

ToxyGATEs (β版) チュートリアルと実習

(独) 産業技術総合研究所 関西センター
2012年12月26日

ToxyGATEs (β版) (<http://targetmine.nibio.go.jp:8080/otgviewer>) はトキシコゲノミクスデータを閲覧、解析するためのオンラインシステムです。トキシコゲノミクスデータとは薬剤をラットや細胞に投与し、その後の遺伝子発現を網羅的に取得したものです。もともとのデータはすでにOpen TG-GATEs(<http://toxico.nibio.go.jp>)で公開されていますが、生データのままなので、オンラインで遺伝子発現データを閲覧することはできません。そこで、データの前処理を行い、web上で解析を行なえるようにしたシステムが、ToxyGATEs (β版)です。

1. データセットの選択

1.1 トキシコゲノミクスのデータの遺伝子発現量は数値で表されますが、絶対値と、コントロール群に対して投与群の遺伝子発現量が何倍になったかを示すLog2ratio値の2種類があります。今回はLog2ratio値を選びます。

1.2 データは実験条件により、大きく6つのデータ・セットにわかれます。今回はラット(Rat), *in vivo*, 肝臓(Liver), 単回投与(Single dose)のデータを選びます。"Select" をクリックします。

The screenshot shows the ToxyGATEs web interface in a browser window. The address bar shows the URL targetmine.nibio.go.jp:8080/otgviewer. The page title is "Toxygates" and the sub-header is "Dataset selection".

There are six dataset selection cards arranged in a 3x2 grid. Each card contains an icon representing the experimental setup, a title, a list of compounds, doses, and sample times, and a "Select" button.

- Top-left card:** "Human, In Vitro". Compounds: N-nitrosomorpholine, rosiglitazone maleate, LPS... (158). Doses: Control, Low, Middle, High. Sample times: 2 hr, 8 hr, 24 hr. A blue box labeled "1.1" highlights the "Value type" dropdown menu, which is set to "Log2 (fold change)".
- Top-right card:** "Rat, In Vitro". Compounds: nefazodone, clozapine, buspirone... (145). Doses: Control, Low, Middle, High. Sample times: 2 hr, 8 hr, 24 hr.
- Middle-left card:** "Rat, In Vivo, Liver, Single dose". Compounds: N-nitrosomorpholine, bortezomib, propranolol (15). Doses: Control, Low, Middle, High. Sample times: 3 hr, 6 hr, 9 hr, 24 hr. A blue box labeled "1.2" highlights the "Select" button.
- Middle-right card:** "Rat, In Vivo, Liver, Repeat dose". Compounds: acetamide, propranolol, 1% cholesterol + 0.25% sodium cholate... (143). Doses: Control, Low, Middle, High. Sample times: 4 day, 8 day, 15 day, 29 day.
- Bottom-left card:** "Rat, In Vivo, Kidney, Single dose". Compounds: desmopressin acetate, amphotericin B, hexachlorobenzene... (41). Doses: Control, Low, Middle, High. Sample times: 3 hr, 6 hr, 9 hr, 24 hr.
- Bottom-right card:** "Rat, In Vivo, Kidney, Repeat dose". Compounds: desmopressin acetate, amphotericin B, cephalothin... (41). Doses: Control, Low, Middle, High. Sample times: 4 day, 8 day, 15 day, 29 day.

2. グループの作成

見たいデータをまとめるためにグループを作ります。今回はacetaminophen, methapyrilene, nitrofurazoneの24時間の高用量群（各化合物の高用量を投与後、24時間の時点での遺伝子発現データ）を選びます。

2.1 左の化合物名一覧から上記3化合物にチェックを入れます。

2.2 右上に現れた化合物の実験条件のHighの24hrにチェックを入れます。

2.3 グループの名前を”GSH dep”と入力して保存します。

2.4 “Next: Select probes”をクリックします。

The screenshot shows the Toxygates web interface. On the left, a list of compounds is displayed with checkboxes. Three compounds are checked: methapyrilene, nitrofurazone, and nitrofurazone. The main area shows a group definition table with columns for Low, Medium, and High dosage groups, and rows for acetaminophen, methapyrilene, and nitrofurazone. The 'High' group for each compound has a checkbox for '24 hr' selected. Below the table, the group name 'GSH dep' is entered, and the 'Next: Select probes' button is highlighted.

Compound	Low	Medium	High
acetaminophen	<input type="checkbox"/> 3 hr <input type="checkbox"/> 6 hr <input type="checkbox"/> 9 hr <input type="checkbox"/> 24 hr <input type="checkbox"/> All	<input type="checkbox"/> 3 hr <input type="checkbox"/> 6 hr <input type="checkbox"/> 9 hr <input type="checkbox"/> 24 hr <input type="checkbox"/> All	<input type="checkbox"/> 3 hr <input type="checkbox"/> 6 hr <input type="checkbox"/> 9 hr <input checked="" type="checkbox"/> 24 hr <input type="checkbox"/> All
methapyrilene	<input type="checkbox"/> 3 hr <input type="checkbox"/> 6 hr <input type="checkbox"/> 9 hr <input type="checkbox"/> 24 hr <input type="checkbox"/> All	<input type="checkbox"/> 3 hr <input type="checkbox"/> 6 hr <input type="checkbox"/> 9 hr <input type="checkbox"/> 24 hr <input type="checkbox"/> All	<input type="checkbox"/> 3 hr <input type="checkbox"/> 6 hr <input type="checkbox"/> 9 hr <input checked="" type="checkbox"/> 24 hr <input type="checkbox"/> All
nitrofurazone	<input type="checkbox"/> 3 hr <input type="checkbox"/> 6 hr <input type="checkbox"/> 9 hr <input type="checkbox"/> 24 hr <input type="checkbox"/> All	<input type="checkbox"/> 3 hr <input type="checkbox"/> 6 hr <input type="checkbox"/> 9 hr <input type="checkbox"/> 24 hr <input type="checkbox"/> All	<input type="checkbox"/> 3 hr <input type="checkbox"/> 6 hr <input type="checkbox"/> 9 hr <input checked="" type="checkbox"/> 24 hr <input type="checkbox"/> All

Group definition: Save group as Group 1 Save Delete

Active: Group: GSH dep Samples: 9

Next: Select probes

3. 解析対象遺伝子を選択

3.1 いくつかの外部データベースを検索して、見たい遺伝子を絞り込むことができます。

3.2 今回はKEGG pathwayを選択し、"glut"と打ち込みリターンキーを押します。

3.3 "glut"のスペルが名前にあるパスウェイが列挙されたので、その中から"Glutathione metabolism"をクリックします。

3.4 "Add selected probes"をクリックします。

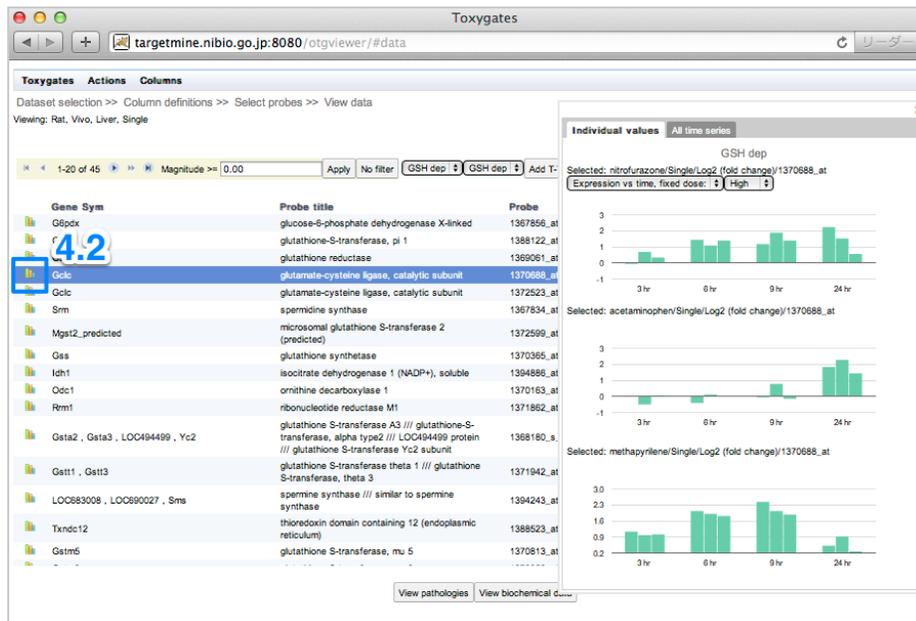
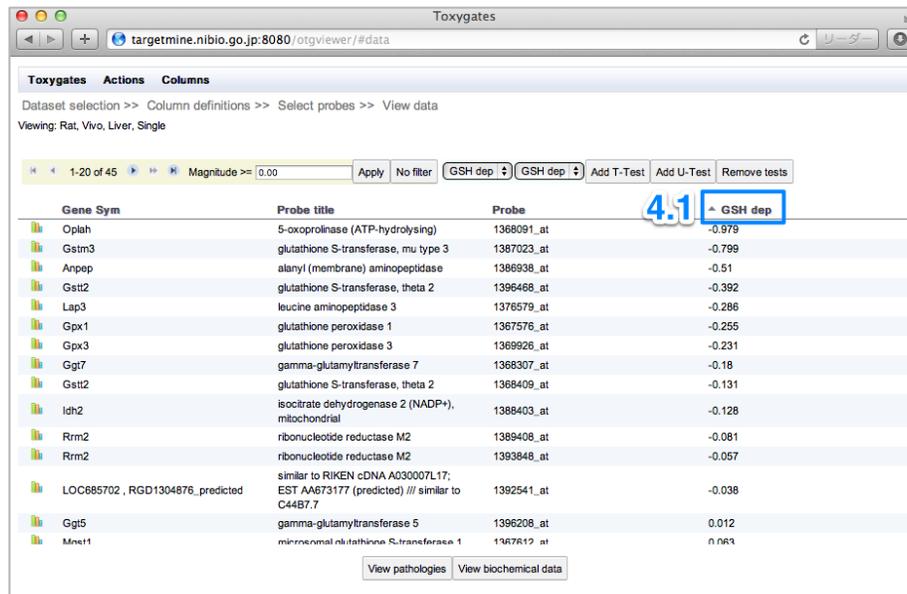
3.5 "Display data with chosen probes"をクリックします。

The screenshot shows the Toxygates web interface. The browser address bar displays "targetmine.nibio.go.jp:8080/otgviewer/#probes". The page content includes a "KEGG pathway search" section with a search box containing "glu". Below the search box, a list of KEGG pathways is shown, with "Glutathione metabolism" highlighted. A blue arrow labeled "3.2" points to the search box, and another blue arrow labeled "3.3" points to the highlighted pathway. Below the list, a button labeled "Add selected probes >>" is highlighted with a blue box and labeled "3.4". To the right, a "Selected probes" section lists various probe IDs such as Gsr (1369061_at), Oplah (1368091_at), Idh1 (1369954_at), Idh1 (1394886_at), Idh2 (1388403_at), Gpx1 (1367576_at), Gpx6 (1388085_at), Gpx2 (1374070_at), Gpx4 (1386871_at), Gpx4 (1391529_at), Gpx3 (1369926_at), Ggt1 (1368374_a_at), Ggt7 (1368307_at), Ggt5 (1387729_at), Ggt5 (1396208_at), Gss (1370365_at), Odc1 (1370163_at), Gclc (1370688_at), Gclc (1372523_at), and Lap3 (1376579_at). Below the "KEGG pathway search" section, there are buttons for "GO term search", "ChEMBL targets", "DrugBank targets", and "Free search". A blue arrow labeled "3.5" points to the "Display data with chosen probes" button, which is highlighted with a blue box.

4. 遺伝子の発現変動を観察

4.1 選択した遺伝子とその発現値が表示されました。発現値順に並び替えるために”GSH dep”をクリックします。

4.2 左端カラムのグラフアイコンをクリックすることで、選択した遺伝子の発現変動が表示されます。



5. 演習

5.1 別グループをもう一つ作りましょう。観察する時点は**24hr**を選択してください。

5.2 2つのグループを作成し、**"Add T-test"** ボタンをクリックすることで、t検定を行うことができます。グループ間で最も発現差の大きい遺伝子は何だったでしょうか。

ヒント: 化合物として, erythromycin ethylsuccinate, gentamicin, glibenclamide を選んでみましょう。