

1Dp01 ゲノムネットワークの時系列データ解析に関する基盤技術の整備

○徳元 康人¹, 富永 大介², 油谷 幸代², 孫 富艶², 中津井 雅彦², 山口 哲志¹, 堀本 勝久², 長棟 輝行¹, 三宅 淳¹
(¹東大院・CNBI, ²産総研・CBRC)

緒言：生命とは自己複製する化学反応の系であり、その基本単位は細胞である。生命を正しく理解する為には、生きている個々の細胞内で行われている複雑で早い化学反応を、ありのまま正確にモニターする新技術の開発が必要不可欠である。そうした試みの一つとして、我々は、公開されている文献情報から各遺伝子産物間の相関関係を予測し、そこからゲノムネットワークを類推するデータマイニング法を開発してきた。今回は、細胞死誘導サイトカインの一種である TRAIL 下流にあるアポトーシス関連遺伝子誘導ネットワークをモデル系として実験を行った。siRNAによりTRAIL下流のシグナル伝達に関わる各ステップの遺伝子発現を抑制して、その効果に依って、情報伝達経路にどの因子が、どの程度寄与しているのか、細胞蛍光画像タイムラップスビデオイメージを取得して、数学的に解析する試みを行った。また、時系列データの精度を上げるため光分解性ケージ化合物による修飾DNA/RNAの作製も試みている。

結果：コンピューターで予想した、TRAIL刺激下流で活性化する転写因子によりレポーター遺伝子d2EGFPが発現する系を構築し、その蛍光強度の変化を24時間以上に亘って一細胞毎に自動取得する一連のデータ取得システムの構築に成功した。EGFP遺伝子DNAに光分解性ケージ修飾を施した後、生細胞内で光刺激により修飾を解除する事に成功した。

Development of a new technology for genome network analysis by multi time-laps imaging of living cells

○Yasuhito TOKUMOTO¹, Daisuke TOMINAGA², Sachio ABURATANI², Fuyan SUN², Masahiko NAKATSUI², Satoshi YAMAGUCHI¹, Katsuhisa HORIMOTO², Teruyuki NAGAMUNE¹, Jun MIYAKE¹
(¹CNBI, Tokyo Univ., ²CBRC, AIST)

Key words signal transduction, single cell, living cell

1Dp03 高密度マイクロアレイを用いた大腸菌全ゲノムの塩基レベル変異解析

○小野 直亮¹, 鈴木 真吾¹, 古澤 力^{1,2}, 清水 浩¹, 四方 哲也^{1,2,3}
(¹阪大院・情報・バイオ情報, ²科技园・ERATO, ³阪大院・生命機能)

近年のオリゴヌクレオチドマイクロアレイの高密度化により、ゲノム全体を均一にカバーするようなタイリングアレイを設計することが可能になってきた。このようなタイリングアレイを用いた変異解析は、ノンコーディング領域やプロモーター領域を含めた全ゲノムの多型を既存の遺伝子解析の手法に比べて非常に簡便かつ高速に検出できるという大きな利点があり、さまざまな応用が期待されている。

本研究では、大腸菌の全塩基配列を一塩基レベルでカバーするだけでなく、各塩基の置換に対応するプローブをデザインしたタイリングアレイを設計し、また、各プローブの結合エネルギーの物理モデルに基づいた高精度な解析アルゴリズムの開発を行った。この手法を用いた変異解析の結果、同じ株のDNAからパイロシーケンス法を用いて求めたドラフト配列との比較において、検出された変異が99%の精度で一致することを確認した。

Genome-Wide Nucleotide-Level Mutation Analysis in *Escherichia coli* using High Density Microarray

○Naoaki ONO¹, Shingo SUZUKI¹, Chikara FURUSAWA^{1,2}, Hiroshi SHIMIZU¹, Tetsuya YOMO^{1,2,3}
(¹Dept. Bioinfo. Eng., Grad. Sch. IST, Osaka Univ., ²ERATO, JST, ³Grad. Sch. Frontier. Biosci, Osaka Univ.)

Key words genome array, microarray, mutation

1Dp02 遺伝的アルゴリズムとパーミュテーションテストを組み合わせた遺伝子セットの抽出とその評価方法の開発

○小塩 高広¹, 高橋 広夫², 小林 猛²
(¹中部大院・応生, ²中部大・応生・応生化)

マイクロアレイ技術の発達により、遺伝子疾患、サブタイプ診断などテララーメイド医療への応用が期待されるなか、膨大な数の遺伝子発現量をどのように絞り込むかが重要である。また、多くの遺伝子疾患は複数の要因によって引き起こされるため、複数の遺伝子セットによる診断が望ましいが、現在遺伝子セットに対し、 p 値を出す方法がない。そこで、遺伝的アルゴリズムとパーミュテーションテストを組み合わせた手法を提案する。これにより、多重性を考慮した p 値を求めることが期待できる。この手法を用いて、軟部腫瘍のサブタイプのひとつで、診断が困難である悪性線維性組織球腫の多形型と粘液型の判別を目的とした遺伝子発現量解析に応用した。データは、Affymetrix社のGeneChip U133Aを使い多形型20症例、粘液型15症例の計35症例を用いた。これから観測した22215遺伝子から遺伝子発現のシグナルの最大と最小の差が5000以上で、且つ、シグナルが検出可能なものだけに絞ることで、1971遺伝子が抽出された。これを、我々の提案する解析手法を用いることで、単一で最も判別率が高い遺伝子であるMIFとの組合せとして、IQGAP1, HSPALAなどの遺伝子が抽出された、また、MIFとは別にABRとS100A13のような組合せも抽出した。本手法では、その組合せに対し、およそ、 $p = 0.05$ に近い値が出ることを確認した。今回は、二遺伝子に対して行ったが、将来的には例えば十遺伝子に対する解析などもこの手法を用いることで、現実的な時間で終えることが期待できる。

Extraction of gene set by combined genetic algorithm and permutation test and development of the evaluation method.

○Takahiro OJIO¹, Hiro TAKAHASHI², Takeshi KOBAYASHI²
(¹Bios.Biot., Chubu Univ., ²Dept. Biol. Chem., Bios.Biot., Chubu Univ.)

Key words genetic algorithm, permutation test

1Dp04 物理モデルを用いたマイクロアレイの非特異的ハイブリダイゼーションの解析

○古澤 力^{1,2}, 小野 直亮¹, 縣 朋治¹, 鈴木 真吾¹, 四方 哲也^{1,2,3}, 清水 浩¹
(¹阪大院・情報・バイオ情報, ²ERATO, JST, ³阪大院・生命機能)

【目的】Affymetrix社のGeneChipなどのオリゴヌクレオチドアレイは、多種のDNA/RNAの定量法として広く用いられている。しかしこの系では、プローブの配列と完全に相補でない非特異的なターゲットとのハイブリダイゼーション反応が不可避であり、それによるシグナルが解析精度を落とす主因となっている。そこで本研究では、その非特異的なターゲットによるシグナルをプローブの塩基配列から高精度に予測するアルゴリズムを構築した。

【方法、結果】サンプル中の様々な配列のDNA/RNAターゲットと、基盤上のプローブとの非特異的ハイブリダイゼーションを、仮想的な複数のターゲットとプローブの平衡反応としてモデル化した。実験データとして、Affymetrix社のHuman Exon Array上に存在する、Humanゲノム上に存在しない配列を持つランダムプローブのシグナルを利用した。このプローブでは、得られたシグナルの全てが非特異的ハイブリダイゼーションに起因するものと考えられる。このデータを基に、仮想的ターゲットとの結合エネルギーをフィッティングによって求めたところ、非特異的ターゲットによるシグナルを高い予測精度（決定係数R²が0.8程度）で求めることが出来た。実際の測定においても、この予測される寄与をプローブの蛍光強度から差し引くことでより高い精度での測定が可能になると考えられる。

Analysis of non-specific hybridization on microarray by using a physical model

○Chikara FURUSAWA^{1,2}, NAOAKI ONO¹, Tomoharu AGATA¹, Shingo SUZUKI¹, Tetsuya YOMO^{1,2,3}, Hiroshi SHIMIZU¹
(¹Grad. Sch. Info. Sci., Osaka Univ., ²ERAT, JST, ³Grad. Sch. Front. Biosci.)

Key words microarray