

## ToxyGATEs (β版) チュートリアルと実習

統合データベース講習会：AJACS 駿河  
2013年1月13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 application interface. The browser address bar displays [targetmine.nibio.go.jp:8080/otgviewer](http://targetmine.nibio.go.jp:8080/otgviewer). The page title is "Toxygates" and the sub-header is "Dataset selection".

A dropdown menu labeled "Value type" is highlighted with a blue box and contains the option "Log2 (fold change)". A blue callout "1.1" points to this menu.

The main content area displays six dataset selection cards in a 3x2 grid:

- Human, In Vitro**: Compounds: N-nitrosomorpholine, rosiglitazone maleate, LPS... (158). Doses: Control, Low, Middle, High. Sample times: 2 hr, 8 hr, 24 hr. A "Select" button is at the bottom right.
- Rat, In Vitro**: Compounds: nefazodone, clozapine, buspirone... (145). Doses: Control, Low, Middle, High. Sample times: 2 hr, 8 hr, 24 hr. A "Select" button is at the bottom right.
- 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 "Select" button is at the bottom right. A blue callout "1.2" points to this "Select" button.
- 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. A "Select" button is at the bottom right.
- 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. A "Select" button is at the bottom right.
- 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. A "Select" button is at the bottom right.

## 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. In the center, a 'Group definition' table is shown with columns for 'Low', 'Medium', and 'High' dosage groups, and rows for 'acetaminophen', 'methapyrilene', and 'nitrofurazone'. Each cell contains checkboxes for time points (3, 6, 9, 24 hr) and an 'All' checkbox. The 'High' group for 'nitrofurazone' at the 24 hr time point is checked. Below the table, the group name 'GSH dep' is entered, and the 'Save' button is highlighted. At the bottom, the 'Next: Select probes' button is highlighted.

	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

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 navigation menu with "Dataset selection >> Column definitions >> Select probes" and a viewing mode of "Rat, Vivo, Liver, Single".

The main section is titled "KEGG pathway search" and contains the following elements:

- A search box with the text "glu" entered.
- A list of search results: "D-Glutamine and D-glutamate metabolism", "Glutamate metabolism", "Glutathione metabolism" (highlighted), "Glycolysis / Gluconeogenesis", and "Pentose and glucuronate interconversions".
- A button labeled "Add selected probes >>" with a blue callout "3.4" pointing to it.
- A "Clear selected probes" button.

Below the KEGG search section are other search options: "GO term search", "ChEMBL targets", "DrugBank targets", and "Free search".

At the bottom, there are two buttons: "Display data with chosen probes" (with a blue callout "3.5" pointing to it) and "Display data with all probes".

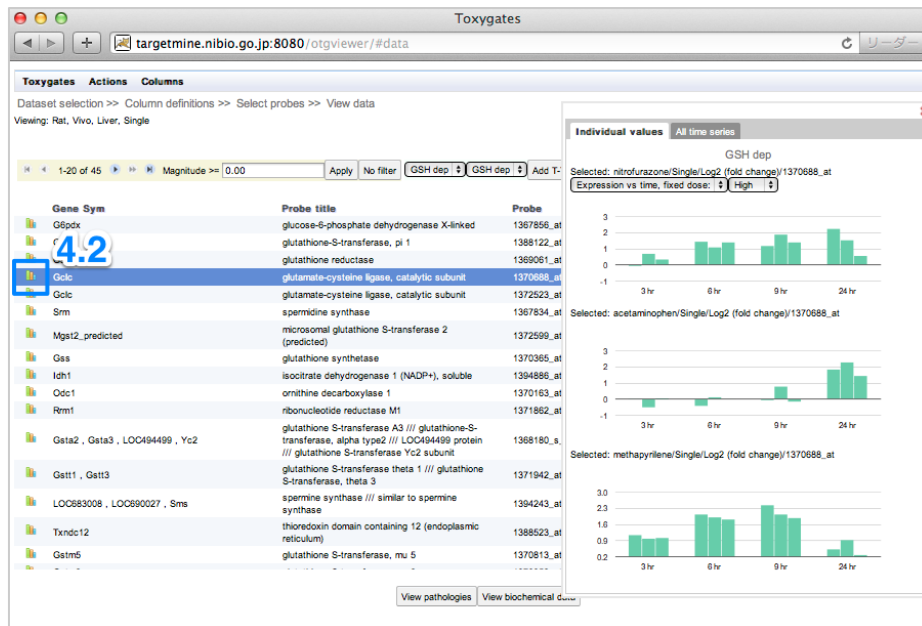
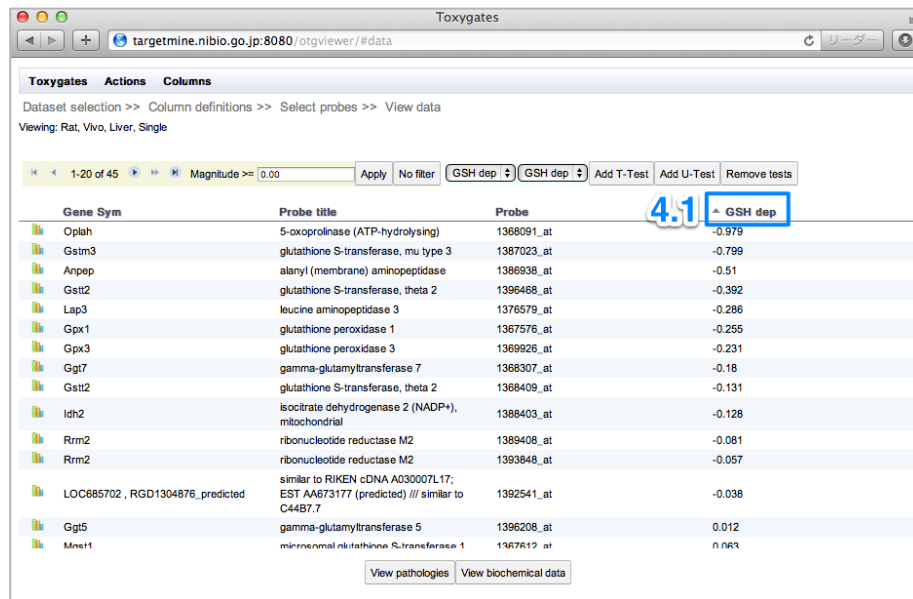
The "Selected probes" list on the right side of the interface contains the following items:

- 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)
- Lap3 (1376579\_at)

#### 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。