

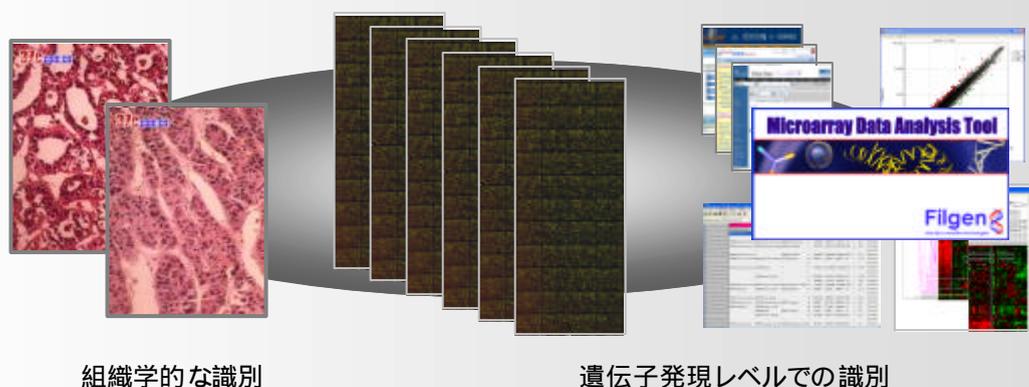
## MicroArrayDataAnlysisTool を用いた解析例

### 解析例1

FilgenArrayHuman35kを使用した

組織学的に分類された異なる肝癌ステージの遺伝子発現 プロファイル解析

1. 組織学的に分類した肝癌の遺伝子発現レベルでの相関
2. 肝癌の進行レベルと特異的遺伝子群の抽出



### 実験概要

組織学的に分類した肝癌初期、末期の異なるステージにおける生検体をTestサンプル、正常な肝臓組織をControlとして2色ハブリダーゼーションにて計6実験を行いました。アレイはFilgenArrayHuman35kを使用。GenePixでスキャン後、ArrayProAnalyzerにて数値化、データの補正を行いました。データの補正はlowess法を使用しました。これらのデータを用い、MicroArrayDataAnlysisToolで解析を行いました。

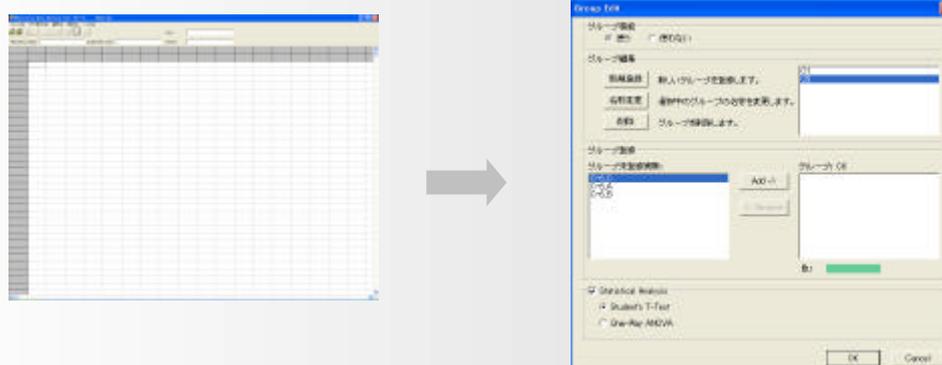
|          | Test cy3 | Control cy5        |
|----------|----------|--------------------|
| C1<br>初期 | C-1 A    | Human Normal Liver |
|          | C-1 B    |                    |
|          | C-1 C    |                    |
| C6<br>末期 | C-6 A    |                    |
|          | C-6 B    |                    |
|          | C-6 C    |                    |

\* MicroArrayDataAnlysisTool内には各ユーザ様の実験データが入力されていますので後述する操作においてもデータを選択するのみで簡単にご使用いただけます。

## 解析フローチャート

### 1. データ読み込み

比較する実験データ群を「Microarray Data Analysis Tool」の複数比較モードより読み込みます。ここではC1,C6 の異なる2つのステージより各3実験、計6実験分のデータを読み込みます。その後、Group Editにて実験データを2つのグループに分けます。次に画面に表示するフィールドを選択します。ここでは、Normalization intensity (mean)の{test}、{control}、{ratio} を選択しました。



### 2.品質確認工程

発現変動が小さい遺伝子群を排除

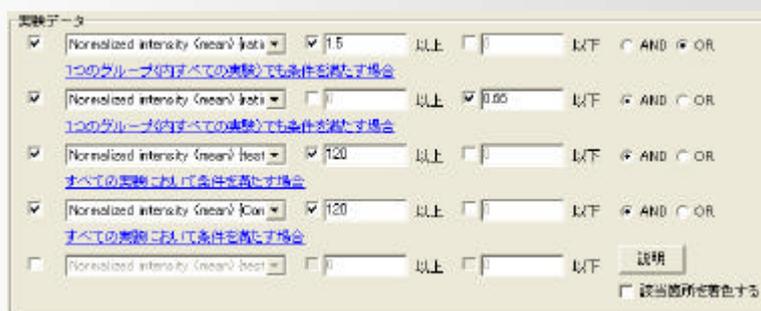
C1,C6 の2つグループ内で共に0.66以上1.5倍以下のデータは発現変動が小さい遺伝子として解析対象から省き、1つのグループでも0.66以下、1.5倍以上の発現変動があるデータは解析対象としました。

(遺伝子数2298個 3408個)

信頼性の低いノイズレベルのデータを除去

ここではすべてのアレイについてノーマライズ後のシグナル値が Background (mean) [control]の平均値の2倍以下のデータを除くことにします。

(遺伝子数3408個 550個)

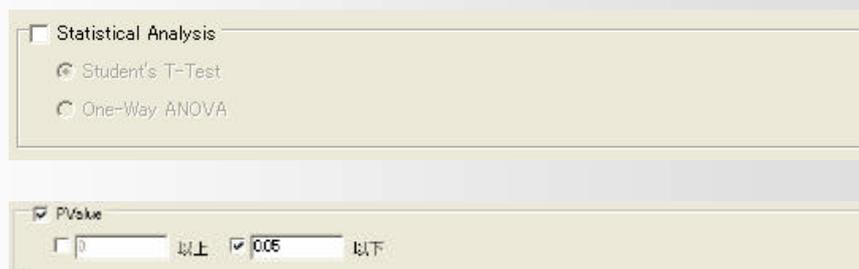


- \* 複数比較データ解析の検索条件で「1つのグループ (内すべての実験)でも条件を満たす場合」を選択すると、複数グループ内で、1グループでもグループ内すべての実験で条件を満たすデータがあれば抽出を行います。  
今回の解析ではC1・C6グループのうち、どちらか片方でもすべての実験が1.5倍に増減している遺伝子に対して抽出を行います。

### 3.統計解析 (検定による有意差検定)

品質確認工程を通過した遺伝子群に対して有意差検定を行います。今回は2グループですので検定を実施し、発現の差が有意 ( $p < 0.05$ )である遺伝子群を抽出します。

(遺伝子数550個 118個)



### 4.統計解析 (階層クラスタリング)

$p$ 値  $< 0.05$ の遺伝子群に対して遺伝子間および実験間における階層クラスタリングを行います。読み込み用の専用フォーマットファイルは「Microarray Data Analysis Tool」で簡単に出力させることができます。出力したテキストファイルをClusterソフトに読み込ませます。そしてHierarchical Clusteringパネルを選択しAverage Linkage Clusteringボタンを押し、クラスタリングを実行します。

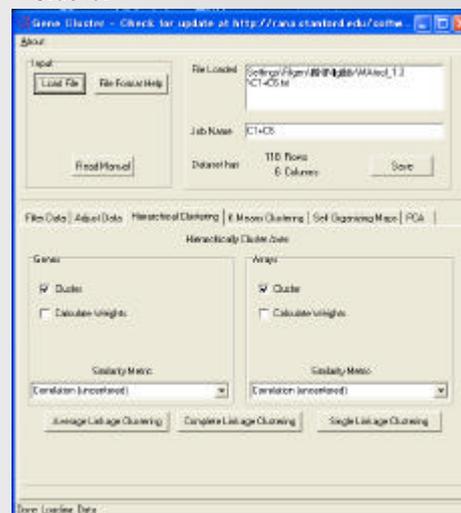
#### ソフトウェアのダウンロード



#### TreeView



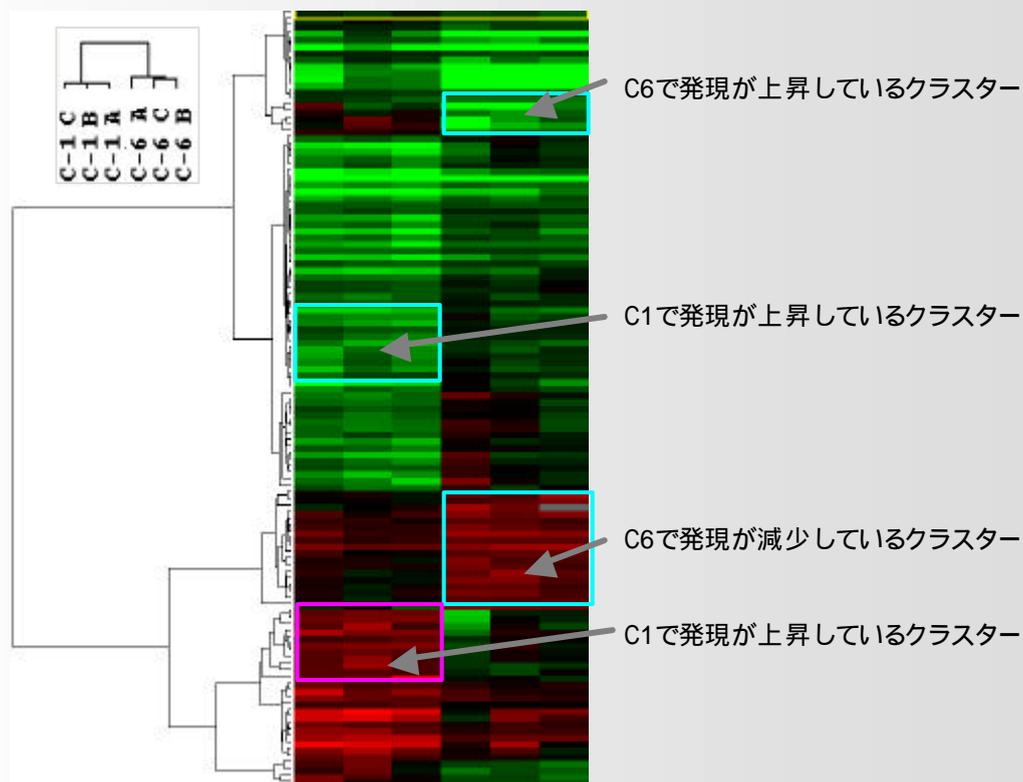
#### Cluster



\* 使用方法の詳細や各種クラスタリングの説明については「Cluster and TreeView」のマニュアルをご参照ください。 <http://rana.lbl.gov/EisenSoftware.htm>

## 5.統計解析 (階層クラスタリング)

Clusterソフトによって作成されたCDTファイルをTreeViewソフトに読み込ませます。これによってクラスタリングの結果を表示させることができます。



## 結果

2群間の発現量に有意な差がある遺伝子のみを選択し、クラスタ解析を行いました。実験クラスターではC1、C6の各データがグループ別に2つに分類され、組織学レベルの分類と遺伝子レベルの分類において高い相関を有していることが分かりました。また、遺伝子クラスターにおいてもC1、C6それぞれにおいて特徴的なクラスターを抽出することができました。抽出したクラスターに属する遺伝子の機能分類を行うことで、どのような機能を持つ遺伝子が同じ挙動をしめしたかを解析し、さらには機能未知な遺伝子に対する機能推定なども行うことが可能となります。