

AJACS前橋 生物学的解釈をするための遺伝子発現DB・解析ツールの使い方

大学共同利用機関法人 情報・システム研究機構

データサイエンス共同利用基盤施設

ライフサイエンス統合データベースセンター

小野 浩雅 <https://sites.google.com/a/dbcls.rois.ac.jp/hono/>

hono@dbcls.rois.ac.jp <mailto:hono@dbcls.rois.ac.jp>

2016年6月21日(火) AJACS前橋@群馬大学 医学部 情報処理演習室A (昭和キャンパス共用施設棟3階)

これは統合データベース講習会 AJACS前橋「生物学的解釈をするための遺伝子発現DB・解析ツールの使い方」の講習資料です。

この内容の続編として、AJACS御茶ノ水(2015年5月)における応用・実践編

<http://doi.org/10.7875/ajacs.2015.007> がありますので、こちらもあわせてご活用ください。

講習会全体のプログラムはこちら <http://events.biosciencedbc.jp/training/ajacs59>です。

概要

本講習は、だれでも自由に使うことができる公共データベースやウェブツールを活用して、研究のさまざまな場面で調べることの多い個々の遺伝子発現データを簡単に調べるための方法と基礎知識について学びます。

また、自ら行なった大規模発現解析の(あるいは公共データベースから取得・解析した)結果として得られた数百～数千におよぶ遺伝子セットについて、生物学的な解釈をする方法とその結果の考察を実践します。

講習の流れ

今回の講習では、コンピュータを使って以下の内容について説明します。

- 研究現場で頻繁に使われるデータベースやツールを知る
 - 統合TV
 - 個々の遺伝子の発現プロファイルを調べる
-

- RefEx
 - 【実習1】RefExを使って、組織特異的遺伝子を検索する
 - 数十～数千の遺伝子群の生物学的解釈
 - DAVID
 - 【実習2】DAVIDを用いて、発現データの結果を生物学的に解釈する
 - 【実習3】これまで学んだことを踏まえて、発現データの結果を生物学的に解釈する
-

講習に際しての注意とお願い

- みんなで同時にアクセスするとサイトにつながりにくくなることが予想されます。
 - 資料を見ながら自力で進められそうな方はどんどん先に、そうでない方は講師と一緒にすすめていきましょう。
 - サイトの反応が悪い時はタイミングをずらして実行してみてください。
 - 反応が無いからと言って何度もクリックするとますます繋がらなくなってしまいます。おおらかな気持ちで臨みましょう。
 - わからないことがあったら挙手にてスタッフにお知らせください。
 - 遠慮は無用です(そのための講習会です!)。おいてけぼりは楽しくありません。
-

受講前アンケートにご協力いただき、ありがとうございます (回答数46)

統合TVを知っていますか?	人数	割合
知らない	34名	63%
聞いたことがある	11名	20%
知っている	4名	7%
使ったことがある	3名	5%
使っている	3名	5%

自分で実験して得た、数十～数千の遺伝子からなる「遺伝子リスト」(例: 発現差のあった遺伝子など)を持っていますか?	人数	割合
これから実験をする・したい	16名	29%
公共データを活用する・したい	18名	33%
既に持っている	17名	31%

研究現場で頻繁に使われるデータベースやツールを知る

統合TV <http://togotv.dbcls.jp/ja/>

- 生命科学分野の有用なデータベースやツールの使い方を動画で紹介するウェブサイト
 - <http://togotv.dbcls.jp/ja/> <http://togotv.dbcls.jp/ja/>

『統合TV』は、生命科学分野の有用なデータベースやツールの使い方を動画で紹介するウェブサイトです。

■ 目的別に検索

- AJACS講習会資料
- ゲノム・核酸 配列解析
- タンパク質 配列・構造解析
- 発現制御解析・可視化
- 文献・辞書・プログラミング
- 著名データベース
- 学会講演・講習会

● 関連するタグから検索



Q. 全番組のリストから、調べたいDBやウェブツールに関するキーワードで検索! (全 1079 件)

番組のタイトルや画像をクリックすると番組の再生ページへ移動します。

表示件数を選択 → 検索窓にキーワードを入れると、入力の度ごとに即座に候補の番組が絞り込まれます

無料統計ソフトEZR (Easy R)を使ってマウス操作だけで多彩な統計解析をする～導入・基本編～



Rは、フリーで使える統計解析向けのプログラミング言語です。非常に多彩な解析を行うことができますが、コマンド操作を中心とするため、初心者には敷居が高い面もあります。

EZR (Easy R)は、Rでおこなえる多彩な解析やグラフ作成を、マウス操作だけでおこなえるツールです。本動画では、EZRの導入方法と基本的な操作について紹介します。

How to use RefEx: Reference Expression Dataset

RefEx (<http://refex.dbcls.jp/>) is Reference Expression Dataset for functional curation of transcriptomes.

RefEx is a challenge to achieve the reference of mammalian tissue gene expression data by different types of methods such as expressed sequence tag (as EST), microarray (as GeneChip), Cap Analysis Gene Expression(as CAGE) and RNA-seq for human, mouse and rat. Recently, CAGE data from [The FANTOM5 project](#) which is a broad atlas of human and mouse gene expression in tissues, primary cells and cell lines is included in RefEx. The main use cases of RefEx are the following three points.

1. examine the pattern of gene expression in normal tissues of the body, cells and cellines.
2. one-click search for tissue specific genes.
3. compare the differences of gene expression levels by experimental methods.

You can easily check the gene expression profiles of unfamiliar genes from the actual measurement data rather than only description in the paper.



DOGAN - Genome Database of Microorganisms Sequenced at NITE - の使い方

DOGANIは、NITE（独立行政法人製品評価技術基盤機構）で全ゲノム配列を解析した微生物のゲノム情報を提供するDBです。産業上有用な微生物や系統的に基準となる微生物を中心に解析が行われています。本動画ではDOGANの特徴とその基本的な使い方を、醣油醸造の乳酸菌として知られる *Tetragenococcus halophilus* という微生物のゲノムを例にして具体的に紹介します。



SlideSort for comparative NGS data and privacy preserving search for sensitive data

RDF summit for individual genomics (The 2nd RDF summit in 2016) was held in Tohoku Medical Megabank Organization(ToMMo) in Sendai, Miyagi, Japan.

On the first day of the meeting (19 Feb 2016), an informal seminar was held. The goal of this session is to briefly understand the technologies behind -- share the state of the art results and remaining issues on the reference genome graph, match maker exchange, semantic web genome databases etc.

In this talk, Kana Shimizu makes a presentation entitled "SlideSort for comparative NGS data and privacy preserving search for sensitive data". (6:12)

A playlist of this session is also available.



Fast dynamic programming algorithm for nucleotide sequences, and long read alignment on string graphs

RDF summit for individual genomics (The 2nd RDF summit in 2016) was held in Tohoku Medical Megabank Organization(ToMMo) in Sendai, Miyagi, Japan.

On the first day of the meeting (19 Feb 2016), an informal seminar was held. The goal of this session is to briefly understand the technologies behind -- share the state of the art results and remaining issues on the reference genome graph, match maker exchange, semantic web genome databases etc.

In this talk, Hajime Suzuki makes a presentation entitled "Fast dynamic programming algorithm for nucleotide sequences, and long read alignment on string graphs". (5:05)

A playlist of this session is also available.

first < 1 2 3 4 5 > last



○



大学共同利用機関法人 情報・システム研究機構
ライフサイエンス統合データベースセンター (DBCLS)

統合TVについて

- ▶ はじめての方へ
- ▶ 統合TVの特徴
- ▶ 統合TVの使い方
- ▶ 統合TVの歴史
- ▶ スタッフ
- ▶ サイトポリシー
- ▶ ロゴについて
- ▶ AJACS講習会資料
- ▶ ゲノム・核酸 配列解析
- ▶ タンパク質 配列・構造解析
- ▶ 発現制御解析・可視化
- ▶ 文献・辞書・プログラミング
- ▶ 著名データベース
- ▶ 学会講演・講習会
- ▶ 活用事例
- ▶ 再生数ランキング

番組メニュー

- ▶ よくある質問
- ▶ 番組リクエスト

質問

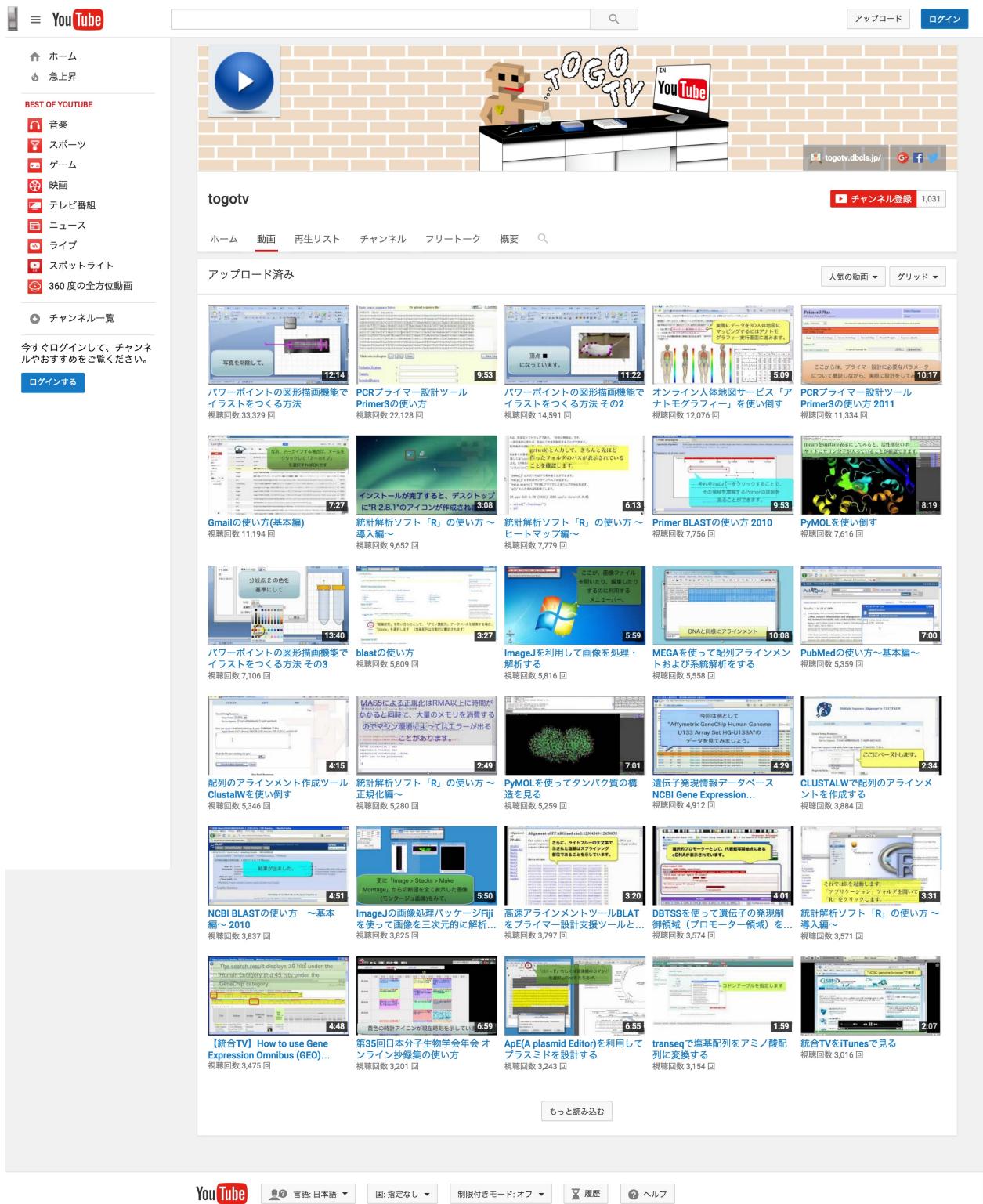
- ▶ Q. #togotv
- ▶ A. RDF

最新情報

- ▶ Q. #togotv
- ▶ A. RDF

DBCLS 統合TV is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International license (CC BY 4.0)

- YouTube版もあります <http://www.youtube.com/user/togotv/>
- <http://www.youtube.com/user/togotv/>



- YouTubeのチャンネル登録をすると更新情報がメールで届きます。
- ウェブサイトへのアクセスの仕方から結果の解釈まで、操作の一挙手一投足がわかります。
 - 1000本を超える動画が公開されており、YouTube版だけでのべ 630,000回以上再生されています。(2016年5月末現在)



2007/08/08～2016/05/31

△ このレポートのデータは不完全か不足しています。

"平均再生率（%）"、"平均視聴時間" のデータは 2012年9月1日 以降に限り使用できます。



動画 地域 日付 もっと見る ▾

動画	総再生時間（時間） ↓	視聴回数	平均視聴時間	平均再生率 (%) *
パワーポイントの图形描画機能でイラストを…	2,256 (8.0%)	36,452 (5.8%)	4:04	33%
パワーポイントの图形描画機能でイラストを…	1,054 (3.7%)	15,660 (2.5%)	4:28	39%
Gmailの使い方(基本編)	635 (2.2%)	13,640 (2.2%)	2:47	37%
PCRプライマー設計ツール Primer3の使い方 2…	632 (2.2%)	11,942 (1.9%)	4:50	47%
パワーポイントの图形描画機能でイラストを…	507 (1.8%)	7,975 (1.3%)	4:07	30%
トランスク립トーム解析・プロテオーム解…	471 (1.7%)	2,473 (0.4%)	13:26	18%

- 講義・講習などの参考資料や後輩指導の教材として利用できます。
 - 本講習中、本家サイトが繋がらない時は、統合TVを見ればおおよその内容がわかるようになっています。
 - 今回の講習に関連するデータベースやウェブツールは、統合TVの「発現解析」タグ <http://togotv.dbcls.jp/ja/tags.html?tag=%E7%99%BA%E7%8F%BE%E8%A7%A3%E6%9E%90>から検索できます。
- 統合TVに掲載されているコンテンツについてご引用いただく際に、恒久的な URL として DOI <https://ja.wikipedia.org/wiki/%E3%83%87%E3%82%B8%E3%82%BF%E3%83%AB%E3%82%AA%E3%83%96%E3%82%B8%E3%82%A7%E3%82%AF%E3%83%88%E8%AD%98%E5%88%A5%E5%AD%90> (Digital Object Identifier) を使用することができます。
- 2014年8月以降に開催された過去の講習会の資料・テキストと動画が「AJACS講習会資料 http://togotv.dbcls.jp/ja/ajacs_text.html」で閲覧できるようになり、受講生の復習のみならず、初学者の学習教材としてご活用いただけます。
- お探しの動画が見つからない or 統合TV未掲載の場合は、統合TV番組リクエストフォーム <http://togotv.dbcls.jp/ja/contact.html>へどうぞ!!

- ・ 統合TVを作ってみたい方、募集中です。(オンラインでの作成環境を整備しており、遠隔地でもOKです)
-

習熟度ややりたいこと別にご参考ください

- ・ 本講習内容をスムーズに理解するために押さえておくとよい基礎知識
 - 「塩基配列解析のためのデータベース・ウェブツール」(2015年9月AJACS伊予)
<http://togotv.dbcls.jp/ja/ajacs2015033.html>
- ・ 遺伝子発現データを公共DBで検索・取得・解析する方法について
 - 「遺伝子発現DB・ウェブツールの使い方 応用・実践編」(2015年5月AJACS御茶ノ水)
<http://togotv.dbcls.jp/ja/ajacs2015007.html>
- ・ 非モデル生物のデータをモデル生物のデータに見立てるためのID対応表づくりについて
 - 「コマンドラインで遺伝子配列を解析する」(2012年7月) <http://motdb.dbcls.jp/?AJACS32%2Fbono>
- ・ 次世代シーケンス(NGS)データの解析について
 - 「次世代シーケンサー(NGS)と関連するデータベース・ツール」(2015年9月AJACS伊予)
<http://togotv.dbcls.jp/ja/ajacs2015031.html>
 - 「次世代シーケンサー(NGS)データから遺伝子発現を見るためのトップ&ステップ」(2015年9月AJACS伊予)
<http://togotv.dbcls.jp/ja/ajacs2015030.html>
- ・ NGS解析について、さらにもっと基礎から応用までを深く学びたい方向け(それぞれ約50時間程度)
 - 「バイオインフォマティクス人材育成カリキュラム(次世代シーケンサ)速習コース(2014年8月)」のYouTubeリスト
https://www.youtube.com/playlist?list=PL0uaKHgcG00abmj1Nzs1SUhqKLjf_PFBB
 - 「バイオインフォマティクス人材育成カリキュラム 次世代シーケンサ(NGS)ハンズオン講習会(2015年8月)」のYouTubeリスト
<https://www.youtube.com/playlist?list=PL0uaKHgcG00Yo0Cn0rcF23xof5hqCzGQb>
 - 上記の動画+講習会資料のまとめページ@統合TV
<http://togotv.dbcls.jp/ja/tags.html?tag=NGS%E9%80%9F%E7%BF%92%E3%83%BB%E3%83%8F%E3%83%B3%E3%82%BA%E3%82%AA%E3%83%B3>

個々の遺伝子の発現プロファイルを調べる

RefEx (Reference Expression dataset)
<http://refex.dbcls.jp/>

- ヒト、マウス、ラットの遺伝子発現情報リファレンスデータセット
- <http://refex.dbcls.jp/>
- 4つの異なる実験手法（EST、GeneChip、CAGE、RNA-seq）によって得られた正常組織、初代培養細胞、細胞株における遺伝子発現データを検索、閲覧可能
 - 最近新たに、FANTOM5 CAGEデータが追加(ヒト556種、マウス286種)
 - 掲載しているデータやオリジナルデータなどの詳細については、RefExについて
<http://refex.dbcls.jp/about.php?lang=ja>
- RefExで掲載されているデータはすべて再利用可能
 - 「RefEx analysis」として論文に引用していただいたケースも
 - Aberrant IDH3 α expression promotes malignant tumor growth by inducing HIF-1-mediated metabolic reprogramming and angiogenesis, *Oncogene*, (22 December 2014) | doi:10.1038/onc.2014.411
<http://www.nature.com/onc/journal/vaop/nccurrent/full/onc2014411a.html>
- このツールでできること
 - 正常組織における遺伝子発現データを調べる
 - 測定手法による遺伝子発現量の差異を比較する
 - 組織特異的遺伝子をワンタッチで検索可能
 - 遺伝子発現解析などで見出された不詳な遺伝子群の機能および関係性を調べる

【実習1】RefExを使って、組織特異的遺伝子を検索する

- 【復習用】RefExの使い方 <http://doi.org/10.7875/togotv.2014.009>
1. <http://refex.dbcls.jp/> を開きます。
 2. 画面中央の「組織特異的に発現する遺伝子を見る」の臓器アイコンにカーソルを合わせると、更に詳細な部位のアイコンが出るので、調べたい臓器（例として肝臓）をクリックします。

Reference

Expression

Dataset

English | 日本語



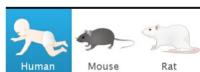
RefEx

臓器ごとの発現比較を

4つの実験手法と

ボディーパーツ3Dで。

▼もっと詳しく



キーワードで検索

検索

ex) troponin, ALB

組織特異的に発現する
遺伝子を見る



臓器のアイコンをマウスオーバー

遺伝子オントロジー
Gene Ontology

- cellular process
- biological regulation
- metabolic process

- multicellular organismal process
- response to stimulus
- developmental process

他のオントロジーを選ぶ

遺伝子ファミリー
InterPro

- RNA recognition motif, RNP-1
- Pleckstrin homology
- Krueppel-associated box

- Protein kinase-like domain
- Zinc finger, C2H2-like
- GPCR, rhodopsin-like superfamily

他のファミリーを選ぶ

染色体

染色体領域を選ぶ

Advanced Search

Advanced Search

ページ上部に戻る

RefExについて

RefExの使い方

ダウンロード



RefExはCreative Commons 表示 2.1 日本 Licenseの下でライセンスされています。

原著者はライフサイエンス統合データベースセンターです。[CC BY]

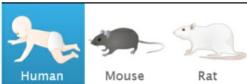
[refex.dbcls.jp/genelist.php?lang=ja&db=human&roku_valid=1&r\[31\]=31&order_key=score](http://refex.dbcls.jp/genelist.php?lang=ja&db=human&roku_valid=1&r[31]=31&order_key=score)

- 検索結果一覧が表示されます。検索結果一覧では、「ソート項目の切り替え」や「絞り込み検索」、「リストへの追加」ができます。(手順11以降で解説します。)
 - 各遺伝子の青字の部分(例 fibrinogen alpha chain http://refex.dbcls.jp/gene_info.php?lang=ja&db=human&genelID=2243&refseq=NM_000508&unigene=Hs.351593&probe=205649_s_at)をクリックすると詳細情報を閲覧できます。
 - 「ヒートマップ on Bodyparts3D」では、表示する部位の切り替え(全身・体幹部・頭部)ができます。「皮膚・骨格筋を表示」もしくは「アニメーション表示」にチェックを入れるとどのように表示されるでしょうか。
 - 「組織40分類別データ」では、バーの上にマウスオーバーすると測定部位と発現値が表示されます。
 - 「Download」をクリックすると、表示中の遺伝子の組織40分類別の発現データがタブ区切り形式でダウンロードできます。
 - 「Probe set ID」のリンク先をクリックすると、どういう情報が参照できるでしょうか。
 - 遺伝子オントロジー(Gene Ontology <http://array.cell-innovator.com/?p=1085:GO ID>)をクリックすると、そのGO termを持つ他の遺伝子を一括で検索できます。
- 例として、GO:0007596 <http://refex.dbcls.jp/genelist.php?lang=ja&db=human&idkind=1&ids=GO:0007596> blood coagulation をクリックしてみましょう。



10. 右側のFANTOM5 CAGEのタブをクリックすると、FANTOM5 CAGEデータのビュアに切り替わります。

- ビュアは上部が拡大図で、下部が全体表示になっています。
- 検索窓にキーワードを入れるとサンプル名を検索できます。ヒットしたサンプルはオレンジ色で強調されます。
- 右側に、サンプル名と発現値、サンプル分類が表示されます。
- RefEx用に整理したサンプル情報一覧 <http://bit.ly/fantom5cagehuman>も閲覧可能です。

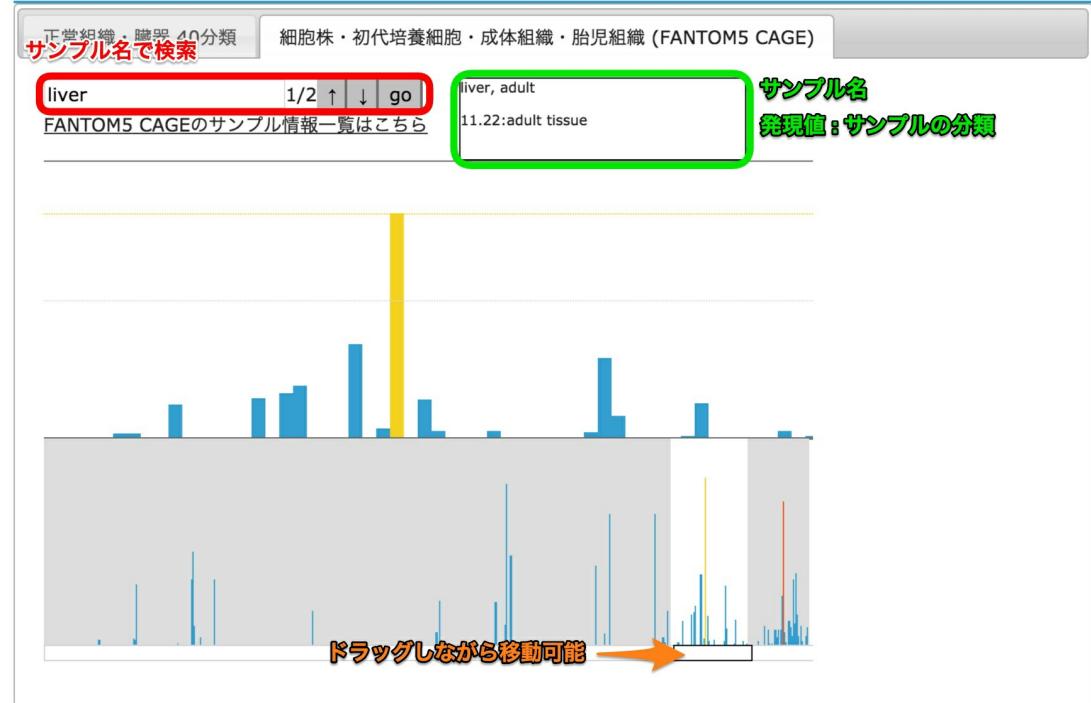


fibrinogen alpha chain

[詳細情報を見る](#)

同義遺伝子名 MGC119423, FGA, fibrinogen alpha chain, Fibrinogen alpha chain precursor, Fib2, MGC119422, MGC119425

発現データ



11. 検索結果一覧に戻ります。ソート項目を切り替えて、どのように結果が変わるでしょうか。



12. 様々な条件で検索結果を絞り込むことができます。絞り込み検索は左のバーから行えます。

- 遺伝子名に「liver」を含むデータは何件あるでしょうか。
- 「遺伝子名」の下の「条件なし」をクリックして表示されるウインドウに「liver」と入力し、「Include」をクリックし、「この条件で絞り込み」を押します。
- 「遺伝子名」の項目で「Exclude」に「solute」を加えると、検索結果はどう変わるでしょうか。
- 「組織」の項目で、データ元をRNA-seqに変更したり、臓器の指定を追加すると検索結果はどう変わるでしょうか。
- 「必ず含むデータセット」の「ALL」にチェックを入れると、検索結果はどう変わるでしょうか。

13. 個々の遺伝子の詳細情報は、リストに追加することで並列に比較することができます。

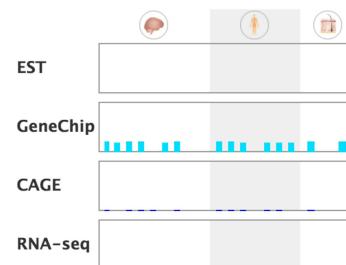
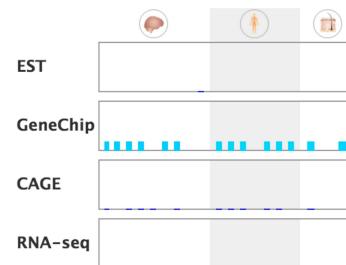
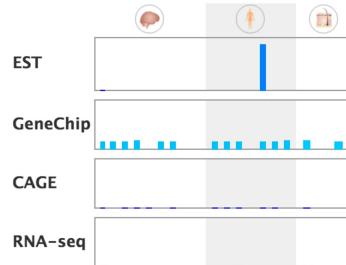
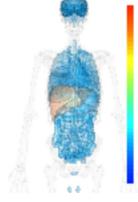
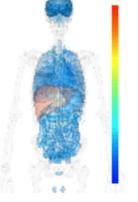
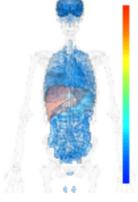
- 肝臓特異的遺伝子の検索結果一覧 http://refex.dbcls.jp/genelist.php?lang=ja&db=human&roku_valid=1&rk%5B31%5D=31&order_key=scoreに移動して、3つの遺伝子を「リストに追加」してみましょう。
- 追加した件数は「リストを見る」の横に表示されます。
- 「リストを見る」をクリックするとリストに移動します。
- 『並べて表示する』にチェックを入れて、「遺伝子を並べて表示」をクリックします。
- 遺伝子発現データやGeneOntology情報を並列に比較することで見えてくる「違い」はなんですか。

ようか。その違いからどういうことが推測できるでしょうか。

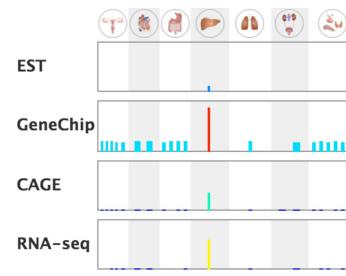
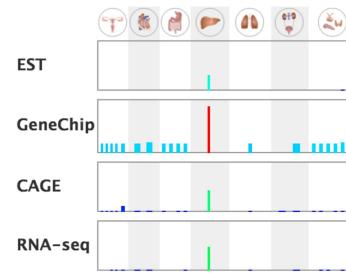
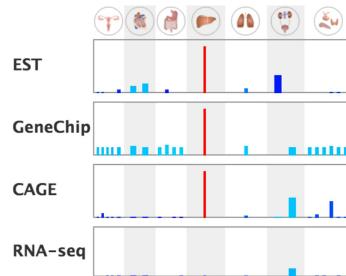
遺伝子を並べて表示 Close

Gene Name	fibrinogen alpha chain	aldo-keto reductase family 1, member D1 (delta 4-3-ketosteroid-5-beta-reductase)	mannose-binding lectin (protein C) 2, soluble (opsonic defect)
同義遺伝子名	MGC119423, FGA, fibrinogen alpha chain, Fibrinogen alpha chain precursor, Fib2, MGC119422, MGC119425	3-oxo-5-beta-steroid 4-dehydrogenase, 3o5bred, SRD5B1, AKR1D1, Delta(4)-3-ketosteroid 5-beta-reductase, Aldo-keto reductase family 1 member D1	Mannan-binding protein, MBL, MGC116833, MBL2, MBP-C, Mannose-binding protein C precursor, MGC116832, Mannose-binding lectin, COLEC1, HSMBPC, MBP1

発現マップ on BodyParts3D



相対発現量



Refseq ID	NM_000508	NM_005989	NM_000242
Gene ID	2243	6718	4153
Unigene ID	Hs.351593	Hs.201667	Hs.499674
probe set ID	205649_s_at	207102_at	207256_at
Ensembl ID	ENSG00000171560	ENSG00000122787	ENSG00000165471
染色体	4.q31.3 [155504278 – 155511918]	7.q33 [137687070 – 137802732]	10.q21.1 [54525140 – 54531460] LRG 154. [5001 – 11321]
遺伝子ファミリー (Interpro ID)	- - - -	Aldo/keto reductase Aldo/keto reductase - - 差分が明確に	- - C-type lectin C-type lectin fold C-type lectin-like
遺伝子オントロジー Biological Process	blood coagulation platelet activation platelet degranulati ... protein polymerizati ... response to calcium ... signal transduction	- - - - - -	- - - - - -
		bile acid biosynthet ... bile acid catabolic ... bile acid metabolic ... C21-steroid hormone ... cholesterol cataboli ... digestion oxidation reduction	- - - - - - -
			acute-phase response complement activatio ... complement activatio ... complement activatio ... defense response to ... defense response to ... innate immune respon ... killing by host of s ... negative regulation ... opsonization positive regulation ... response to oxidativ ...
			- - - - - - - - - - - - -

14. 自分の研究テーマに関する、また興味のある遺伝子について検索してみましょう。

BioGPS <http://biogps.org/>

- ヒト、マウス、ラットのさまざまな組織や細胞(株)における遺伝子発現プロファイルのデータベース
- BioGPS <http://biogps.org/>はAffymetrix社製のマイクロアレイであるGeneChipを用いたさまざまな組織や細胞(株)遺伝子発現プロファイルのデータベース。
- 検索した遺伝子に対して、種々の外部データベースを横断検索することができるだけでなく、それらの設定を保存したり、表示方法を自由にカスタマイズすることができる「Gene annotation portal」。
- 外部データベースには、Wikipedia(Gene Wiki)、著名な試薬会社の検索窓へのリンク集、pathway、Nature系DB、モデル生物DB、文献DBなど多種多様
- マウスのエキソンアレイのデータから遺伝子のスプライシングバリエント(Splicing variant)の発現状況も調べることが可能。最近ではCircadian関係のデータも。

- さらに最近のアップデートで、NCBI Gene Expression Omnibus (GEO)中から選抜されたデータセットに切り替えて発現状況を調べることが可能に。

【実習(skip)】 BioGPSを使ってある遺伝子の発現プロファイルを調べる

- 【復習用】遺伝子発現プロファイルデータベースBioGPSを使い倒す2012
<http://doi.org/10.7875/togotv.2012.075>
 - 【以前の講習会動画】遺伝子発現データベースの活用法 <http://doi.org/10.7875/togotv.2010.109>
1. <http://biogps.org/> <http://biogps.org/>を開きます。 2.骨格筋の分化決定遺伝子であるMyogenic differentiation 1(MyoD)の発現プロファイルを調べてみましょう。中央の検索窓に「myod」と入力し、「search」を押します。
 2. 表示された検索結果の中から「ID 4654」をクリックします。
 3. 最初はヒトのマイクロアレイデータが表示されます。
 4. 画面左側の"Current Gene List"は右上の<<アイコンをクリックすると非表示にできます。非表示にすることで画面を広く使うことができます。
 5. ページ内のウインドウは通常のウインドウと同じようにドラッグによる移動やサイズの変更などをを行うことができます。歯車マークのメニューから"Open in browser"を選択すると、新しいタブで表示できます。
 6. "Search"と書かれた窓に単語(組織名など)を入力すると、その単語の含まれた部分が赤くハイライト表示されます。今回は "Muscle"と入力してみます。
 7. "Zoom"のバーを用いることで、グラフの表示範囲を調整することができます。
 8. 発現量を示すバーをクリックすると発現強度の値が表示されます。
 9. マイクロアレイデータ右上の"Species: Hs"をクリックするとマウスやラットを選択できるので、"M. musculus (Mouse)"をクリックしてマウスのデータを表示できます。
 10. MyoDはどの組織、細胞で強く発現しているでしょうか？
 11. 場合によっては"Probeset"のプルダウンメニューから複数の項目を選択できる場合があります。これはどのようなケースが考えられるでしょうか？
 12. "Static Image"をクリックすると、ズームや検索機能などのついていない、画像だけのグラフで表示されます。低スペックなマシンでは、こちらの方が軽快に動作するでしょう。
 13. "Correlation"タブをクリックして検索すると、発現パターンが似ている他の遺伝子を検索できますが、どのような遺伝子が出てくるでしょうか？
 14. "Downloads"をクリックすると現在表示している遺伝子の発現データを CSV 形式でダウンロードできます。
 15. "Dataset"の右にある'change"をクリックすると、デフォルトで用意されているデータセットや NCBI GEO中のデータセットを検索でき、それらのデータに表示を切り替えることができます。"Species: Hs"に切り替えてから、"change"をクリックしたあと、"Default Datasets"から"Barcode on normal tissues (262 samples)"を選択します。どのようにデータが変わったでしょうか。
 16. さらに"Search"からキーワード検索で、GEOのデータを検索してみましょう。"C2C12"と検索するとどのようなデータが選択できるでしょうか？
 17. 右上の「default rayout」をクリックすると、検索した遺伝子に関して種々の外部データベースを横断検索できますが、どのようなデータが閲覧できるのか調べてみましょう。
 18. 左上の「Search」タグをクリックして検索画面にもどり、自分の興味ある遺伝子について同様に検索してみましょう。すぐに自分の興味ある遺伝子が浮かばない場合は、著名なiPS細胞 <http://ja.wikipedia.org/wiki/iPS%E7%B4%B0%E8%83%9E>を作るために必要な4因子（Oct3/4・

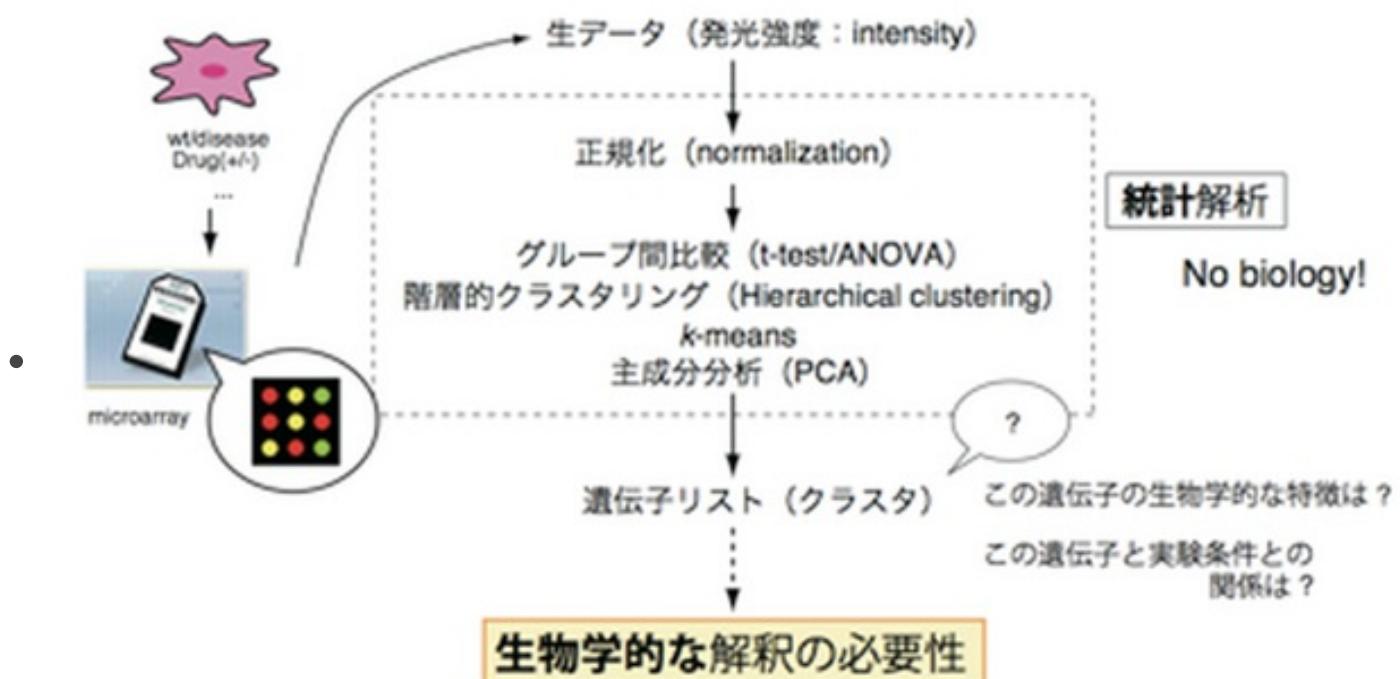
Sox2・Klf4・c-Myc) がどの組織で発現しているか、またデータを切り替えて検索してみましょう。

- 【余談】 BioGPSのiPhoneアプリ <http://biogps.org/iphone/>が無料で公開されていますので、「あの遺伝子はどの組織で発現してるのかな？」とふと調べたいときにお手持ちのiPhoneで遺伝子発現を調べられます。

数十～数千の遺伝子群の生物学的解釈

DAVID: The Database for Annotation, Visualization and Integrated Discovery <http://david.abcc.ncifcrf.gov/>

- マイクロアレイデータの生物学的な解釈
- マイクロアレイ実験の一般的な目的は、実験条件によって得られた数十～数千の遺伝子群の発現が生物学的にどういう意味を持つかを考えることです。
- 2010年以来データ更新が止まっていましたが、最近、アップデートされました。DAVID 6.8 (current beta release) May. 2016 <https://david.ncifcrf.gov/content.jsp?file=release.html>



- 今回は、その方法の一つとして、マイクロアレイの結果にGene Ontology <http://array.cell-innovator.com/?p=1085> の用語を付与することで、生物学的な解釈を行います。

マイクロアレイデータの準備

- サンプルデータとして、NCBI GEO <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>から取得した公共の遺伝子発現データを用います。このデータは、ある実験の前後の2群間で有意に発現減少した遺伝子群のリストです。

→ マル秘遺伝子リスト https://raw.githubusercontent.com/AJACS-training/AJACS59/master/hono/secret_list.txt (右クリックして「新しいタブで開く」もしくは「名前を付けてリンク先を保存」してください。)
- このデータは、どのような実験から得られたデータなのか、どのように解釈できるのかを DAVIDを使って考察してみましょう！

【実習2】 DAVIDを用いて、発現データの結果を生物学的に解釈する

- 【復習用】 DAVIDを使ってマイクロアレイデータを解析する 2012
<http://doi.org/10.7875/togotv.2012.079>
 - 【復習用】 DAVIDの使い方 実践編 <http://doi.org/10.7875/togotv.2013.033>
- DAVID <http://david.abcc.ncifcrf.gov/>にアクセスし、上部メニューの「Start Analysis」をクリックします。

DAVID Bioinformatics Resources 6.7
National Institute of Allergy and Infectious Diseases (NIAID), NIH

Shortcut to DAVID Tools

Welcome to DAVID 6.7

2003 - 2014

Recommending: A [paper](#) published in **Nature Protocols** describes step-by-step procedure to use DAVID!

What's Important in DAVID?

- [Current \(v 6.7\) release note](#)
- [New requirement to cite DAVID](#)
- [IDs of Affy Exon and Gene arrays supported](#)
- [Novel Classification Algorithms](#)

- 画面左側バーで、probe IDリストをコピペ or ファイルを指定します。
- リストのIDの種類タイプを選択します。 ... 今回は、「AFFY_ID」と「Gene List」
- Submit List をクリックするとリストが読み込まれます。

Upload Gene List

[Demolist 1](#) [Demolist 2](#)[Upload Help](#)

Step 1: Enter Gene List

A: Paste a list

[Clear](#)

Or

B: Choose From a File

[ファイルを選択](#) 選択されていません Multi-List File [?](#)

Step 2: Select Identifier

[AFFYMETRIX_3PRIME_IVT_ID](#)

Step 3: List Type

 Gene List Background

Step 4: Submit List

[Submit List](#)

← Step 1. Submit your gene list through left panel.

An example:

Copy/paste IDs to "box A" -> Select Identifier as "**Affy_ID**" -> List Type as "**Gene List**" -> Click "**Submit**" button

1007_s_at
1053_at
117_at
121_at
1255_g_at
1294_at
1316_at
1320_at
1405_i_at
1431_at
1438_at
1487_at
1494_f_at

5. アップロードしたリストは、左側バーの「List Manager」で「Uploaded List_1」として保存されています。削除やrenameもできます。

Upload List Background

Gene List Manager

Select to limit annotations by one or more species

[Help](#)

- Use All Species -
Arabidopsis thaliana(2928)
Unknown(1)

[Select Species](#)

List Manager [Help](#)

- List_1

Select List to:

- [Use](#)
- [Rename](#)
- [Remove](#)
- [Combine](#)
- [Show Gene List](#)

[View Unmapped Ids](#)

Analysis Wizard

[Tell us how you like the tool](#)
[Contact us for questions](#)

✓ Step 1. Successfully submitted gene list

Current Gene List: List_1

Current Background: Arabidopsis thaliana

Step 2. Analyze above gene list with one of DAVID tools

[Which DAVID tools to use?](#)[Functional Annotation Tool](#)

- [Functional Annotation Clustering](#)
- [Functional Annotation Chart](#)
- [Functional Annotation Table](#)

6. 解析を続けます。真ん中の「Functional Annotation Tool」をクリックします。
 7. 「Gene Ontology」をクリックすると、Gene Ontologyを用いた解析の細かいメニューが表示されます。

Gene List Manager

Select to limit annotations by one or more species

[Help](#)

- Use All Species -
Arabidopsis thaliana(2928)
Unknown(1)

[Select Species](#)[List Manager](#) [Help](#)

List_1

Select List to:

[Use](#) [Rename](#)
[Remove](#) [Combine](#)
[Show Gene List](#)

[View Unmapped Ids](#)

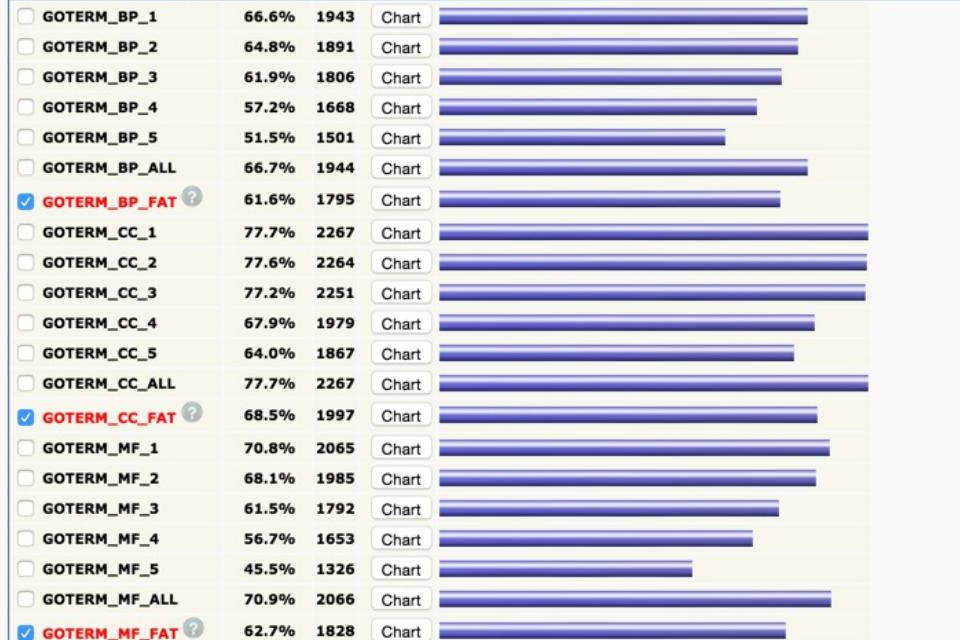
Annotation Summary Results

[Help and Tool Manual](#)

Current Gene List: List_1

Current Background: Arabidopsis thaliana

2916 DAVID IDs

Check Defaults [Clear All](#) Functional_Categories (3 selected) Gene_Ontology (3 selected) General Annotations (0 selected) Literature (0 selected) Main_Accessions (0 selected) Pathways (1 selected) Protein_Domains (3 selected) Protein_Interactions (0 selected) Tissue_Expression (0 selected)

8. 今回は、GOTERM_BP_FAT (BP = Biological Process)に注目します。その右の「Chart」をクリックすると結果がポップアップされます。

Functional Annotation Chart

[Help and Manual](#)

Current Gene List: List_1

Current Background: Arabidopsis thaliana

2916 DAVID IDs

 Options[Rerun Using Options](#) [Create Sublist](#)

301 chart records

[Download File](#)

Sublist	Category	Term	RT	Genes	Count	%	P-Value	Benjamini
<input type="checkbox"/>	GOTERM_BP_FAT	photosynthesis	RT	102	3.5	1.5E-45	2.7E-42	
<input type="checkbox"/>	GOTERM_BP_FAT	photosynthesis, light reaction	RT	56	1.9	6.2E-29	5.7E-26	
<input type="checkbox"/>	GOTERM_BP_FAT	pigment metabolic process	RT	53	1.8	5.7E-21	3.5E-18	
<input type="checkbox"/>	GOTERM_BP_FAT	pigment biosynthetic process	RT	47	1.6	2.6E-19	1.2E-16	
<input type="checkbox"/>	GOTERM_BP_FAT	carboxylic acid biosynthetic process	RT	117	4.0	9.0E-18	3.3E-15	
<input type="checkbox"/>	GOTERM_BP_FAT	organic acid biosynthetic process	RT	117	4.0	9.0E-18	3.3E-15	
<input type="checkbox"/>	GOTERM_BP_FAT	generation of precursor metabolites and energy	RT	111	3.8	2.8E-15	8.4E-13	
<input type="checkbox"/>	GOTERM_BP_FAT	response to abiotic stimulus	RT	241	8.3	1.1E-13	2.8E-11	
<input type="checkbox"/>	GOTERM_BP_FAT	plastid organization	RT	41	1.4	2.9E-13	6.7E-11	
<input type="checkbox"/>	GOTERM_BP_FAT	nitrogen compound biosynthetic process	RT	124	4.3	5.1E-13	1.0E-10	
<input type="checkbox"/>	GOTERM_BP_FAT	heterocycle biosynthetic process	RT	50	1.7	9.6E-13	1.8E-10	

9. タイトル行をクリックするとソートできます。

10. さらに、GOTERM_CC_FAT や GOTERM_MF_FAT を見て、上位にリストされたGOTermにど

のような共通点・相違点があるでしょうか。

- CC = Cellular Component

Functional Annotation Chart

[Help and Manual](#)

Current Gene List: List_1
Current Background: Arabidopsis thaliana
2916 DAVID IDs

Options

[Rerun Using Options](#) [Create Sublist](#)

68 chart records

[Download File](#)

Sublist	Category	Term	RT	Genes	Count	%	P-Value	Benjamini
	GOTERM_CC_FAT	plastid_part	RT		515	17.7	9.0E-190	2.9E-187
	GOTERM_CC_FAT	chloroplast_part	RT		504	17.3	1.1E-187	1.8E-185
	GOTERM_CC_FAT	plastid	RT		987	33.8	1.4E-165	1.5E-163
	GOTERM_CC_FAT	chloroplast	RT		973	33.4	1.3E-164	1.1E-162
	GOTERM_CC_FAT	plastid_thylakoid	RT		230	7.9	7.0E-110	4.6E-108
	GOTERM_CC_FAT	chloroplast_thylakoid	RT		230	7.9	7.0E-110	4.6E-108
	GOTERM_CC_FAT	organelle_subcompartment	RT		230	7.9	4.5E-109	2.4E-107
	GOTERM_CC_FAT	thylakoid	RT		278	9.5	8.0E-109	3.7E-107
	GOTERM_CC_FAT	thylakoid_part	RT		228	7.8	6.0E-105	2.5E-103
	GOTERM_CC_FAT	chloroplast_thylakoid_membrane	RT		200	6.9	4.4E-100	1.6E-98
	GOTERM_CC_FAT	plastid_thylakoid_membrane	RT		200	6.9	4.4E-100	1.6E-98

- MF = Molecular Function

Functional Annotation Chart

[Help and Manual](#)

Current Gene List: List_1
Current Background: Arabidopsis thaliana
2916 DAVID IDs

Options

[Rerun Using Options](#) [Create Sublist](#)

151 chart records

[Download File](#)

Sublist	Category	Term	RT	Genes	Count	%	P-Value	Benjamini
	GOTERM_MF_FAT	cofactor_binding	RT		109	3.7	3.8E-8	4.4E-5
	GOTERM_MF_FAT	chlorophyll_binding	RT		14	0.5	1.5E-5	8.4E-3
	GOTERM_MF_FAT	vitamin_B6_binding	RT		32	1.1	3.4E-5	1.3E-2
	GOTERM_MF_FAT	pyridoxal_phosphate_binding	RT		32	1.1	3.4E-5	1.3E-2
	GOTERM_MF_FAT	poly(U) RNA_binding	RT		11	0.4	4.6E-5	1.3E-2
	GOTERM_MF_FAT	poly-pyrimidine_tract_binding	RT		11	0.4	4.6E-5	1.3E-2
	GOTERM_MF_FAT	ATP-dependent_peptidase_activity	RT		12	0.4	8.3E-5	1.9E-2
	GOTERM_MF_FAT	rRNA_binding	RT		23	0.8	8.5E-5	1.6E-2
	GOTERM_MF_FAT	coenzyme_binding	RT		72	2.5	9.7E-5	1.6E-2
	GOTERM_MF_FAT	vitamin_binding	RT		39	1.3	1.2E-4	1.7E-2

- Pathways > KEGG_PATHWAY や Tissue Expression > UP_TISSUE なども見てみましょう。
- DAVIDで得られた結果を踏まえ、「ある実験」とはどのような実験であったか考察してみましょう。

 - マル秘遺伝子リストは「ある実験の前後の2群間で有意に発現減少した遺伝子群のリスト」
 - 生物種はArabidopsis thaliana (シロイヌナズナ)

答え合わせ <https://github.com/AJACS-training/AJACS59/blob/master/hono/answer.md>

【実習3】これまで学んだことを踏まえて、発現データの結果を生物学的に解釈する

- DAVID の使い方に慣れてきたところで、実戦的な生物学的解釈に挑戦してみましょう。
 - 今回は「正解」はありません。情報分析力と想像力が問われます。
 - 例題は、GSE28619 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/query/acc.cgi?acc=GSE28619> をつかいます。
 - 健常者 vs アルコール性肝炎患者 の2群比較です。
 - 多重比較法 (Benjamini & Hochberg) を指定して、有意水準1%未満かつ2倍以上発現差のあった遺伝子群のリストをあらかじめ用意しました。
 - 「健常者>AH患者_遺伝子リスト」 GEO2R_Ctrl.txt
https://raw.githubusercontent.com/AJACS-training/AJACS59/master/hono/GEO2R_Ctrl.txt
 - 「AH患者>健常者_遺伝子リスト」 GEO2R_AH.txt
https://raw.githubusercontent.com/AJACS-training/AJACS59/master/hono/GEO2R_AH.txt
 - (この遺伝子リストの作り方は、AJACS御茶ノ水の回
<http://doi.org/10.7875/ajacs.2015.007> で解説しています。)
 - DAVID 以外のツールを使ってみる
 - DAVIDでは主にGeneOntologyを見ていましたが、医学・薬学分野に特化した情報を解析対象にしたGeneSetDB <http://genesetdb.auckland.ac.nz/haeremai.html> を使ってみるという手もあります。
 - 統合TVあります → GeneSetDBで遺伝子解析とエンリッチメント解析を行う
<http://doi.org/10.7875/togotv.2016.002>
 - 2:50~ エンリッチメント解析を行う <https://www.youtube.com/watch?v=qqF19PaURsA&feature=youtu.be&t=2m50s>
 - それ以外にもさまざまなエンリッチメント解析ツールが出てきています。
 - GeneTrail2 <https://genetrail2.bioinf.uni-sb.de/>
 - Metascape <http://metascape.org/gp/index.html#/main/step1>
- 一応ひとつの答え
 - このデータを使った論文があります。
 - Transcriptome analysis identifies TNF superfamily receptors as potential therapeutic targets in alcoholic hepatitis.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22637703>
 - Gut. 2013 Mar;62(3):452-60. doi: 10.1136/gutjnl-2011-301146.
 - 似たような結論が導かれましたか？あるいは、著者らが見逃している（かもしれない）着眼点や新たな着想が得られましたか？

まとめ

-
- つまみ食い的ではありますが通り一遍の大規模発現データに対する生物学的解釈の方法を学びました。
 - 「道具」を知って使い方が分かれば、あとは情報分析力と想像力の勝負。
 - ぜひご自身のデータ、あるいはご自身のテーマに関連する公共データの生物学的解釈をしてみましょう。
 - 実戦＝実践あるのみ