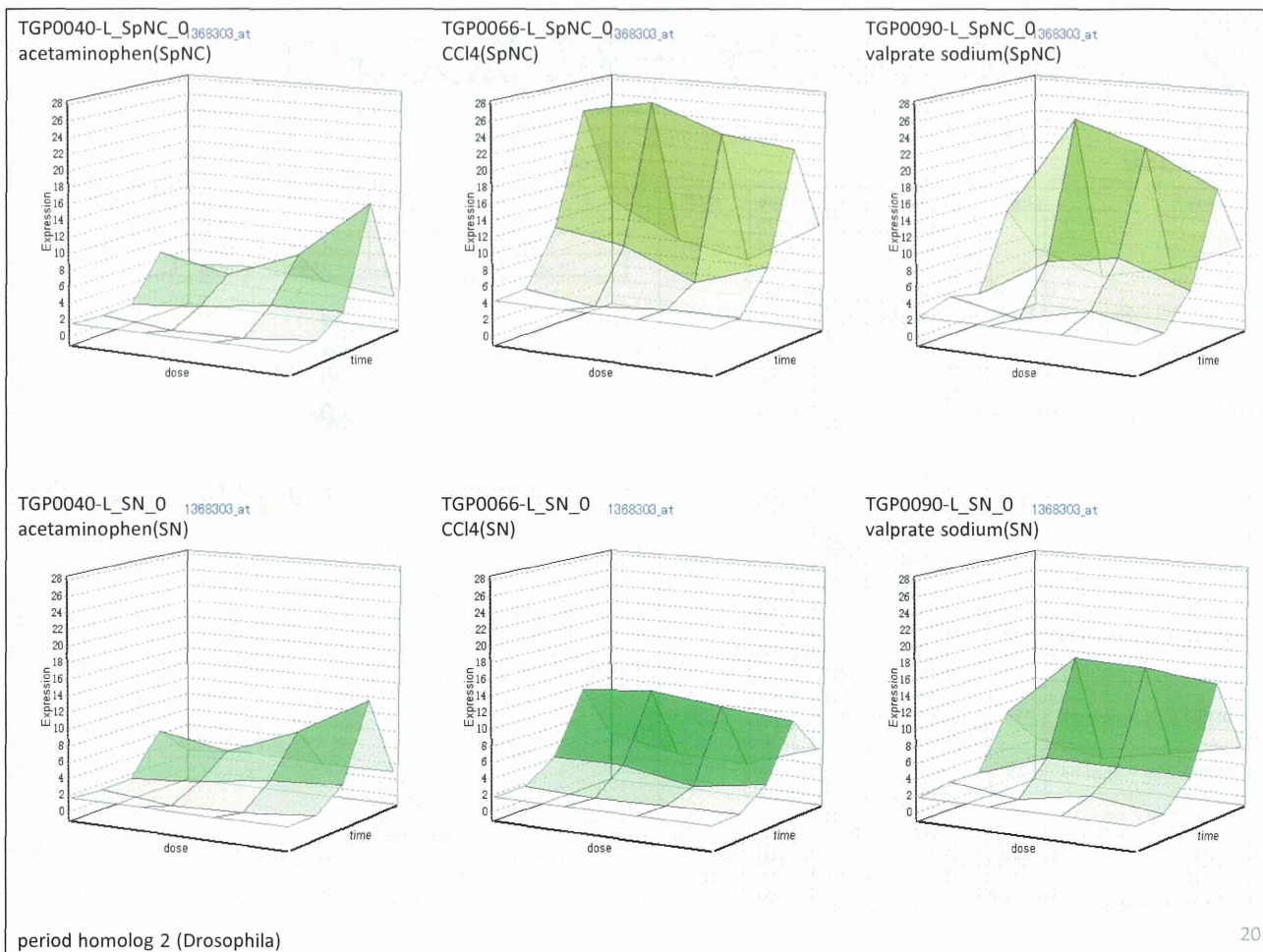
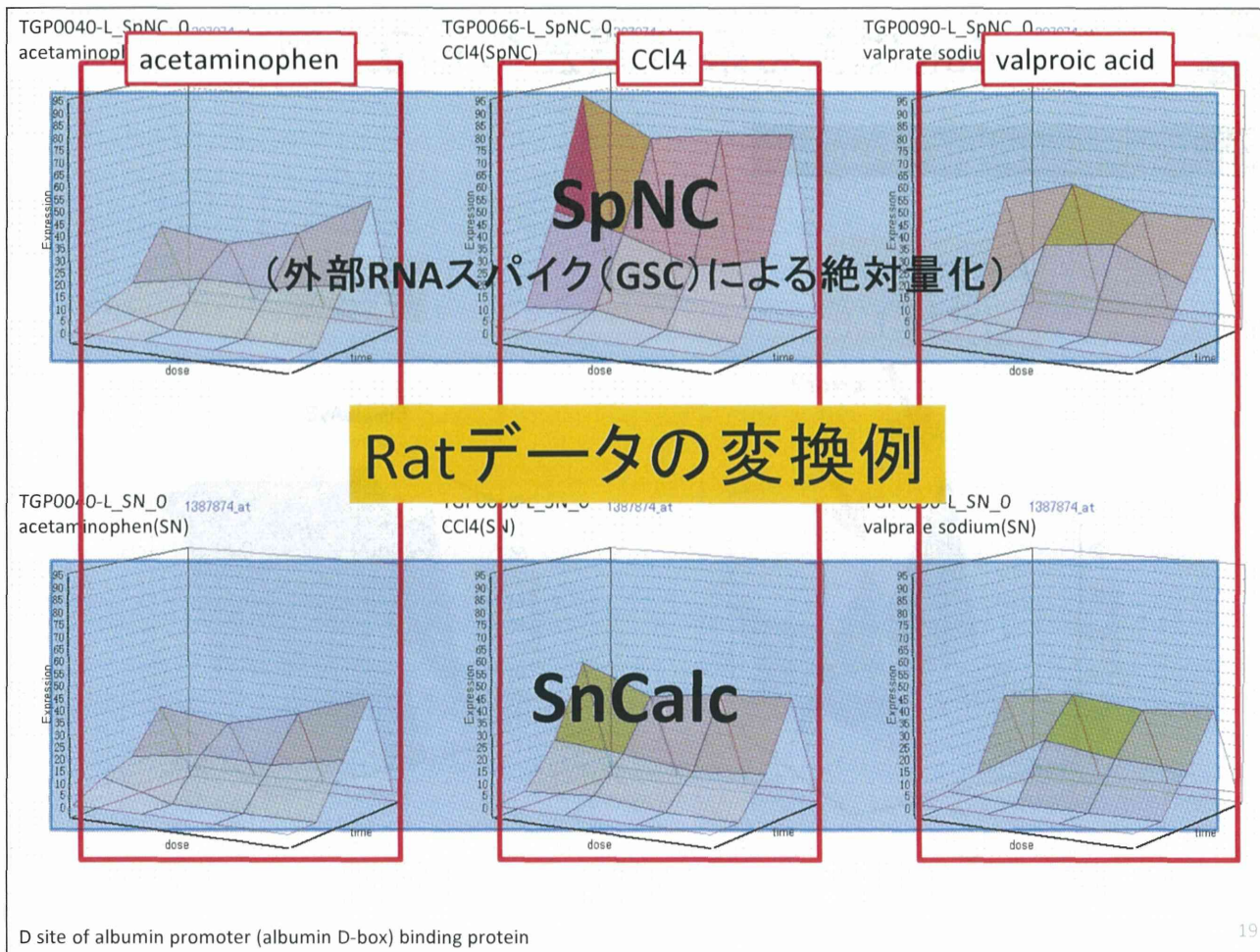
Vehicle	chip	Tissue	SpF	chip	total
MC 0.5%	1047	Liver	0.005	276	2380
		Liver	0.02	344	
		Lung	0.0006	60	
		Heart	0.0025	60	
		Hippocampus	0.003	80	
		Hippocampus	0.01	24	
		Kidney	0.002	179	
		Testis	0.004	12	
		Testis	0.015	12	
		corn oil	484	Liver	
Liver	0.02			129	
Lung	0.0006			83	
Heart	0.0025			12	
Hippocampus	0.01			24	
Kidney	0.002			59	
DMSO 0.1% + MC 0.5%	156	Testis	0.004	12	
		Testis	0.015	12	
		Thymus	0.001	12	
		Liver	0.02	108	
DMSO 0.1% + corn oil	121	Kidney	0.002	24	
		Liver	0.005	36	
		Liver	0.02	73	
DMSO 10% + corn oil	24	Kidney	0.002	12	
		Liver	0.02	12	
ITG(2hr x 1day)	166	Kidney	0.002	12	
		Liver	0.005	84	
ITG(6hr x 7days)	180	Lung	0.0006	82	
		Liver	0.005	97	
ITG(22hr x 7days)	202	Lung	0.0006	83	
		Liver	0.005	108	
		Lung	0.0006	94	

Rat

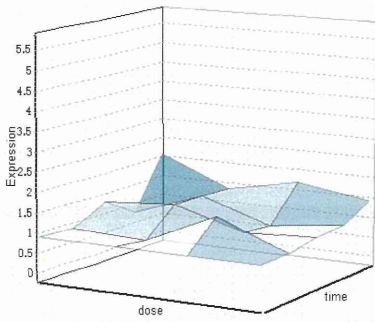
Vehicle	chip	Tissue	SpF	total
MC 0.5%	1475	Liver	0.02	2072
corn oil	342	Liver	0.02	
saline	255	Liver	0.02	



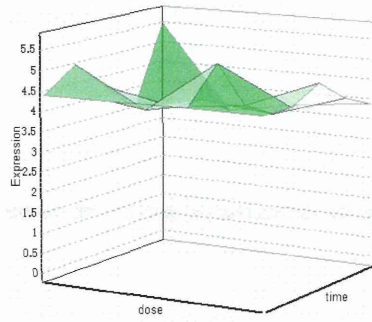
ratデータのSnCalcが可能になった



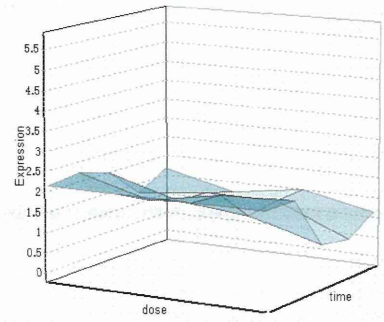
TGP0040-L_SpNC_0_1369168_a_at
acetaminophen(SpNC)



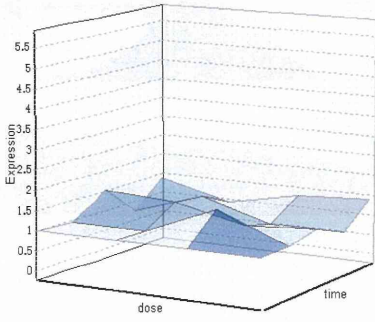
TGP0066-L_SpNC_0_1369168_a_at
CCI4(SpNC)



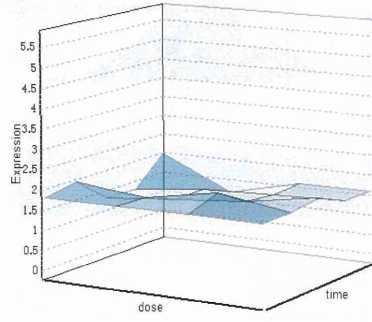
TGP0090-L_SpNC_0_1369168_a_at
valprate sodium(SpNC)



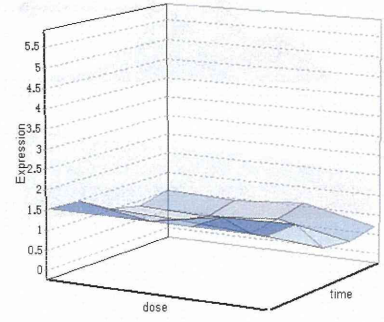
TGP0040-L_SN_0_1369168_a_at
acetaminophen(SN)



TGP0066-L_SN_0_1369168_a_at
CCI4(SN)



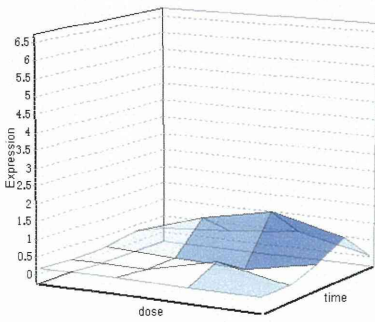
TGP0090-L_SN_0_1369168_a_at
valprate sodium(SN)



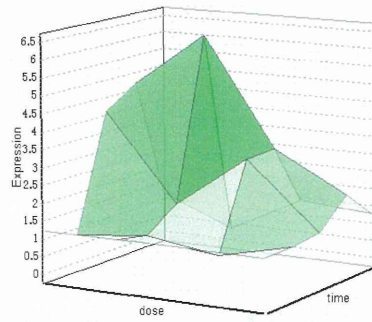
clock homolog (mouse)

21

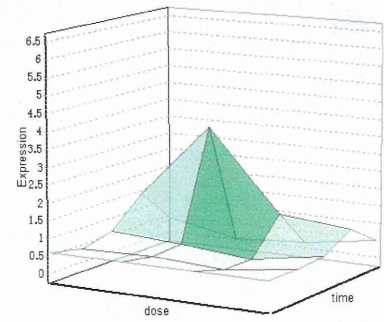
TGP0040-L_SpNC_0_1370269_at
acetaminophen(SpNC)



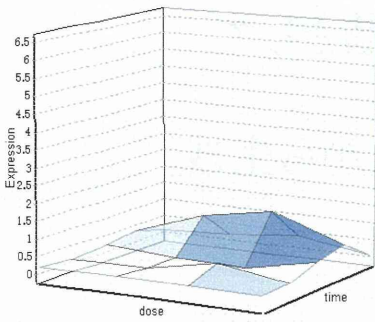
TGP0066-L_SpNC_0_1370269_at
CCI4(SpNC)



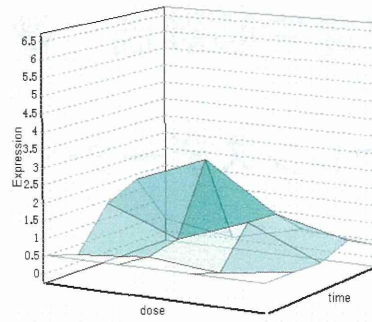
TGP0090-L_SpNC_0_1370269_at
valprate sodium(SpNC)



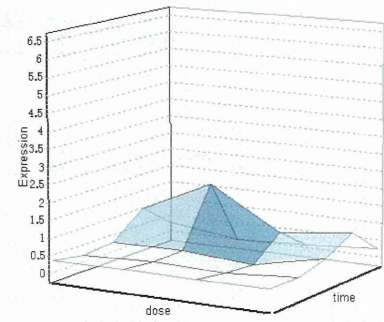
TGP0040-L_SN_0_1370269_at
acetaminophen(SN)



TGP0066-L_SN_0_1370269_at
CCI4(SN)



TGP0090-L_SN_0_1370269_at
valprate sodium(SN)



cytochrome P450, family 1, subfamily a, polypeptide 1

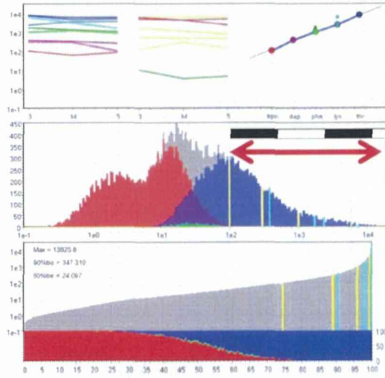
22



スパイク添加量の誤差

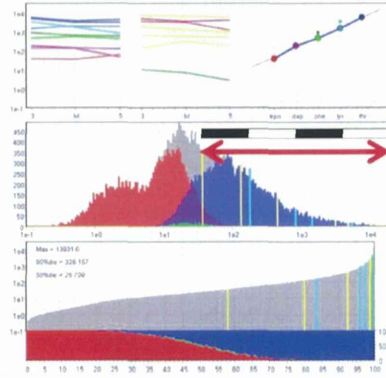
SCM ver.0.2.3 2014/12/12 14:48:58
 TGP040-L-011 TXT (R:ITGPPercutomeE:ITGP0040(jacellmicrophen-single)/raw)
 Mouse Liver // 0.02 μL
 log S = 0.952013 log C = 1.33152 (r2=0.99899)

ProteinName	Conc.	Peptide	%Ile	F raw	F std	M raw	M std	F raw	F std
APFX-TpexK	8.8	8.83978	74.7387	160.051	P	87.317	P	81.799	P
APFX-DapK	17.3	18.3986	88.7909	305.885	P	278.878	P	151.031	P
APFX-Phox	82.0	86.3443	96.8442	890.184	P	1182.31	P	147.732	P
APFX-Lact	159.0	152.280	88.8141	8881.91	R	3082.72	R	1651.04	P
APFX-Thx	488.1	444.349	99.1467	7124.9	P	4588.45	P	4753.18	P
APFX-i2-Ba-dsp	17.3	20.4497	95.7489	379.884	P	313.882	P	248.481	P
APFX-i2-Ba-sha	52.0	100.021	97.8939	1725.08	P	1245.11	P	1021.81	P
APFX-i2-Ba-lys	159.0	141.018	95.3468	2365.93	P	2446.18	P	2048.38	P
APFX-i2-Ba-thr	488.1	485.264	99.7821	7334.23	P	8676.14	P	8818.33	P



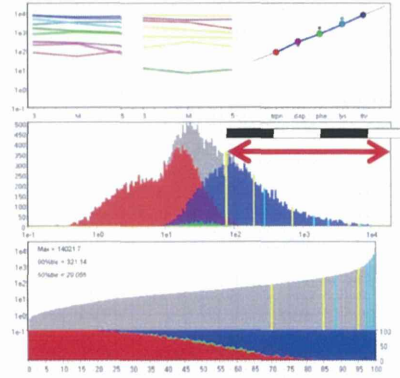
SCM ver.0.2.3 2014/12/12 14:48:58
 TGP066-L-011 TXT (R:ITGPPercutomeE:ITGP0066(CM-single)/raw)
 Mouse Liver // 0.02 μL
 log S = 1.06785 log C = 0.789928 (r2=0.99348)

ProteinName	Conc.	Peptide	%Ile	F raw	F std	M raw	M std	F raw	F std
APFX-TpexK	8.8	8.83287	88.0372	27.786	P	35.021	P	87.882	P
APFX-DapK	17.3	18.8855	80.2405	138.789	P	128.513	P	45.188	P
APFX-Phox	82.0	48.8389	82.4103	441.13	P	106.883	P	413.382	P
APFX-Lact	159.0	298.884	98.0871	2982.86	P	1838.54	P	825.781	P
APFX-Thx	488.1	431.545	99.4727	4811.48	P	2974.76	P	3617.02	P
APFX-i2-Ba-dsp	17.3	21.4837	83.7328	178.426	P	137.083	P	118.813	P
APFX-i2-Ba-sha	52.0	88.8114	99.8188	808.703	P	629.104	P	570.079	P
APFX-i2-Ba-lys	159.0	141.496	97.4116	1614.83	P	1905.3	P	1752.86	P
APFX-i2-Ba-thr	488.1	482.668	99.0871	8587.88	P	3728.45	P	4288.42	P



SCM ver.0.2.3 2014/12/12 14:48:59
 TGP080-L-011 TXT (R:ITGPPercutomeE:ITGP0080(yaprake_sodium-single)/raw)
 Mouse Liver // 0.02 μL
 log S = 1.02354 log C = 1.12217 (r2=0.998196)

ProteinName	Conc.	Peptide	%Ile	F raw	F std	M raw	M std	F raw	F std
APFX-TpexK	8.8	8.83765	78.8762	76.882	P	47.887	P	85.841	P
APFX-DapK	17.3	11.9287	85.9838	189.888	P	225.924	P	49.183	P
APFX-Phox	82.0	47.7797	88.8386	883.876	P	386.12	P	718.345	P
APFX-Lact	159.0	352.386	98.4116	4988.65	P	3883.94	P	1852.71	P
APFX-Thx	488.1	444.842	99.7138	6526.4	P	4545.73	P	4317.88	P
APFX-i2-Ba-dsp	17.3	18.3986	88.8688	278.988	P	251.354	P	165.488	P
APFX-i2-Ba-sha	52.0	98.8162	97.4489	1433.5	P	1028.14	P	892.433	P
APFX-i2-Ba-lys	159.0	158.882	98.6184	2378.89	P	2844.2	P	2481.14	P
APFX-i2-Ba-thr	488.1	485.884	99.1482	7284.14	P	8711.88	P	8743.28	P



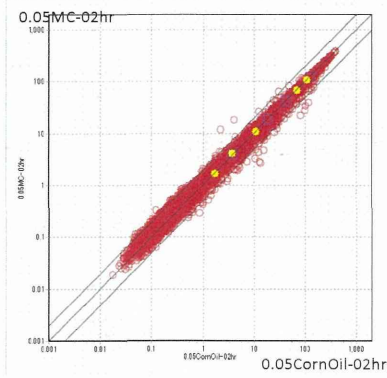
ideal control

新型反復暴露実験評価の標準値として
 ~SnCalcリファレンスデータベースから生成

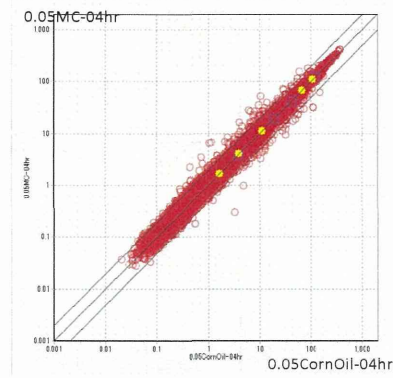


ideal control

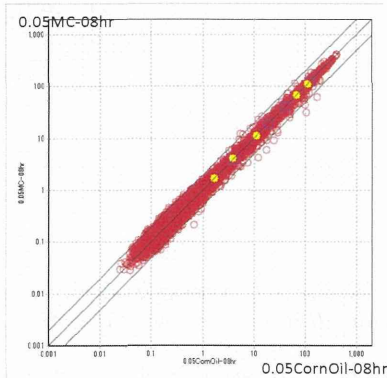
2hr



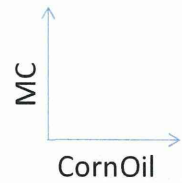
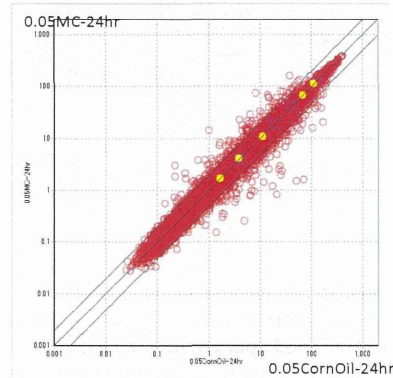
4hr



8hr

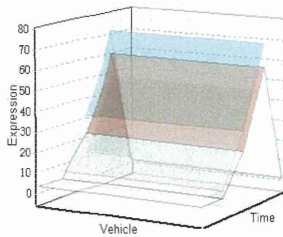


24hr

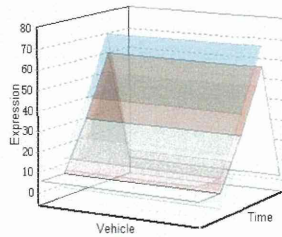


25

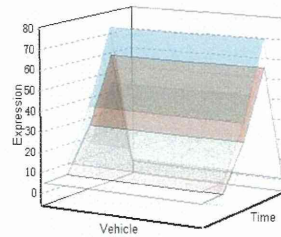
mouse_Liver_0.02_CornOil



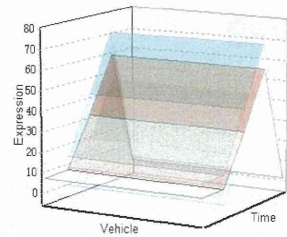
mouse_Liver_0.02_D-CornOil



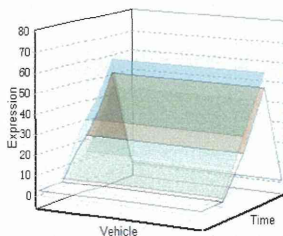
mouse_Liver_0.02_D-MC



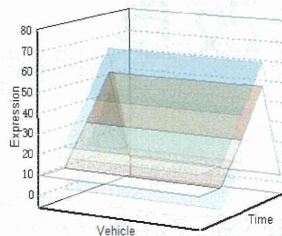
mouse_Liver_0.02_MC



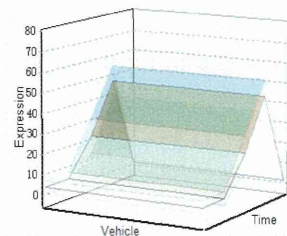
mouse_Liver_0.005_CornOil



mouse_Liver_0.005_D-CornOil



mouse_Liver_0.005_MC



Dbp

D site albumin promoter binding protein

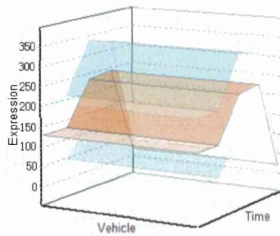
<<<BiologicalProcess>> 0006350 // transcription // inferred from electronic annotation /// 0006355 // regulation of transcription, DNA-dependent // traceable author statement /// 0006355 // regulation of transcription, DNA-dependent // inferred from electronic annotation /// 0007623 // circadian rhythm // traceable author statement /// 0042127 // regulation of cell proliferation // inferred from electronic annotation /// 0045449 // regulation of transcription // inferred from electronic annotation /// 0048511 // rhythmic process // inferred from electronic annotation

<<<CellularComponent>> 0005634 // nucleus // inferred from electronic annotation

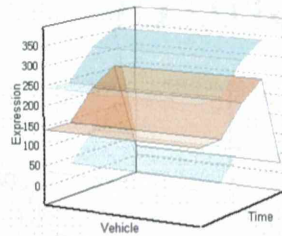
<<<MolecularFunction>> 0003677 // DNA binding // inferred from electronic annotation /// 0003700 // transcription factor activity // inferred from electronic annotation /// 0043565 // sequence-specific DNA binding // inferred from electronic annotation /// 0046983 // protein dimerization activity // inferred from electronic annotation

26

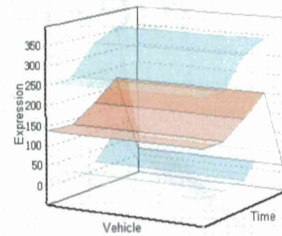
mouse_Liver_0.02_CornOil



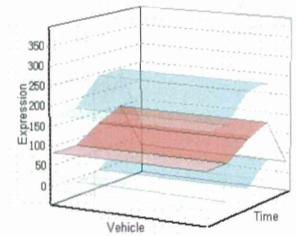
mouse_Liver_0.02_D-CornOil



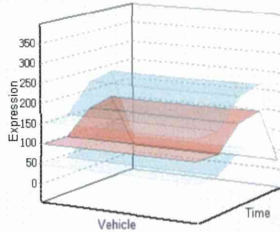
mouse_Liver_0.02_D-MC



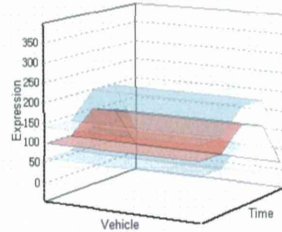
mouse_Liver_0.02_MC



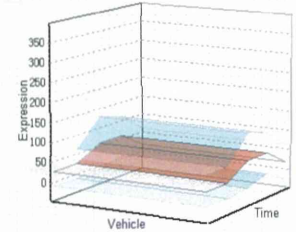
mouse_Liver_0.005_CornOil



mouse_Liver_0.005_D-CornOil



mouse_Liver_0.005_MC



Mt1

metallothionein 1

<<<BiologicalProcess>> 0006875 // cellular metal ion homeostasis // inferred from direct assay /// 0006882 // cellular zinc ion homeostasis // inferred from mutant phenotype /// 0007263 // nitric oxide mediated signal transduction // inferred from mutant phenotype /// 0010273 // detoxification of copper ion // inferred from genetic interaction
 <<<CellularComponent>> 0005764 // lysosome // inferred from direct assay /// 0005829 // cytosol // inferred from direct assay
 <<<MolecularFunction>> 0005507 // copper ion binding // inferred from direct assay /// 0008270 // zinc ion binding // traceable author statement /// 0046872 // metal ion binding // inferred from direct assay /// 0046872 // metal ion binding // inferred from electronic annotation²⁷



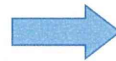
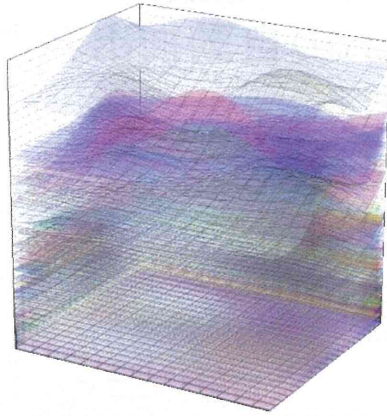
RSortの改良

false positive削減の試み

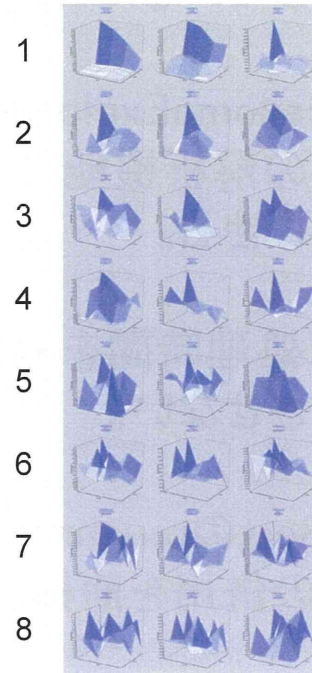


RSort

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



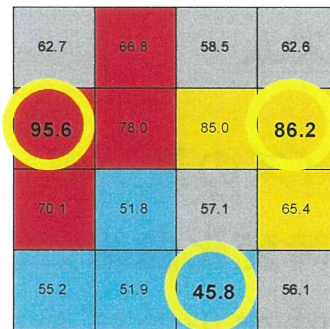
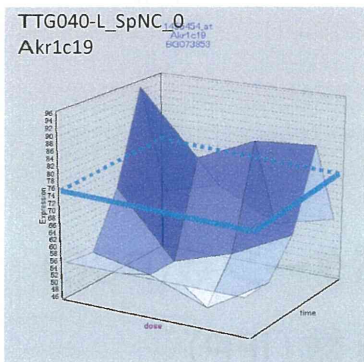
(peak数)



29



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	5	3	2
11	6	10	14
8	7	4	9

30