

Microarray Data Analysis Tool データ解析の進め方 Vol.2

— 1比較解析 —

ここからは、ソフトウェアの使用方法と実際の解析例を合わせて説明します。

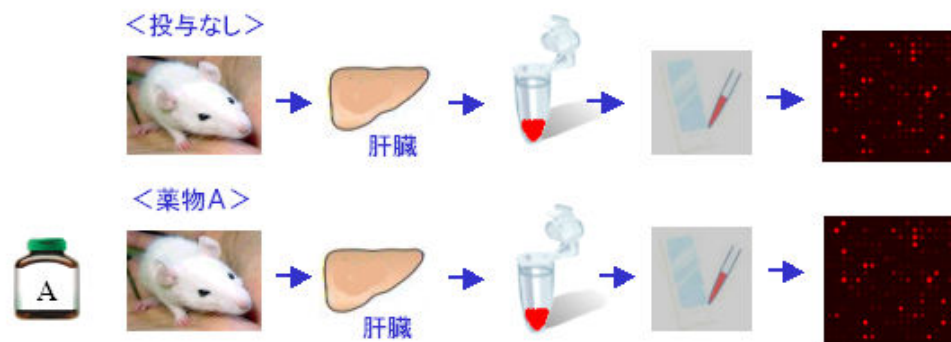
ここでは

「薬物投与マウスにおける発現変動遺伝子群の抽出と機能解析」をテーマに、

薬物を投与したマウスをテストサンプル、投与していないマウスをコントロールサンプルとして、両サンプルの遺伝子発現プロファイルをマイクロアレイ実験で比較します。その後、比較データの中から、薬物投与マウスのみで高発現、または低発現している遺伝子を絞り込み、これらの遺伝子がどのような機能をもっているのか調べます。この結果、この薬物が生体に対してどのような作用をするのか考察することができます。

<実験概要>

サンプル調整 → 組織の抽出 → 蛍光ラベル → ハイブリ → スキャニング



上記のテーマについて解析を行うには、具体的に下記のようなステップで解析を進める必要があります。

- ①薬剤投与によって発現が変動する(2倍Up、Downなど)遺伝子群の抽出
- ②発現変動遺伝子群について、生物学的機能の検索
- ③発現変動遺伝子群について、関連するパスウェイの検索

まず①の工程では、2倍以上の変動を有意な差として、薬物投与マウスで発現が増加または減少している遺伝子を抽出します。さらに、ノイズ的なシグナルの除去も忘れてはいけません。

次に②、③の工程で、①で抽出した遺伝子がどのような機能またはパスウェイと関連があるかを調べます。現在までの研究で、生体内での機能や他の分子との相互作用が明らかになっている遺伝子には、それぞれ機能情報およびパスウェイ(分子間相互作用)情報が、アノテーションとして付けられます。そこで、発現変動遺伝子がどのような機能やパスウェイと関連付けられているかを調べれば、薬物投与によってどのような生物学的作用が起こっているのかを推測することができます。

それでは、ソフトウェアを立ち上げて進めていきましょう！

1. ソフトウェアの起動と実験データの読み込み

1-1. ソフトウェアの準備

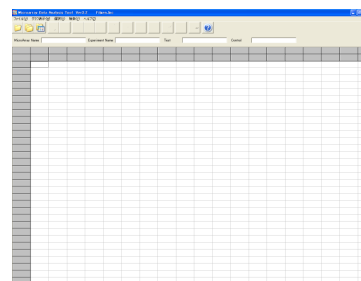
CDに入っている「Microarray Data Analysis Tool」のフォルダを、自分のコンピュータにコピーしてください。

1-2. ソフトウェアの起動


コピーしたフォルダを開き、「MAtool.exe」のアイコンをダブルクリックしてください。右図のタイトル画面が表示され、ソフトウェアが起動します。

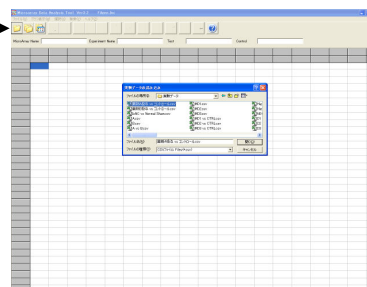


ソフトウェアが起動後は右図のメイン画面が表示されます。



1-3. 実験データ読み込み

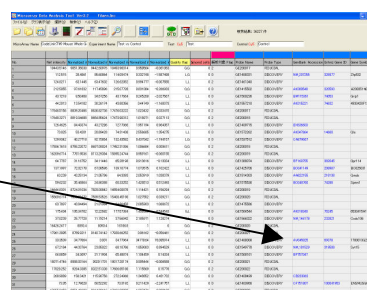
1比較データ解析アイコンをクリックし、「実験データ」フォルダを選択し、フォルダ内から希望の実験データファイル(○○ vs ○○.csv)を読み込ませてください。



実験データファイルを読み込み後、右図のようなデータが表示された画面が現れます。


左の側が実験数値データで、各プローブに該当するアノテーション情報が右側に表示されます。青の文字はダブルクリックすると該当データベースへハイパーリンクします。

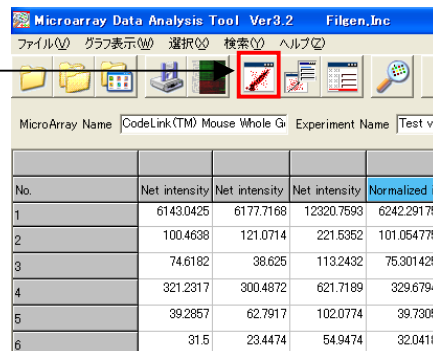
なお、ここで表示されているデータはExcelで作成された解析データと同じデータとなります。



2. スキャッタープロットの作成


2-1. スキャッタープロットの表示

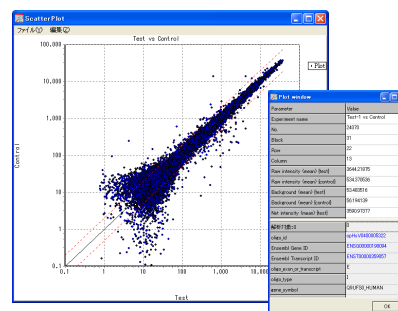
メイン画面のScatterPlot表示アイコンをクリックしてください。あとは、自動でグラフが表示されます。



No.	Net intensity	Net intensity	Net intensity	Normalized ir
1	6143.0425	6177.7168	12320.7593	6242.29175
2	100.4638	121.0714	221.5352	101.054775
3	74.6182	38.625	113.2432	75.301425
4	321.2317	300.4872	621.7189	329.6794
5	39.2857	62.7917	102.0774	39.7305
6	31.5	23.4474	54.9474	32.0418

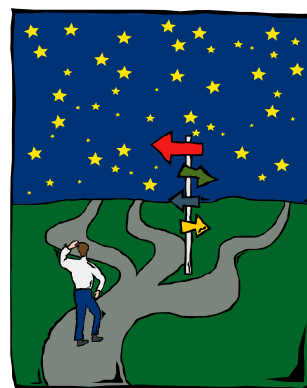
スキャッタープロットの上の個別のプロットをクリックするとプロットの色が青から赤に変わります。また、メイン画面上の対応するプロンプ(行)が青色で選択され、行の先頭にスクロール表示されます。

さらに、メイン画面のPlotwindowアイコンをクリックすると、スキャッタープロットの各プロットの個別のデータを表示するPlotwindow画面が現れます。




上記までのステップでスキャッタープロットを表示させ、比較サンプル間における遺伝子発現の全体像を見ることができました。スキャッタープロットが中心ライン付近に収束していれば、比較サンプル間の発現差は小さいと解釈が出来ます。ばらつきの幅が広がればサンプル間における発現差が大きいと解釈できます。

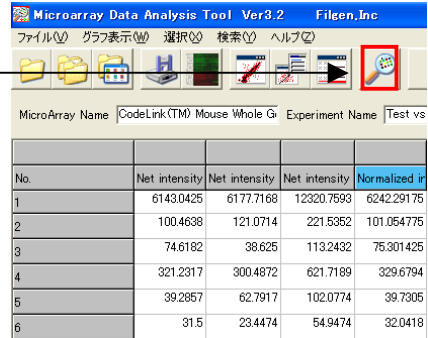
次は、変動遺伝子の抽出となります。



3. 発現変動遺伝子の抽出

3-1. Filter Options検索画面の表示

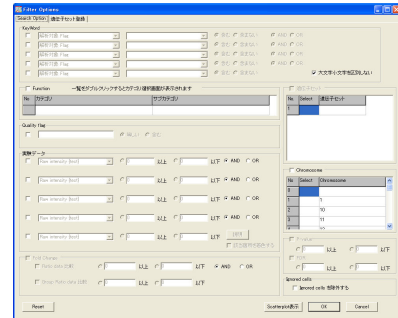
メイン画面のFilter Optionsアイコンをクリックし、Filter Options検索画面を開きます。



No.	Net intensity	Net intensity	Net intensity	Normalized ir
1	6143.0425	6177.7168	12320.7593	6242.29175
2	100.4638	121.0714	221.5352	101.054775
3	74.6182	38.625	113.2432	75.301425
4	321.2317	300.4872	621.7189	329.6794
5	39.2857	62.7917	102.0774	39.7305
6	31.5	23.4474	54.9474	32.0418

Filter Options検索画面では各種検索条件でデータの抽出を行うことができます。

keyword
実験データ
染色体番号
遺伝子セット



3-2. 検索条件を設定

ここでは下記を目的を達するための条件設定を行います。

- ①コントロール遺伝子などを除去し、解析対象遺伝子のみにする。
- ②スポット上にごみ等があり、シグナルに影響するデータを除外する。
- ③発現差のあるデータを抽出する。
- ④ノイズレベルの信頼性の低いデータを除外する。(CutOff)

条件設定の方法

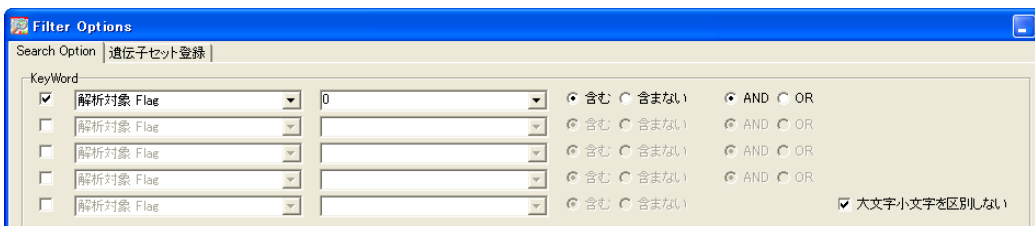
①コントロール遺伝子などを除去し、解析対象遺伝子のみにする。

ここでは、keyword検索を使用します。事前にアレイに搭載されているプローブは「0、2」という数字で識別をしています。

「0」は解析対象遺伝子

「2」は解析対象外遺伝子(Negative Control,Blank Spot,マーカーコントロールなど)

まずは、左のチェックボックスをクリックし、該当項目で「解析対象 Flag」と、「0」を選択してください。これで、解析対象遺伝子のみを抽出する条件設定ができました。



Filter Options
Search Option | 遺伝子セット登録 |

Keyword

<input checked="" type="checkbox"/>	解析対象 Flag	0	<input checked="" type="radio"/> 含む <input type="radio"/> 含まない	<input type="radio"/> AND <input type="radio"/> OR
<input type="checkbox"/>	解析対象 Flag		<input type="radio"/> 含む <input type="radio"/> 含まない	<input type="radio"/> AND <input type="radio"/> OR
<input type="checkbox"/>	解析対象 Flag		<input type="radio"/> 含む <input type="radio"/> 含まない	<input type="radio"/> AND <input type="radio"/> OR
<input type="checkbox"/>	解析対象 Flag		<input type="radio"/> 含む <input type="radio"/> 含まない	<input type="radio"/> AND <input type="radio"/> OR
<input type="checkbox"/>	解析対象 Flag		<input type="radio"/> 含む <input type="radio"/> 含まない	<input type="radio"/> AND <input type="radio"/> OR

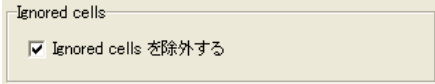
大文字小文字を区別しない

②スポット上にごみ等があり、シグナルに影響するデータを除外する。

ここでは、Ignore cellの設定を使用します。

事前にアレイに搭載されているデータの中でごみなどの影響を受け、正確なシグナルを算出できていない

可能性があるデータはメイン画面で表示されているIgnored cellsの項目が「1」になっています。上図、チェックボックスをクリックすることで、Ignored cellsを除外することが出来ます。



③発現差のあるデータを抽出する。

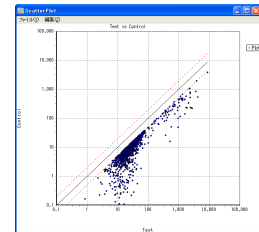
ここでは、実験データ検索を使用します。実験の内容や結果によっても変わってきますが、ここではintensityの差が2倍以上あるデータを発現差のあるデータとして抽出します。

コントロールに対して2倍以上のUp変動データを抽出する場合

左のチェックボックスをクリックし、項目「Normalized intensity {ratio}」で「2」以上を設定をします。

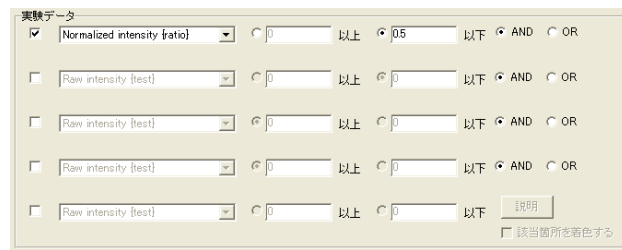


スクリーンショットは下図のようになります。

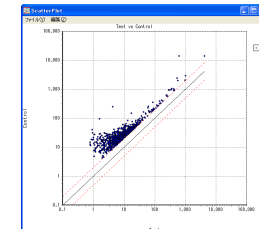


コントロールに対して2倍以上のDown変動データを抽出する場合

左のチェックボックスをクリックし、項目「Normalized intensity {ratio}」で「0.5」以下を設定をします。



スクリーンショットは下図のようになります。

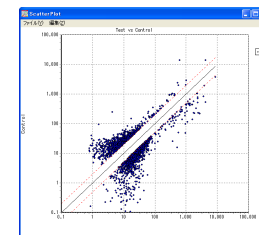


コントロールに対して2倍以上のUpとDown変動データを一度に抽出する場合

左のチェックボックスをクリックし、項目「Normalized intensity {ratio}」で「2」以上を設定をします。同様に、項目「Normalized intensity {ratio}」で「0.5」以下を設定をします。この時、AND ORの選択でORを選択します。



スクリーンショットは下図のようになります。



④ノイズレベルの信頼性の低いデータを除外する。(CutOff)

CutOffを行うには、1. Quality flagを用いる場合 2. Intensityを用いる場合の、2通りの方法があります。弊社では「CodeLink™ Bioarray」のように、1プローブ1スポットのマイクロアレイの解析を行う場合はQuality flagを、「miRCURY LNA™ microRNA Array」のように、1プローブが複数スポット搭載されており、それら複数スポットをまとめた「Summarized data」の解析を行う場合はIntensityを用いて、CutOffを行うことを推奨しています。ここでは両方の解析手順を紹介します。

④-1 Quality flagを用いてCutOffを行う。

Quality flagの検索においては、Filter OptionsのQuality flag検索を使用します。また、ここでは「CodeLink™ Bioarray」を例に解析を行いますが、その他のマイクロアレイでも手順は同じです。ただしQuality flagの値が、マイクロアレイの種類によって違うこともあるので、納品Excelファイルで、ご使用のマイクロアレイのQuality flagの値を確認してください。


「CodeLink™ Bioarray」におけるQuality flagの値は、以下のようになっています。

G : 転写産物の蛍光強度が強いスポット

L : 転写産物の蛍光強度がノイズレベルのスポット

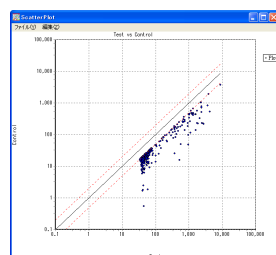
その他：形状異常、蛍光強度の飽和、コンタミネーション、汚染などによる解析除外スポット

例1. テストサンプルまたはコントロールサンプルのうち、少なくともどちらかの実験データでQuality flagが「G」の場合。

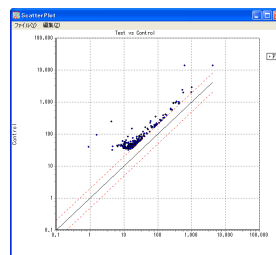


弊社受託解析サービスの実験データでは、テストサンプルとコントロールサンプルのQuality flagが、カンマ区切りで繋がって入力されています。そのため、「Gを含む」という条件で検索を行えば、少なくともどちらかのサンプルでは、Quality flagが「G」となっているデータを抽出できます。

上記のようにCutOffを設定し、さらに③の発現変動遺伝子抽出の設定を同時に行うことで、発現変動を示し、なおかつノイズレベルのデータを除去した遺伝子のみを抽出することができます。③でUp、Downそれぞれの設定を行った場合のスカッタープロットを以下に示します。



2倍以上のUp変動

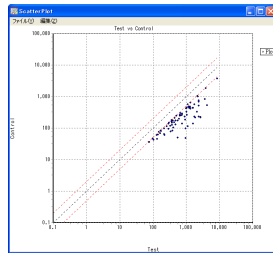


2倍以上のDown変動

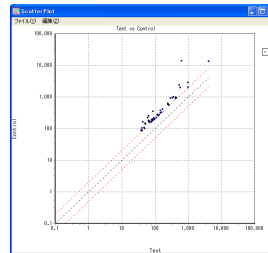
例2. テストサンプルとコントロールサンプル両方の実験データで、Quality flagが「G」の場合。

「G,Gと等しい」という条件で検索を行えば、両方のサンプルでQuality flagが「G」となっているデータを抽出できます。

上記のようにCutOffを設定し、さらに③の発現変動遺伝子抽出の設定を同時に行うことで、発現変動を示し、なおかつノイズレベルのデータを除去した遺伝子のみを抽出することができます。③でUp、Downそれぞれの設定を行った場合のスカッタープロットを以下に示します。



2倍以上のUp変動



2倍以上のDown変動

テストサンプル、コントロールサンプルの両方で、Quality flagが「G」のデータのみを解析に使用すれば、データの信頼性は上がりますが、場合によっては条件が厳しすぎて、抽出される遺伝子が少なくなってしまうことがあります。例1と2を参考に、必要に応じて抽出条件の変更を行ってください。

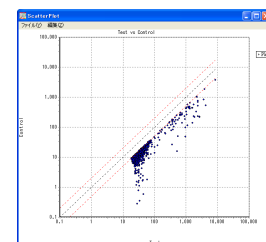
④-2 intensityを用いてCutOffを行う。

複数スポットのデータをまとめた「Summarized data」では、複数スポットのQuality flagの値がまとめられているので、intensityデータを使用してCutOffを行います。一般的にはネガティブコントロールプローブのintensityの平均値をCutOff値とし、この値を入力して、実験データ検索を実行します。

CutOff値は、本ソフトウェアの「Summarization」機能を使用して、計算することも可能ですが、「Summarized data」では納品Excelファイルに、予め計算した値が記載されていますので、その値をそのまま使用することができます。

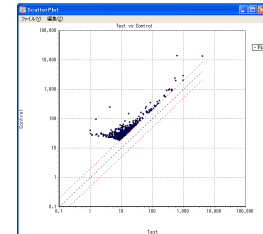
例1. Normalized intensity {sum}のネガティブコントロールの平均値が「27」で、2倍以上のUp変動を示すデータを抽出する場合

スカッタープロットは下図のようになります。



例2. Normalized intensity [sum]のネガティブコントロールの平均値が「27」で、2倍以上のDown変動を示すデータを抽出する場合

スクアッタープロットは下図のようになります。



以上で条件設定は終わりです。最後にFilter Options検索画面右下の「OK」ボタンをクリックするとデータの検索が実行され、下図のようにメイン画面にデータが表示されます。

④-1例1のUp変動遺伝子抽出の設定で検索を行った結果、マイクロアレイ上の全遺伝子数:36227個 → 検索後の遺伝子数:294個まで絞り込みました。この294個の遺伝子は、薬物投与によって発現が誘導され、この薬物の作用を規定するうえで重要な遺伝子だと考えることが出来ます。

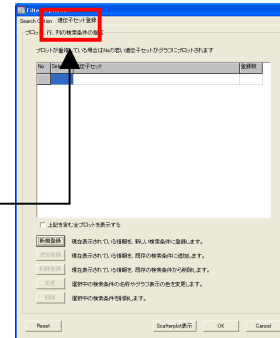
- ・変動遺伝子の数が多い場合は、Normalized intensity (mean) [ratio]やQuality Flagの設定条件を上げるか、または蛍光強度の絶対値 (Normalized intensity (mean) [test]) を使用し、新たに設定を行ってください。
- ・ここでは、「Normalized intensity (mean) [ratio]を使用しましたが、「Normalized intensity(mean) [log2ratio]でも同様の検索ができます。設定条件についてはLog2の値で行います。

表示されたデータは遺伝子セットで保存したり、CSV形式で出力させることができ、エクセルでの編集ができます。保存 アイコンをクリックし、保存先とファイル名を指定してください。メイン画面上で表示されている情報がそのまま保存されます。また、その後の機能解析やデータをまとめる上でも変動データの保存はUpとDownを別々に抽出し、それぞれを保存あるいは遺伝セットで登録することをお勧めします。

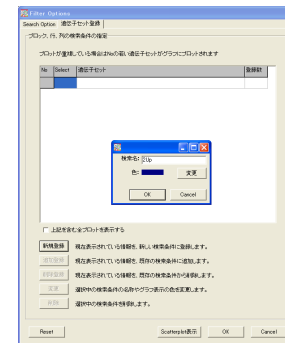
ここでは、Filter Optionsなどにより抽出されたデータ群を遺伝子セットとして登録する方法を説明します。一度登録すれば、後日同じデータを簡単に選択することができます。また、同じ規格のアレイであれば、別の実験データにおいて登録した遺伝子セットの結果も抽出できます。

4. 遺伝子セットの登録方法

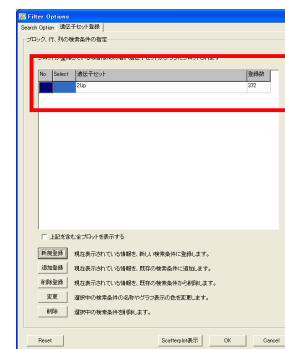
①ここでは、先と同様に2倍のUp変動したデータを抽出します。抽出結果がメイン画面に表示されたのを確認後、Filter Options検索画面において遺伝子セット登録を選択します。



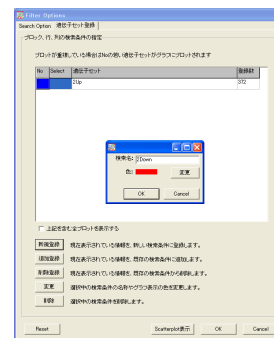
②次に、新規登録のボタンを押します。入力画面が表示されますので、検索名に名前を入力します。ここでは「2Up」と入力します。また、変更ボタンを押すと、色の変更ができます。ここでの色は、登録した遺伝子セットのプロット色となります。ここでは「青」にします。最後にOKをクリックします。



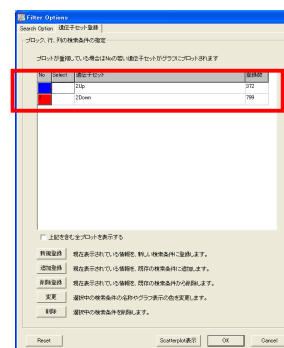
③登録後は右図のように登録情報が表示されます。



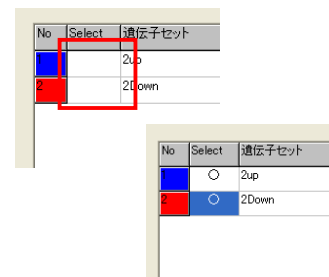
④ 次にFilter Options検索画面に戻り今度は2倍のDown変動の条件設定で抽出を行います。抽出結果がメイン画面に表示されたのを確認後、先と同様に遺伝子セット登録を選択します。ここでは「2Down」と入力します。また、色の登録は「赤」にします。最後にOKボタンをクリックします。



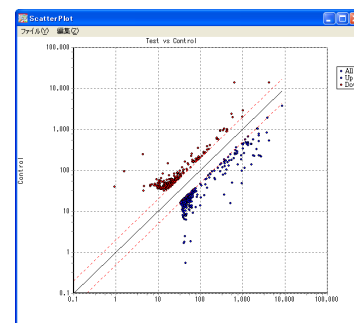
⑤ 登録後は右図のように登録情報が追加されます。



⑥ [select]の列の空欄をダブルクリックすると、○が表示されます。この状態で、今、2つの遺伝子セットが選択されたこととなります。ここで、OKボタンをクリックすると、2つの遺伝子セットのみのデータがメイン画面に表示されます。



⑦⑥の状態ですキャッタープロットを表示させると右図のように、先ほど設定した色で表示させることができます。



5. 抽出した遺伝子の機能解析

絞り込んだデータについて、どのような機能をもった遺伝子があるのかを調べるために Gene Ontology解析を行います。

① Filter Optionsでデータの絞り込みを行います。

ここでは下記の条件設定を行います。

・解析対象遺伝子のみにする。

・Ignore cellsを除外する。

・発現差のあるデータ(2倍以上)を抽出する。

・ノイズレベルの信頼性の低いデータを除外する。
(テストサンプルまたはコントロールサンプルのうち、少なくともどちらかでQuality flagが「G」)



以上で、条件設定は終わりです。最後に Filter Options検索画面右下の「OK」ボタンをクリックするとデータの抽出が実行され、右図のようにメイン画面にデータが表示されます。ここでは294件抽出されました。

② GO解析アイコン をクリックし、データベース選択ウインドウを開きます。ここで解析に Gene Ontologyを使用するか、GO Slimを使用するかの選択ができます。GO Slimは、Gene Ontologyの中から重要な生物学的機能のみを抽出したものであり、計算時間が短く、結果が簡潔で分かりやすいという特徴があります。本解析ではGene Ontologyを使用するので、そちらをクリックしてください。

③ 次にデータの出力形式を選択します。ここで選択できる項目は、以下の機能をもっています。

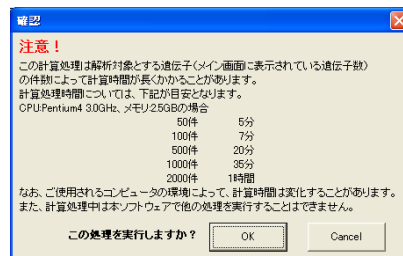
- ・Gene Ontology Browser・・・全てのGOカテゴリーを階層構造で表示させます。
- ・GO Term List統計学的に有意なGOカテゴリーのみを、有意な順にリスト形式で表示させます。
- ・TotalGene保存.....マイクロアレイ上の全遺伝子についての、全GOカテゴリー該当遺伝子数を記録したファイルを作成します。ここで作成したファイルは納品の時点ですでに作成・添付されているので、この機能は実行する必要がありません。

Gene Ontology Browser

本機能は全てのGOカテゴリーを階層構造で表示し、同時に該当遺伝子数や統計学的有意確率も表示します。この階層構造は生物学的機能を抽象度によって分類したものであり、階層を下にたどっていくごとに、より具体的なGOカテゴリーが出現します。この性質を利用して、自分の興味ある機能について上位階層から見ていき、下位のより細かいGOカテゴリーについて有意なものを調べることができます。

まず、Gene Ontology解析ウィンドウで「Gene Ontology Browser」のアイコンをクリックします。右図のような警告画面が表示されますので、計算処理時間について、確認の上OKボタンをクリックしてください。

その後計算が始まります。計算が終了すると以下のような画面が表示されます。



Term	Changed Genes	Total Genes	Z score	P-value
molecular_function	157(0)	13724(0)	0	1
cellular_component	169(0)	14397(0)	0	1
biological_process	149(0)	13117(0)	0	1

No.	Select	Block	Row	Column	Raw
6332	<input checked="" type="radio"/>		9	4	14 175E
19358	<input type="radio"/>		25	25	14 732
19518	<input type="radio"/>		26	1	18 1134
19696	<input type="radio"/>		26	8	14 391E
20146	<input type="radio"/>		26	25	22 78E

Gene Ontology Browser初期画面

Gene Ontology Browserでは最初は3つのGOカテゴリーしか表示されません。しかし各カテゴリー名の前にある「+」をクリックしていくたびに、下位のGOカテゴリーが表示されていきます。それでは例として「molecular function」の下位に属する「catalytic activity」というカテゴリーについて調べてみましょう。「molecular function」の前の「+」をクリックすると以下のような画面が表示されます。

Term	Changed Genes	Total Genes	Z score	P-value
molecular_function	157(0)	13724(0)	0	1
antioxidant activity	0(0)	19(12)	0	1
auxiliary transport protein ac...	0(0)	23(0)	0	1
catalytic activity	76(5)	5360(711)	1.882	0.02102
chemoperone regulator activity	0(0)	7(0)	0	1
chemoattractant activity	0(0)	3(3)	0	1
chemorepellent activity	0(0)	3(3)	0	1
enzyme regulator activity	12(0)	680(6)	1.522	0.1361
metallochaperone activity	0(0)	2(0)	0	1
molecular transducer activity	30(0)	2966(0)	-0.678	0.49638
motor activity	3(3)	150(81)	0.986	0.25002
nutrient reservoir activity	0(0)	72(72)	0	1
obsolete molecular function	0(0)	112(0)	0	1
protein tag	0(0)	1(1)	0	1
structural molecule activity	6(5)	527(389)	-0.012	1
transcription regulator activity	5(1)	543(240)	-0.489	0.83587
translation regulator activity	0(0)	15(4)	0	1
transporter activity	10(0)	1019(0)	-0.488	0.75897
cellular_component	169(0)	14397(0)	0	1
biological_process	149(0)	13117(0)	0	1

No.	Select	Block	Row	Column	Raw
6332	<input checked="" type="radio"/>		9	4	14 175E
19358	<input type="radio"/>		25	25	14 732
19518	<input type="radio"/>		26	1	18 1134
19696	<input type="radio"/>		26	8	14 391E
20146	<input type="radio"/>		26	25	22 78E
23670	<input type="radio"/>		31	11	10 6
26662	<input type="radio"/>		35	6	12
27373	<input type="radio"/>		36	3	21
27655	<input type="radio"/>		36	14	17 12
28017	<input type="radio"/>		36	28	15 4
28041	<input type="radio"/>		36	29	13

molecular function階層画面

ここで「catalytic activity」の項目(赤線で囲んだ領域)を見てみると、Z-scoreが0より大きく、なおかつP-valueが0.05以下となっており、このGOカテゴリーが統計学的に有意だということを示しています。ここでいう統計学的有意差とは、発現が変動したものを抽出したデータと、マイクロアレイ上の全データという2つのグループの遺伝子に対して、各GOカテゴリーの該当遺伝子数を数え、その数に偏りがあるかを検定したものです。つまりこの検定で有意差があれば、発現が変動した遺伝子群において有意に機能するGOカテゴリーとして解釈ができます。

さらに「catalytic activity」より下の階層を見てみますと、様々な触媒活性についてのGOカテゴリーがあることが分かります。

+	catalysis of free radical formation	0(0)	0(0)	0	1
+	cyclase activity	1(0)	25(0)	1.343	0.25622
+	deaminase activity	1(0)	19(5)	1.688	0.2036
+	demethylase activity	0(0)	5(0)	0	1
+	glycogen debranching enzyme activity	0(0)	1(0)	0	1
+	glyoxalase III activity	0(0)	0(0)	0	1
+	helicase activity	4(4)	133(121)	2.021	0.06997
+	hydrolase activity	37(18)	2273(900)	2.167	0.02333
+	isomerase activity	1(1)	179(105)	-0.736	0.72615
+	ligase activity	7(6)	339(246)	1.594	0.11661
+	lipic acid synthase activity	0(0)	1(1)	0	1
+	lyase activity	4(2)	164(92)	1.559	0.12309
+	Mo-molybdopterin cofactor sulfurase activity	0(0)	1(1)	0	1
+	Mo-molybdopterin synthase activity	0(0)	0(0)	0	1
+	N-acetylneuraminic acid phosphate synthase activity	0(0)	1(1)	0	1
+	N-ethylmaleimide chlorohydrolase activity	0(0)	0(0)	0	1
+	oxidoreductase activity	13(6)	922(567)	0.759	0.42166
+	peptidoglycan synthetase activity	0(0)	0(0)	0	1
+	phytoene synthase activity	0(0)	0(0)	0	1
+	polyketide synthase activity	0(0)	0(0)	0	1

catalytic activityの下位階層画面

様々な分子間結合についてのGOカテゴリーがありますが、そのなかでも特にP-valueが小さいものに「hydrolase activity」(赤線で囲んだ領域)があります。「catalytic activity」のみの方がP-valueは小さいのですが、こちらの方が機能としてより具体的で分かりやすくなっています。各GOカテゴリーは「+」が付いている場合、より下位の階層が存在するという事なので、もちろんこの「hydrolase activity」にも下位階層が存在します。

Term	Changed Genes	Total Genes	Z score	P-value	
+	molecular_function	157(0)	13724(0)	0	1
+	antioxidant activity	0(0)	19(12)	0	1
+	auxiliary transport protein activity	0(0)	23(0)	0	1
+	binding	110(7)	9855(442)	-0.258	0.6557
+	catalytic activity	76(5)	5360(711)	1.882	0.02102
+	catalysis of free radical formation	0(0)	0(0)	0	1
+	cyclase activity	1(0)	25(0)	1.343	0.25622
+	deaminase activity	1(0)	19(5)	1.688	0.2036
+	demethylase activity	0(0)	5(0)	0	1
+	glycogen debranching enzyme activity	0(0)	1(0)	0	1
+	glyoxalase III activity	0(0)	0(0)	0	1
+	helicase activity	4(4)	133(121)	2.021	0.06997
+	hydrolase activity	37(18)	2273(900)	2.167	0.02333
+	-beta-alanyl-dopamine hydrolase activity	0(0)	0(0)	0	1
+	-beta-alanyl-histamine hydrolase activity	0(0)	0(0)	0	1
+	deacetylase activity	0(0)	15(1)	0	1
+	DNA demethylase activity	0(0)	1(1)	0	1
+	GPI-anchor transamidase activity	0(0)	4(4)	0	1
+	hydrolase activity%, acting on acid anhydrides	11(0)	701(0)	1.058	0.27258
+	hydrolase activity%, acting on acid carbon-carbon bonds	0(0)	2(0)	0	1
+	hydrolase activity%, acting on acid carbon-phosphorus bo...	0(0)	0(0)	0	1
+	hydrolase activity%, acting on acid halide bonds	0(0)	0(0)	0	1
+	hydrolase activity%, acting on acid phosphorus-nitrogen b...	0(0)	0(0)	0	1
+	hydrolase activity%, acting on acid sulfur-nitrogen bonds	0(0)	0(0)	0	1
+	hydrolase activity%, acting on acid sulfur-sulfur bonds	0(0)	0(0)	0	1
+	hydrolase activity%, acting on carbon-nitrogen (but not p...	2(0)	107(16)	0.705	0.35
+	hydrolase activity%, acting on carbon-sulfur bonds	0(0)	0(0)	0	1
+	hydrolase activity%, acting on ester bonds	15(2)	521(18)	3.723	0.00111
+	hydrolase activity%, acting on ether bonds	0(0)	0(0)	0	1
+	hydrolase activity%, acting on glycosyl bonds	0(0)	121(48)	0	1
+	peptidase activity	8(2)	657(244)	0.178	0.84973
+	serine hydrolase activity	0(0)	237(0)	0	1
+	integrase activity	0(0)	5(5)	0	1
+	isomerase activity	1(1)	179(105)	-0.736	0.72615

hydrolase activityの下位階層画面

「hydrolase activity」の下位に属するGOカテゴリーのなかで、Z-scoreが0より大きく、なおかつP-valueが0.05以下のものは「hydrolase activity, acting on ester bonds」(赤線で囲んだ領域)のみでした。また、ここでGOカテゴリー名をダブルクリックすると、このGOカテゴリーをもつ遺伝子の実験データが右側領域に表示されます。

このように自分の興味のあるカテゴリーについて階層構造をたどっていき、そのなかでZ-scoreが大きく、かつP-valueのより小さいGOカテゴリーを選択していくことによって、より具体的で統計学的に有意なGOカテゴリーを見つけることができます。

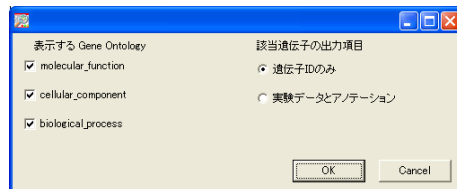
またBrowser上部のKeyword欄に、自分の調べたいカテゴリー名を入力し検索を行うことで、目的のGOカテゴリーの解析データを、すぐに調べることができます。なお「Changed Genes」や「P-value」などの、各データの計算方法については、ソフトウェアのユーザーマニュアルを参照してください。

GO Term List

Gene Ontology Browserでは、自分の興味のあるカテゴリについてP-valueなどを参考にして階層をたどっていき、有意なGOカテゴリを見つけるという方法をとりました。しかし、この方法では階層を1つ1つたどっていかねばならないので、多数の機能について解析を行う場合には不向きです。この問題を解決するために取り入れたのがGO Term List機能です。

- ①まず、Gene Ontology解析ウインドウで「GO Term List」ボタンをクリックします。しばらく待つと、右図のような出力項目選択画面が表示されます。

ここでまず「遺伝子IDのみ」を選択し、OKボタンをクリックすると計算が始まります。計算が終了すると以下のような画面が表示されます。



Term	Term	Changed Genes	Total Genes	Z score	P-value	Gene ID
molecular_function	antigen binding	5(4)	28(21)	10.243	5.32E-6	GE123038.GE119141.GE144873.GE159291.GE132445
molecular_function	structural molecule activity	17(11)	591(353)	5.767	5.41E-6	GE123038.GE1410695.GE1441407.GE144874.GE1477245.GE159291
cellular_component	keratin filament	3(3)	6(6)	14.026	3.23E-5	GE123038.GE32096.GE32922
cellular_component	intermediate filament	7(7)	114(114)	6.696	3.29E-5	GE123038.GE1410695.GE1516060.GE32096.GE32922.GE34093.GE159291
molecular_function	peptidase activity	18(18)	760(666)	4.992	3.83E-5	GE115711.GE118913.GE122384.GE1407979.GE1434957.GE146122
cellular_component	intermediate filament cytoskeleton	7(7)	122(11)	6.41	4.8E-5	GE123038.GE1410695.GE1516060.GE32096.GE32922.GE34093.GE159291
biological_process	epidermis development	7(7)	121(94)	6.371	5.2E-5	GE120242.GE122384.GE127424.GE36140.GE369413.GE37729.GE39
biological_process	epidermis development	7(7)	124(40)	6.27	6.02E-5	GE120242.GE122384.GE127424.GE36140.GE369413.GE37729.GE39
biological_process	keratinization	4(4)	29(29)	8.088	0.000106	GE36140.GE369413.GE37729.GE39317
biological_process	epidermis morphogenesis	5(3)	59(3)	6.629	0.00012	GE120242.GE36140.GE369413.GE37729.GE39317
molecular_function	peptidase activity, acting on L-/w-amino acid peptides	16(6)	687(6)	4.591	0.00022	GE115711.GE118913.GE122384.GE1407979.GE1434957.GE146122
molecular_function	endopeptidase activity	7(7)	419(47)	4.889	0.00032	GE115711.GE118913.GE122384.GE1407979.GE1434957.GE146122
biological_process	immune response	13(11)	510(23)	4.689	0.00042	GE119141.GE1407979.GE1441407.GE144874.GE1477245.GE159291
biological_process	epidermal cell differentiation	4(3)	33(3)	7.521	0.00047	GE29140.GE29412.GE37729.GE39317
molecular_function	serine-type endopeptidase activity	9(9)	199(199)	5.176	0.000521	GE118913.GE1407979.GE1434957.GE146122.GE159291.GE39317
cellular_component	actin-cytoskeleton	29(29)	1626(1729)	3.916	0.00074	GE115711.GE118913.GE137916.GE1404616.GE1434957.GE146122
cellular_component	membrane/bounded organelle	46(6)	902(96)	-2.998	0.000483	GE119053.GE120242.GE130900.GE127424.GE128231.GE139981.GE159291
cellular_component	intracellular membrane/bounded organelle	46(6)	901(96)	-2.998	0.000487	GE119053.GE120242.GE130900.GE127424.GE128231.GE139981.GE159291
molecular_function	serine hydrolase activity	9(3)	229(3)	4.697	0.000903	GE118913.GE1407979.GE1434957.GE146122.GE159291.GE39317

このリストは全てのGOカテゴリをP-valueの小さい順に並び替え、右側の領域には各GOカテゴリをもつ遺伝子のIDが表示されます。つまり統計学的に有意なGOカテゴリの統計データと、その該当遺伝子の識別番号が一目で確認できます。また、出力項目選択画面で「実験データとアノテーション」を選択した場合、以下のような画面が表示されます。

Ontology	Term	Changed Genes	Total Genes	Z score	P-value	No.	Select	Block	Row	Column
molecular_function	antigen binding	5(4)	28(21)	10.243	5.32E-6	11773	○	4	134	39
molecular_function	antigen binding	5(4)	28(21)	10.243	5.32E-6	12615	○	4	142	41
molecular_function	antigen binding	5(4)	28(21)	10.243	5.32E-6	24518	○	7	276	89
molecular_function	antigen binding	5(4)	28(21)	10.243	5.32E-6	30094	○	9	342	63
molecular_function	antigen binding	5(4)	28(21)	10.243	5.32E-6	36589	○	10	402	46
molecular_function	structural molecule activity	17(11)	591(353)	5.767	5.41E-6	7679	○	3	88	40
molecular_function	structural molecule activity	17(11)	591(353)	5.767	5.41E-6	7749	○	3	89	17
molecular_function	structural molecule activity	17(11)	591(353)	5.767	5.41E-6	8908	○	3	100	80
molecular_function	structural molecule activity	17(11)	591(353)	5.767	5.41E-6	12688	○	4	143	6
molecular_function	structural molecule activity	17(11)	591(353)	5.767	5.41E-6	14862	○	5	169	36
molecular_function	structural molecule activity	17(11)	591(353)	5.767	5.41E-6	18620	○	6	210	95
molecular_function	structural molecule activity	17(11)	591(353)	5.767	5.41E-6	18612	○	6	211	102
molecular_function	structural molecule activity	17(11)	591(353)	5.767	5.41E-6	20659	○	6	232	65
molecular_function	structural molecule activity	17(11)	591(353)	5.767	5.41E-6	22455	○	7	254	93
molecular_function	structural molecule activity	17(11)	591(353)	5.767	5.41E-6	23995	○	7	270	107
molecular_function	structural molecule activity	17(11)	591(353)	5.767	5.41E-6	24743	○	7	273	19
molecular_function	structural molecule activity	17(11)	591(353)	5.767	5.41E-6	27114	○	8	306	83
molecular_function	structural molecule activity	17(11)	591(353)	5.767	5.41E-6	28159	○	8	306	77

このリストも全てのGOカテゴリをP-valueの小さい順に並び替えて表示します。先のリストとの違いは、該当遺伝子のIDではなく実験データを全て表示することです。そのため、1つのGOカテゴリに該当する遺伝子の実験データが、複数行にわたって表示されます。

②表示されたGO Term Listは左上のファイル(Z)で保存(Y)することができます。表示されている情報がそのまま保存されます。

Ontology	Term	Changed Genes
cellular_component	extracellular region	6(56)
cellular_component	cell	153(0)

③右図は出力項目選択画面で「遺伝子IDのみ」を選択し、保存したデータをエクセルで開いたものです。GO Termの横に該当データが表示されます。

Output Selection Dialog:

- Gene ID: (Selected)
- Gene Name:
- Gene Accession:
- Gene Symbol:
- Gene Description:
- Gene Type:
- Gene Status:
- Gene Location:
- Gene Orientation:
- Gene Length:
- Gene GC Content:
- Gene Conservation:
- Gene Evolution:
- Gene Expression:
- Gene Interactions:
- Gene Pathways:
- Gene Networks:
- Gene Clusters:
- Gene Families:
- Gene Domains:
- Gene Motifs:
- Gene Variants:
- Gene Mutations:
- Gene Polymorphisms:
- Gene Epigenetics:
- Gene Methylation:
- Gene Acetylation:
- Gene Phosphorylation:
- Gene Ubiquitination:
- Gene Glycosylation:
- Gene Lipidation:
- Gene Hydroxylation:
- Gene Nitrosylation:
- Gene S-nitrosylation:
- Gene S-nitrosylated proteins:
- Gene S-nitrosylated peptides:
- Gene S-nitrosylated amino acids:
- Gene S-nitrosylated nucleic acids:
- Gene S-nitrosylated lipids:
- Gene S-nitrosylated carbohydrates:
- Gene S-nitrosylated inorganic ions:
- Gene S-nitrosylated small molecules:
- Gene S-nitrosylated macromolecules:
- Gene S-nitrosylated cells:
- Gene S-nitrosylated tissues:
- Gene S-nitrosylated organs:
- Gene S-nitrosylated systems:
- Gene S-nitrosylated organisms:
- Gene S-nitrosylated populations:
- Gene S-nitrosylated communities:
- Gene S-nitrosylated ecosystems:
- Gene S-nitrosylated biospheres:
- Gene S-nitrosylated galaxies:
- Gene S-nitrosylated universes:

④このリストから希望のデータを抽出したい場合、エクセルのオートフィルタ機能を使用します。右図のようにデータタイトル行を選択し、データ(D)のフィルタ(F)でオートフィルタ(F)を選択します。

Ontology	Term	Changed Genes
cellular_component	structural molecule	17(11) 59(9)
cellular_component	keratin filament	3(3) 6(6)
cellular_component	intermediate filament	7(7) 11(4)
cellular_component	keratin filament	7(7) 11(4)
cellular_component	intermediate filament	7(7) 12(2)
biological_process	epidermis development	7(0) 12(1)
biological_process	ectoderm development	7(0) 12(4)
biological_process	keratinization	4(4) 28(28)

⑤選択後は 各列のタイトル行にオートフィルタの機能が追加されます。

Ontology	Term	Changed Genes	Total Genes	P-value	Z-score
cellular_component	structural molecule activity	17(11)	59(59)	5.707	5.41E-06
cellular_component	keratin filament	3(3)	6(6)	14.028	3.23E-05
cellular_component	intermediate filament	7(7)	11(11)	6.995	3.28E-05
cellular_component	keratin filament	7(7)	11(11)	6.995	3.23E-05
cellular_component	intermediate filament	7(7)	12(12)	6.41	3.29E-05
biological_process	epidermis development	7(0)	12(12)	6.41	3.63E-05
biological_process	ectoderm development	7(0)	12(12)	6.41	4.98E-05
biological_process	keratinization	4(4)	28(28)	6.02E-05	5.20E-05
cellular_component	keratin filament	0.000106	0.000122	0.000132	0.000162
cellular_component	keratin filament	0.000167	0.000221	0.000274	0.000483
cellular_component	keratin filament	7.521	0.000167	0.000167	0.000167

⑥⑤で追加したオートフィルタの機能を用いて、リスト内から「Z-score>0 かつ P-value<0.01」を満たすGOカテゴリーのみを抽出します。

まずP-valueの列の▼をクリックしてください。すると右図のように列内の値が表示されます。そして、ここで(オプション...)をクリックすると、オートフィルタ オプションが表示されます。

Filter Options Dialog:

抽出条件の指定:

AND / OR

AND / OR

Filtering criteria: Z-score > 0 and P-value < 0.01

オートフィルタ オプションで右図のように、数値と条件を入力し、OKボタンをクリックします。Z-scoreの方も、条件を変えて同様の操作をします。

前述の条件「Z-score>0 かつ P-value<0.01」で抽出を行うと、右図のような結果になりました。

Ontology	Term	Changed Genes	Total Genes	P-value	Z-score
cellular_component	keratin filament	3(3)	6(6)	14.028	3.23E-05
cellular_component	intermediate filament	7(7)	11(11)	6.995	3.28E-05
cellular_component	keratin filament	7(7)	11(11)	6.995	3.23E-05
cellular_component	intermediate filament	7(7)	12(12)	6.41	3.29E-05
biological_process	epidermis development	7(0)	12(12)	6.41	3.63E-05
biological_process	ectoderm development	7(0)	12(12)	6.41	4.98E-05
biological_process	keratinization	4(4)	28(28)	6.02E-05	5.20E-05
cellular_component	keratin filament	0.000106	0.000122	0.000132	0.000162
cellular_component	keratin filament	0.000167	0.000221	0.000274	0.000483
cellular_component	keratin filament	7.521	0.000167	0.000167	0.000167


以上、抽出した発現変動遺伝子に対して、Gene Ontology解析を行うことによって、発現変動遺伝子がどのような機能をもっているのかを調べることができました。本解析は薬物投与によって発現量が増加した遺伝子に対する機能解析なので、この薬物はマウスに投与すると⑥の図のGOカテゴリーにある作用を発揮するものと考えられます。

6. 抽出した遺伝子のパスウェイ解析

絞り込んだデータについて、どのようなパスウェイと関連のある遺伝子が多いのかを調べるためにPathway解析を行います。

- ① Filter Optionsでデータの絞り込みを行います。

ここでは5. 抽出した遺伝子の機能解析のときに指定した条件をそのまま使用します。

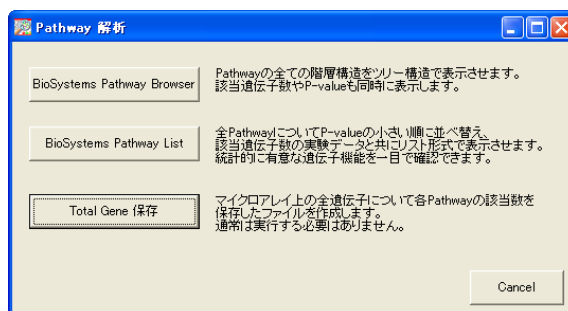
- ② Pathway解析アイコン  をクリックし、データベース選択ウインドウを開きます。ここで解析に「GenMAPP*1 or WikiPathways*2」を使用するか、「NCBI BioSystems*3」を使用するかの選択ができます。いずれのデータベースも、詳細なパスウェイ図を提供しており、マイクロアレイ解析に広く用いられています。本解析では「NCBI BioSystems」を使用するので、そちらをクリックしてください。

*1 : <http://www.genmapp.org/>

*2 : <http://www.wikipathways.org/index.php/WikiPathways>

*3 : <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?db=biosystems>

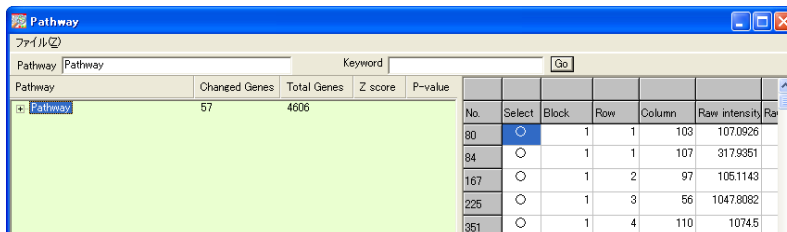
- ③ 次にデータの出力形式を選択します。またここで選択できる項目は、Gene Ontology解析と同じ機能をもっています。



Pathway Browser

本機能では、全てのパスウェイを表示し、同時に該当遺伝子数や統計学的有意確率も表示します。

- ①まず、Pathway解析ウインドウで「BioSystems Pathway Browser」のアイコンをクリックします。その後計算が始まり、計算が終了すると以下のような画面が表示されます。



Pathway	Changed Genes	Total Genes	Z score	P-value
Pathway	57	4606		

No.	Select	Block	Row	Column	Raw intensity	Pa
80	<input checked="" type="radio"/>	1	1	103	107.0926	
84	<input checked="" type="radio"/>	1	1	107	317.9351	
167	<input type="radio"/>	1	2	97	105.1143	
225	<input type="radio"/>	1	3	56	1047.8082	
351	<input type="radio"/>	1	4	110	1074.5	

Pathway Browserでは、最初は1つのカテゴリーしか表示されませんが、カテゴリー名の前にある「+」をクリックしていくたびに、下位のカテゴリーが表示されていきます。

最上位にある「Pathway」から、2つ下の階層に全パスウェイが格納されているので、順番に「+」をクリックして行ってください。パスウェイが格納されている階層にたどり着くと、次ページのように表示されます。

Pathway

Autoimmune thyroid disease

Pathway	Changed Genes	Total Genes	Z score	P-value
NCBI BioSystems	57	4606		
1- and 2-Methylnaphthalene degradation	0	9	0	1
3-Chloroacrylic acid degradation	0	8	0	1
ABC transporters	1	42	0.67	0.41215
Acute myeloid leukemia	1	57	0.353	0.51217
Adherens junction	1	74	0.089	0.6054
Adipocytokine signaling pathway	0	64	0	1
Alanine and aspartate metabolism	0	29	0	1
Alkaloid biosynthesis I	0	6	0	1
Alkaloid biosynthesis II	0	11	0	1
Allograft rejection	7	51	8.066	5.19E-6
alpha-Linolenic acid metabolism	0	16	0	1
Alzheimer's disease	2	156	0.05	0.71966
Aminoacyl-tRNA biosynthesis	0	42	0	1
Aminophosphonate metabolism	0	6	0	1
Aminosugars metabolism	0	30	0	1
Amyotrophic lateral sclerosis (ALS)	1	55	0.389	0.49966
Androgen and estrogen metabolism	0	34	0	1
Antigen processing and presentation	5	79	4.093	0.00338
Apoptosis	0	83	0	1
Arachidonic acid metabolism	1	70	0.145	0.58518
Arginine and proline metabolism	0	34	0	1
Ascorbate and aldarate metabolism	0	16	0	1
Asthma	5	31	7.499	6.45E-5
Axonal guidance	4	4	0	1
Autoimmune thyroid disease	8	59	8.56	1.12E-6
Axon guidance	0	127	0	1
B cell receptor signaling pathway	3	77	2.11	0.07354
Basal cell carcinoma	0	55	0	1
Basal transcription factors	2	32	2.565	0.06419
Base excision repair	0	33	0	1
Benzoate degradation via CoA ligation	0	14	0	1
beta-Alanine metabolism	0	19	0	1

No.	Select	Block	Row	Column	Rate
2684	<input checked="" type="radio"/>	1	30	26	
4375	<input type="radio"/>	2	51	6	
6886	<input type="radio"/>	2	78	13	
13329	<input type="radio"/>	4	150	106	
16958	<input type="radio"/>	5	191	85	
20237	<input type="radio"/>	6	229	38	
24518	<input type="radio"/>	7	276	89	
28098	<input type="radio"/>	8	316	110	
30264	<input type="radio"/>	9	342	63	

該当遺伝子の実験データ

表示された全パスウェイのなかでも、「Autoimmune thyroid disease」(赤線で囲んだ領域)というパスウェイが、とくにZ-scoreが大きく、かつP-valueが小さいことが分かります。そして、このパスウェイ名をダブルクリックすると、ウィンドウ右側に、該当遺伝子の実験データが表示されます。なお、Z-scoreやP-valueの意味は、Gene Ontology解析のときと同様です。

Arginine and proline metabolism 0

Ascorbate and aldarate metabolism 0

Autoimmune thyroid disease 5

Axon guidance 0

B cell receptor signaling pathway 0

図表示(Z)

NCBI BioSystems

Autoimmune thyroid disease

Type: organism-specific biosystem

Description: The classification of autoimmune thyroid disease (ATD) includes Hashimoto's thyroiditis (HT) or chronic autoimmune thyroiditis and its variants, Graves' disease (GD) and autoimmune atrophic thyroiditis or primary myxedema. HT is characterized by the presence of goitre, thyroid autoantibodies against thyroid peroxidase (TPO) and thyroglobulin (Tg) in serum and varying degrees of thyroid dysfunction. During HT, self-reactive CD4+ T lymphocytes (Th) recruit B cells and CD8+ T cells (CTL) into the thyroid. Disease progression leads to the death of thyroid cells and hypothyroidism. Both autoantibodies are...

Organism: Mus musculus

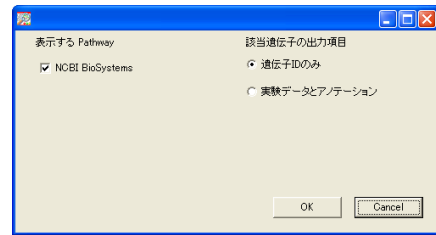
Source: KEGG (mm05329)

パスウェイの詳細情報を見たい場合は、該当パスウェイ名を選択し、右クリックメニューの図表示(Z)を選択します。するとブラウザが起動し、パスウェイの詳細情報のページにリンクします。

Pathway List

Pathway解析でも、Gene Ontology解析と同様に、P-valueの小さい順にリスト出力することができます。

- ① Pathway解析ウィンドウで「BioSystems Pathway List」ボタンをクリックします。するとGene Ontology解析のときと同様、出力項目選択画面が表示されるので、どちらかを選択してください。

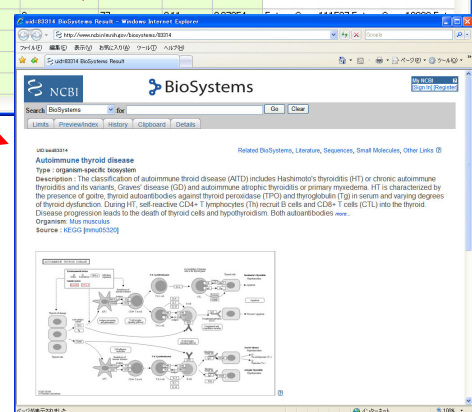


「遺伝子IDのみ」出力リスト

System	PathwayName	Changed Genes	Total Genes	Z score	P-value	Gene ID
NCBI BioSystems	Autoimmune thyroid disease	8	59	8.56	1.12E-6	Entrez_Gene:100043204,Entrez_Gene:111507,
NCBI BioSystems	Allograft rejection	7	51	8.066	5.19E-6	Entrez_Gene:100043204,Entrez_Gene:111507,
NCBI BioSystems	Asthma	5	31	7.499	6.45E-5	Entrez_Gene:100043204,Entrez_Gene:111507,
NCBI BioSystems	Systemic lupus erythematosus	7	98	5.287	0.000252	Entrez_Gene:100043204,Entrez_Gene:111507,
NCBI BioSystems	Graft-versus-host disease	5	50	5.604	0.000498	Entrez_Gene:100043204,Entrez_Gene:14998.E
NCBI BioSystems	Type 1 diabetes mellitus	5	55	5.268	0.000747	Entrez_Gene:100043204,Entrez_Gene:14998.E
		7	143	3.956	0.00212	Entrez_Gene:100043204,Entrez_Gene:12477.E
		5	79	4.093	0.00338	Entrez_Gene:100043204,Entrez_Gene:14998.E
		3	36	3.851	0.01159	Entrez_Gene:111507,Entrez_Gene:12229,Entre
		6	181	2.527	0.02255	Entrez_Gene:100043204,Entrez_Gene:111507,
		3	67	2.399	0.05331	Entrez_Gene:11836,Entrez_Gene:12914,Entrez
		2	32	2.565	0.06419	Entrez_Gene:237336,Entrez_Gene:68705
		6	234	1.835	0.07099	Entrez_Gene:14938,Entrez_Gene:18442,Entrez
		1	5	3.795	0.07118	Entrez_Gene:11761

System	PathwayName	Changed Genes	Total Genes	Z score	P-value	No.	Select	Block	Row	Column
NCBI BioSystems	Autoimmune thyroid disease	8	59	8.56	1.12E-6	2994	<input type="radio"/>	1	31	20
NCBI BioSystems	Autoimmune thyroid disease	8	59	8.56	1.12E-6	4376	<input type="radio"/>	2	51	6
NCBI BioSystems	Autoimmune thyroid disease	8	59	8.56	1.12E-6	6886	<input type="radio"/>	2	78	13
NCBI BioSystems	Autoimmune thyroid disease	8	59	8.56	1.12E-6	13229	<input type="radio"/>	4	150	106
NCBI BioSystems	Autoimmune thyroid disease	8	59	8.56	1.12E-6	16668	<input type="radio"/>	5	191	85
NCBI BioSystems	Autoimmune thyroid disease	8	59	8.56	1.12E-6	20237	<input type="radio"/>	6	229	38
NCBI BioSystems	Autoimmune thyroid disease	8	59	8.56	1.12E-6	24518	<input type="radio"/>	7	276	89
NCBI BioSystems	Autoimmune thyroid disease	8	59	8.56	1.12E-6	28938	<input type="radio"/>	8	316	110
NCBI BioSystems	Autoimmune thyroid disease	8	59	8.56	1.12E-6	30204	<input type="radio"/>	9	342	63
NCBI BioSystems	Allograft rejection	7	51	8.066	5.19E-6	2984	<input type="radio"/>	1	30	26
NCBI BioSystems	Allograft rejection	7	51	8.066	5.19E-6	4376	<input type="radio"/>	2	51	6
NCBI BioSystems	Allograft rejection	7	51	8.066	5.19E-6	6886	<input type="radio"/>	2	78	13
NCBI BioSystems	Allograft rejection	7	51	8.066	5.19E-6	13229	<input type="radio"/>	4	150	106
NCBI BioSystems	Allograft rejection	7	51	8.066	5.19E-6	20237	<input type="radio"/>	5	229	38
NCBI BioSystems	Allograft rejection	7	51	8.066	5.19E-6	24518	<input type="radio"/>	7	276	89
NCBI BioSystems	Allograft rejection	7	51	8.066	5.19E-6	28938	<input type="radio"/>	8	316	110
NCBI BioSystems	Allograft rejection	7	51	8.066	5.19E-6	30204	<input type="radio"/>	9	342	63
NCBI BioSystems	Asthma	5	31	7.499	6.45E-5	2994	<input type="radio"/>	1	30	26
NCBI BioSystems	Asthma	5	31	7.499	6.45E-5	4376	<input type="radio"/>	2	51	6
NCBI BioSystems	Asthma	5	31	7.499	6.45E-5	6886	<input type="radio"/>	2	78	13
NCBI BioSystems	Asthma	5	31	7.499	6.45E-5	13229	<input type="radio"/>	4	150	106

「実験データとアノテーション」出力リスト



「Pathway List」も「遺伝子IDのみ」または「実験データとアノテーション」の2通りの出力項目を選択できます。また「GO Term List」との大きな違いは、パスウェイ名をダブルクリックすると、パスウェイ詳細情報のページにリンクしていることです。このリンクは、両方の出力形式に対応しており、Pathway Nameの項(青文字のところ)をダブルクリックするだけで、自動的にブラウザが立ち上がり、ページが表示されます。

7. 結果

「Microarray Data Analysis Tool」を使用し、マイクロアレイデータを解析することによって、

- ①発現変動遺伝子の抽出、②発現変動遺伝子の機能・パスウェイ解析を行うことができました。

本ソフトウェアでは簡単なボタン操作のみでデータの抽出・解析をおこなうことができます。今回は1比較の解析データの進め方を説明しましたが、複数の比較データを用いた解析についてはVol.3でご紹介いたします。