

国内出張報告書

提出日 平成 21 年 4 月 9 日



申請者	氏名	加藤 恭丈
	所属・職	医学系研究科（タンパク質複合体 PF）助教
出張期間	平成 21 年 4 月 1 日 ～ 4 月 4 日	
出張先	九州工業大学（情報工学部）・九州大学（生体防御医学研究所）	
出張目的	技術習得	
研究課題名	転写制御ネットワークを構成する因子群の同定	

技術解説・プロトコル・得られた成果など

「転写制御トレーニングワークショップ」（九州工業大学・情報工学部）2009.04.01.~2009.04.02.

遺伝子発現制御に関わる情報の効率的な取得方法を学ぶことができた。

- ワークショップホームページ
<http://qibk26.bio.kyutech.ac.jp/jouhou/TRWS/> ←各講義に利用したソフトなどのダウンロード情報
- The 3rd Virtual Training Workshop on Bioinformatics
<http://qibk21.bio.kyutech.ac.jp/abren2009/abren/> ←各講義とほぼ同じ内容のバーチャル講義集（英語）

1) データベースの利用方法（血井明倫先生）

一番使えるサイト: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Entrez/>



以下の情報サイトにアクセスできる

- 文献データベース: PubMed
- 配列データベース: GenBank, Swiss-PROT
- 構造データベース: Protein Data Bank
- 機能データベース: Prosite
- 分子間相互作用データベース: KEGG
- ゲノムデータベース: GOLD



<http://qibk21.bse.kyutech.ac.jp/tportal/TRP/TRP-j.html>

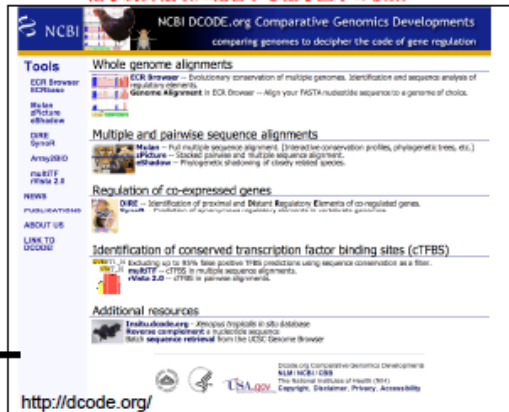
2) 転写制御領域（Christian Schonbach先生）

生物種ごとの遺伝子情報検索



<http://www.ensembl.org/index.html>

転写制御領域に結合する転写因子の検索



- ChIP-seq
- ChIP解析に便利

3) アミノ酸配列情報の解析（山崎俊政先生）

- 多重配列アライメント (CLUSTAL W)

<http://clustalw.dnbj.nig.ac.jp/top-j.html>



- クラスタリング (生物系統樹)

<http://evolution.genetics.washington.edu/phylip.html>



4) 構造情報の解析法 (浜田恵輔先生)

一番使えるサイト: <http://www.pdbj.org/> 蛋白質立体構造のデータベース(PDB)



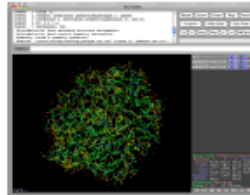
例えばMAT1を検索すると、2P02のPDB ID登録がある。



●立体構造描画ソフト: PyMOL (<http://www.delsci.com/rei/099/>)



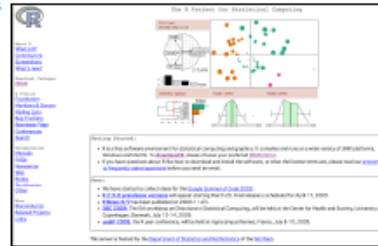
例えば、MAT1の2P02を表示してみると、



単量体だけでなく、多量体表示や分子間の結合様式表示も可能

5) 統計解析 (藤井聡先生)

●RとR Commanderを使った統計解析
<http://www.r-project.org/>



6) マイクロアレイデータの解析 (横井伯英先生) ●RとBioConductorを使った解析

<http://www.bioconductor.org/>

一番使える和文献: 「RとBioconductorを用いたバイオインフォマティクス」 R. ジェントルマン他[編]、荒川和晴他[訳]。Springer 2007

前処理	データ解析	主なアレイの生データを簡単かつ正確に解析する。
<p>正規化 (Normalization) 異なるアレイから得られたデータを比較可能にする。</p> <ul style="list-style-type: none"> Affymetrix型 複数のアレイ間でシグナル強度の平均 (mean, median, または trimmed mean) を補正する。 - MAS 5.0 (Microarray 5.0) Probe Logarithmic Intensity Error (PLIER) Robust Multi-chip Analysis (RMA) <p>・スポット型 [検出レベル] と [信号強度] によるシグナル強度の補正を決定する。 - 総シグナルインテンシティ (Total signal intensity) - Lowess (Locally weighted scatterplot smoothing)</p>	<p>データ解析</p> <ul style="list-style-type: none"> 教師なし解析法 (Unsupervised method): 事前の知識なしにデータの組織付け (内部構造や類似性の解析) を行う。クラスタ解析や主成分分析など。 教師付き解析法 (Supervised method): 事前の知識に基づいて遺伝子群の発現やシグナルの強度を予測。分類器の構築など。 <p>共通事項</p> <ul style="list-style-type: none"> 距離の尺度 (distance measure) 発現量が異なる遺伝子群の抽出 (differential expression) 多重検定の制御 (multiple comparisons) 	<p>↓ 解析後のデータを Gene Spring に持ち込む事も可能</p>
<p>MA-plot アレイデータの検定に有用</p> <p>M (ln(signal)) vs A (ln(2 * signal)) (シグナル強度の差) A (ln(2 * signal)) vs A (ln(2 * signal)) (シグナル強度の和)</p>	<p>発現量が異なる遺伝子群の抽出 複数群と対照群において遺伝子発現レベルに差のある遺伝子群を抽出する。</p> <p>方法:</p> <ul style="list-style-type: none"> 検定なし (Fold change) (1.11倍以上) t検定 (t-test) (20, n=10, alpha=0.05) 線形モデル (Empirical Bayes, Moderated) (2-fold) 非線形モデル (ANOVA) (2-way, alpha=0.05) <p>* Bonferroni test</p>	<p>t検定と線形モデルの比較 Volcano plot (t-test vs fold change)</p> <p>log₂(-log₁₀(p-value)) vs log₂(fold change)</p>

「質量分析装置トレーニング」(九州大学・生体防御医学研究所)2009.04.03.

質量分析機の高感度化とメンテナンス方法を学ぶことができた。

●サンプル調製

1) 精製度の改善法

ZipTipを用いるよりも回収率と精製率がよい。



●ナノキャピラリーカラムの作製



直径10µmキャピラリーチューブを用いる。
先端におもりをつけて、引き裂く。

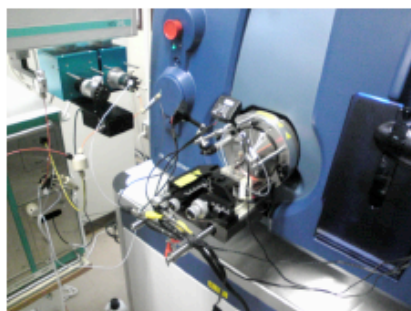


簡易型HPLC(230 Barr)にて、キャピラリー内にポリマーを充填



実体顕微鏡下で、先端をカッターで開ける。

●様々なLC-MSのステージ



アブライドバイオシステム社製・その1



アブライドバイオシステム社製・その2

技術解説・プロトコル・得られた成果など

- ※ 出張後 10 日以内に報告書を提出してください。HP に掲載することがあります。
- ※ 技術解説・プロトコルに焦点をあてたものを記載してください。
- ※ 可能であれば写真も添付してください。
- ※ 用紙が不足する場合は、適宜加えてください。