

完全長 cDNA ライブラリーを利用したトランスクリプトーム解析と技術開発

●菅野 純夫¹⁾ ◆中井 謙太²⁾ ◆橋本 真一³⁾

1) 東京大学新領域創成科学研究科 2) 東京大学医科学研究所 3) 東京大学医学系研究科

<研究の目的と進め方>

遺伝子発現ネットワーク研究の基盤の形成を目指し、特定領域研究「生命システム情報」及び特定領域研究「比較ゲノム」と連携し、ゲノム研究関連特定研究領域で解析の対象となる真核生物であるメダカ(近縁種2種)、ホヤ(各種)、ナメクジウオ、ギボシムシ、霊長類(各種)、カイコ、コムギ、クラミドモナス等を中心に、完全長 cDNA ライブラリー、5' 端濃縮ライブラリー、5' 端 SAGE(5' SAGE) ライブラリーなどを利用したトランスクリプトーム解析を行い、遺伝子の転写開始点の詳細とそのコアプロモータ領域を同定する。

同時に、コアプロモータ領域の配列情報と EST、SAGE、マイクロアレイ等の遺伝子発現頻度情報を組み合わせた、コアプロモータ領域と転写制御の比較ゲノム解析を行うためのデータベースの作製をおこなう。

さらに、これらトランスクリプトーム解析に関連した技術開発を進める。

<研究開始時の研究計画>

1、特定領域研究「生命システム情報」及び「比較ゲノム」の班員より、RNAの提供を受け、完全長cDNAライブラリー、5'端濃縮ライブラリーを作製し、5'端ESTの決定を行う。

2、技術開発において、まず、現在既に開発に成功している5'端 SAGEライブラリー作製法の確立と、使用RNAの微量化に注力する。また、5'SAGE法を利用したnon-coding RNAの同定及び定量化の開発を目指す。

3、現在作製運用中のDBTSSを中核に、遺伝子発現頻度情報とコアプロモータ領域の配列情報を組み合わせた、比較ゲノム解析のデータベースの枠組みと、そのために必要なツール群を作る。

4、まず、全ゲノム配列が決定した例としてヒトを、次にドラフト配列のみである場合の例としてゼブラフィッシュをターゲットに、遺伝子発現解析用オリゴの最適の設計アルゴリズムを検討する。

5、技術開発において、まず、現在既に開発に成功している5'端 SAGEライブラリー作製法の確立と、使用RNAの微量化に注力する。また、新型超並列シークエンサーを使用した5'配列決定の高速化を実現するために、特別な5'SAGE法を開発する。

6、新型超並列シークエンサーから得られる大量の短鎖配列をゲノム配列へのマッピングの最適アルゴリズムおよび最速アルゴリズムを開発検討し、実際のデータを使って評価を行う。

<研究期間の成果>

1、現在までに、「比較ゲノム」と連携し、ヒメツリガネゴケ 長谷部光泰(基生研)、ゼニゴケとクラミドモナス 福澤秀哉(京大)、タテエリベンモウチュウ 岩部直之(京大)、ショウジョウハエ 相垣敏郎(首都大)、アピコンプレクサ原虫 渡辺純一(東大)、メダカ 堀寛(名大)等につき、総計で、完全長 cDNAライブラリー17種、5'SAGEライブラリー11種類を作製した。

さらに、完全長 cDNAライブラリーをワラビー8種、カイコ1種、ヒトデ2種、馬4種、クラミドモナス4種、ゼニゴケ4種、ヒメツリガネゴケ1種、ゼブラフィッシュ4種、ウシ4種について作成した。また、5'SAGE libraryを、ヒメツリガネゴケ4種、ハエ1種について作成した。一部のライブラリーについては、5' 端の配列決定を進め、計30万のデータを得ている。さらに、それ以上のEST配列決定では、小原グループと連携した。

2、メダカに関しては、最終的に、1,186,742個の5'SAGE tagsを収集してメダカゲノム上に転写開始点を同定し、20,141個の遺伝子を予測した。うち 3,727個は他生物種の遺伝子とホモロジーがなく、無作為に抽出した194遺伝子を検証した結果 約2,900 は新規遺伝子であることが推定された。

3、DNAチップ用のオリゴヌクレオチドプローブをヒト、マウス、出芽酵母の遺伝子について設計し、ヒトについては web からアカデミアに公開した。その他は東大TLOを通じて企業にライセンスリングし、たとえばDNAチップ研究所から製品化されている。

4、また、5'SAGEライブラリー作製法の効率化し、コスト、時間などをそれぞれ半分以下にし、5'SAGE法に使用するRNAの微量化にも成功(5'側の特異的RNA増幅法により、ngレベルのtotal RNAからライブラリーを作製する。)した。さらに、従来の5'SAGE法は転写開始点から20baseを特定することしか出来なかったが、25baseを特定出来る方法を開発した。

5、情報解析では、5'SAGEタグ解析システムを作成し、メダカゲノムプロジェクトに利用した。さらに設計が困難であったゲノム領域についてのマイクロアレイオリゴプローブの設計法の開発やMultiplex genomic PCRの設計方法を開発し、ウェブサーバーから公開した。

6、新しい超並列タイプの454シークエンサーによる高効率5' 端塩基配列決定の条件決定をした。新型シークエンサーでcDNAを読んだ例は世界的になくこれが初めて試みである。新型の超並列シークエンサーを用いた、安価で高速な転写開始点決定法を確立することは今後のゲノム研究にとって極めて重要であると考えている。

さらに、イルミナ社の次世代シーケンサーを用いたトランスクリプトーム解析について、いくつかの方法論的開発を行った。

- 1) オリゴキャップしたcDNAを次世代シーケンサーを用いて配列決定することにより、数日のうちに数千万の転写開始点を決定する方法を開発した。
- 2) クロマチン免疫沈降したDNAサンプルを次世代シーケンスで配列決定するChip-Seq法のプロトコルを確立した。
- 3) 1000クローン程度のクローンDNAを混ぜてショットガンシーケンスを行うことにより、安価迅速に全長配列を決定する方法を開発した。

このように開発した方法を用いて、

- 1) 現在までに、種々のヒト培養細胞の5'tagを、合計で、約4億tag得ている。特に、特定の遺伝子に属するtag数が遺伝子発現レベルと相関することを確認し本法が遺伝子発現解析ツールとしても使用できることを示した。
- 2) 約8万のcDNAクローンの配列決定を行った。

また、1) について、約1億tagを用い得られた各の転写開始点データについて、必要なプラットフォームの整備を行ったうえ、DBTSSを通じて公開した。情報解析では、新型シーケンサーによる5'SAGEタグ解析システムを作成し、メダカゲノムプロジェクトに利用した。

図1 次世代シーケンサーを用いた5'端の解析

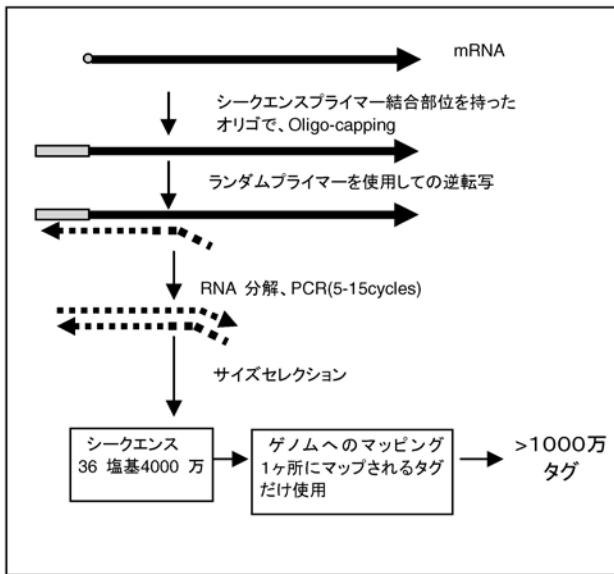
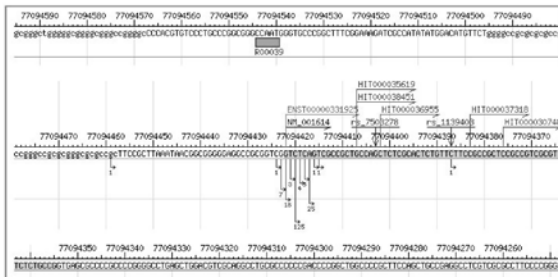


図2 従来法との比較

A: 従来法 2百種類以上の細胞からのデータ使用
150万 EST-tag から得られる 5' 端情報 (γ -actin)



B: 次世代シーケンサーによる方法

1千万 tag から得られる 5' 端情報 (γ -Actin) MCF7 細胞

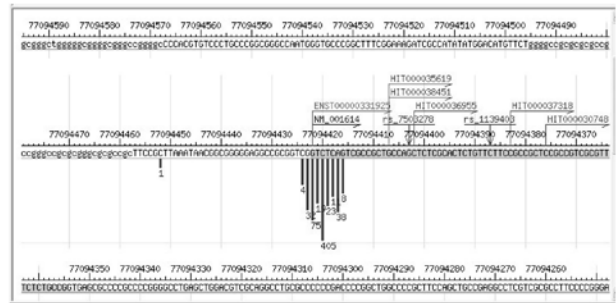
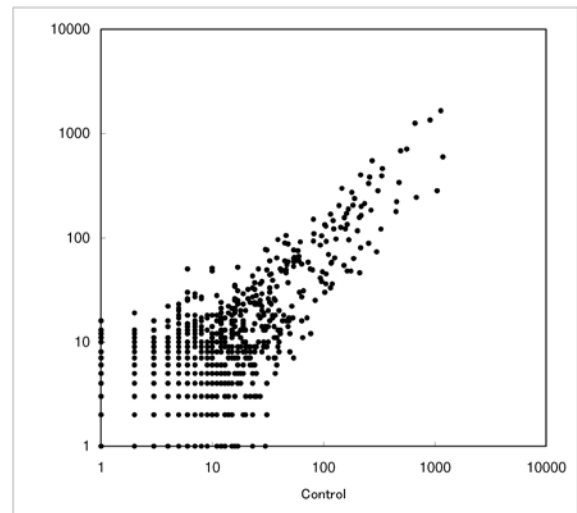


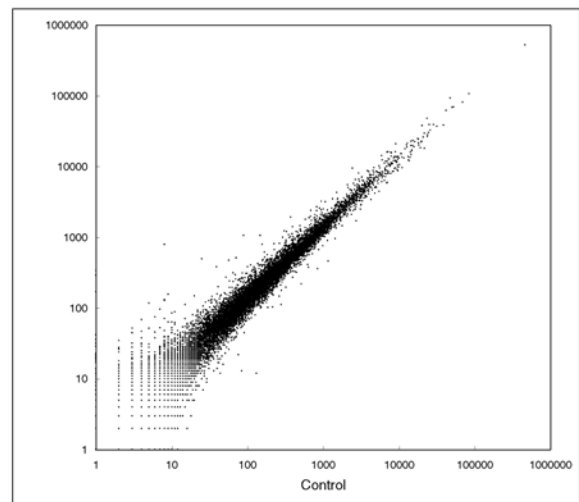
図3 5' SAGE 従来法との比較

A: 従来法、20万 tag が上限 相関係数: 0.852



B: 次世代シーケンサーによる方法

百万から1千万 tag 使用可 相関係数: 0.993



<国内外での成果の位置づけ>

完全長 cDNA ライブラリー、5'SAGE ライブラリーでは、本研究グループは、国内外で優位に立っている。われわれのグループと同等の能力を持つのは、理研の林崎グループだが、彼らはゲノムネットワークプロジェクトでヒトに注力しており、ヒト・マウス以外の生物は、われわれのグループがカバーしている。外国の研究グループからの共同研究の申し出も多く受け、可能な範囲で協力を行っている。

<達成できなかったこと、予想外の困難、その理由>

特になし

<今後の課題、展望>

引き続き、次世代シーケンサーの利用法を開発していく必要がある

現在、試みているのは、

- 1) DNA メチル化の解析法
 - 2) クロマチンの DNA 分解酵素感受性部位の網羅的解析
 - 3) 短鎖 RNA や polyA の無い RNA の解析
 - 4) ゲノムの一部の濃縮法
 - 5) 短い塩基配列を使った新規配列の決定
- などである。

この中で、2 は、ほぼ問題なく出来つつある。4 は、サンプルの調整の難しいものであるが、評価も難しい。5 は、情報解析での課題であるが、ヒトでは難しい。1 や 3 は、両方で課題がある。

次世代シーケンサーを用いた 5'SAGE 法はわれわれのグループに世界的に強みがあるので、情報解析のパイプラインも含め、総合的なプラットフォームを構築出来ればと考えている。しかし、よ大量のデータを処理し始めると、ヒト標準配列の不備(?)、シーケンサーのエラー率の問題等で、自身で解決できない部分が出てきている。世界的な連携も必要であろう。

また、開発した方法の使用法も含め、「比較ゲノム」と連携し、ヒト以外の生物でも他の追従を許さない情報を得るようにしていきたい。

<研究期間の全成果公表リスト>

1) 論文 (査読付き)

1. 603021836 (論文)

Kasai, Y., S.-i. Hashimoto, T. Yamada, J. Sese, S. Sugano, K. Matsushima, and S. Morishita, 5'SAGE: 5'-end Serial Analysis of Gene Expression database., *Nucleic Acids Research*, 33:D550-D552. 2005

2. 603021840 (論文)

Yamashita R, Suzuki Y, Sugano S, Nakai K., Genome-wide analysis reveals strong correlation between CpG islands with nearby transcription start sites of genes and their tissue specificity., *Gene*, 350:129-136, 2005.

3. 603021844 (論文)

Osada N, Hirata M, Tanuma R, Kusuda J, Hida M, Suzuki Y, Sugano S, Gojobori T, Shen CK, Wu CI, Hashimoto K., Substitution Rate and Structural Divergence of 5'UTR Evolution: Comparative Analysis Between Human and Cynomolgus Monkey cDNAs, *Mol Biol Evol.*, 22: 1976-1982, 2005.

4. 603041640 (論文)

Miyajima N, Watanabe M, Ohashi E, Ohmori K, Mochizuki M,

Nishimura R, Ogawa H, Sugano S, Sasaki N., Identification and characterization of a canine highly similar to retinoic acid receptor alpha., *DNA Seq.*, 16: 7-15, 2005.

5. 603041652 (論文)

Otsuki T, Ota T, Nishikawa T, Hayashi K, Suzuki Y, Yamamoto J, Wakamatsu A, Kimura K, Sakamoto K, Hatano N, Kawai Y, Ishii S, Saito K, Kojima S, Sugiyama T, Ono T, Okano K, Yoshikawa Y, Aotsuka S, Sasaki N, Hattori A, Okumura K, Nagai K, Sugano S, Isogai T., Signal Sequence and Keyword Trap in silico for Selection of Full-Length Human cDNAs Encoding Secretion or Membrane Proteins from Oligo-Capped cDNA Libraries., *DNA Res.*, 12: 117-126, 2005.

6. 603041649 (論文)

Nunomura K, Nagano K, Itagaki C, Taoka M, Okamura N, Yamauchi Y, Sugano S, Takahashi N, Izumi T, Isobe T., Cell surface labeling and mass spectrometry reveal diversity of cell-surface markers and signaling molecules expressed in undifferentiated mouse embryonic stem cells, *Mol Cell Proteomics.*, 4:1968-1976, 2005

7. 603041646 (論文)

Nakagawa T, Watanabe M, Ohashi E, Uyama R, Takauji S, Mochizuki M, Nishimura R, Ogawa H, Sugano S, Sasaki N., Cyclopedic protein expression analysis of cultured canine mammary gland adenocarcinoma cells from six tumours., *Res Vet Sci.*, 80:317-323, 2006

8. 603041655 (論文)

Hayashi H, Matsuzaki O, Muramatsu S, Tsuchiya Y, Harada T, Suzuki Y, Sugano S, Matsuda A, Nishida E., Centaurin-alpha 1 is a PI3K dependent activator of ERK1/2 map kinases., *J Biol Chem.*, 281:1332-1337, 2006.

9. 603041657 (論文)

Kimura, K., Watanabe, A., Suzuki, Y., Ota, T., Nishikawa, T., Yamashita, R., Yamamoto, J., Sekine, M., Tsuritani, K., Ishii, S., Sugiyama, T., Saito, K., Isono, Y., Irie, R., Kushida, N., Yoneyama, T., Otsuka, R., Kanda, K., Yokoi, T., Kondo, H., Wagatsuma, M., Murakawa, K., Ishida, S., Ishibashi, T., Takahashi-Fujii, A., Tanase, T., Nagai, K., Kikuchi, H., Nakai, K., Isogai, T., and Sugano, S., Diversification of transcriptional modulation: large-scale identification and characterization of purative alternative promoters of human genes, *Genome Res.*, 16: 55-65, 2006

10. 603041700 (論文)

Yamashita, R., Suzuki, Y., Wakaguri, H., Tsuritani, K., Nakai, K., and Sugano, S., DBTSS: Database of Human Transcription Start Sites, Progress Report 2006, *Nucl. Acids Res.*, 34: D86-D89, 2006

11. 605251147 (論文)

Yamamoto N, Imai J, Watanabe M, Hiroi N, Sugano S, Yoshino G., Restoration of transforming growth factor-beta type II receptor reduces tumorigenicity in the human adrenocortical

- carcinoma SW-13 cell line., *Horm Metab Res.*, 38,159-166 (2006)
12. 605251150 (論文)
Suzuki Y, Sugano S., Transcriptome analyses of human genes and applications for proteome analyses., *Curr Protein Pept Sci.*, 7,147-163 (2006)
13. 605251155 (論文)
Miyajima N, Watanabe M, Ohashi E, Mochizuki M, Nishimura R, Ogawa H, Sugano S, Sasaki N., Relationship between retinoic acid receptor alpha gene expression and growth-inhibitory effect of all-trans retinoic acid on canine tumor cells., *J Vet Intern Med.*, 20, 348-354, (2006)
14. 702102042 (論文)
Funaguma S, Hashimoto S, Suzuki Y, Omuro N, Sugano S, Mita K, Katsuma S, Shimada T, SAGE analysis of early oogenesis in the silkworm, *Bombyx mori.*, *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 37(2): 147-154 (2007)
15. 702102054 (論文)
Cheong J, Yamada Y, Yamashita R, Irie T, Kanai A, Wakaguri H, Nakai K, Ito T, Saito I, Sugano S, Suzuki Y., Diverse DNA methylation statuses at alternative promoters of human genes in various tissues., *DNA Res.*, 13:155-167 (2006)
16. 702102058 (論文)
Takeda J, Suzuki Y, Nakao M, Barrero RA, Koyanagi KO, Jin L, Motono C, Hata H, Isogai T, Nagai K, Otsuki T, Kuryshev V, Shionyu M, Yura K, Go M, Thierry-Mieg J, Thierry-Mieg D, Wiemann S, Nomura N, Sugano S, Gojobori T, Imanishi T., Large-scale identification and characterization of alternative splicing variants of human gene transcripts using 56,419 completely sequenced and manually annotated full-length cDNAs., *Nucleic Acids Res.*, 34:3917-3928 (2006)
17. 702102101 (論文)
Khan A, Bohme U, Kelly KA, Adlem E, Brooks K, Simmonds M, Mungall K, Quail MA, Arrowsmith C, Chillingworth T, Churcher C, Harris D, Collins M, Fosker N, Fraser A, Hance Z, Jagels K, Moule S, Murphy L, O'Neil S, Rajandream MA, Saunders D, Seeger K, Whitehead S, Mayr T, Xuan X, Watanabe J, Suzuki Y, Wakaguri H, Sugano S, Sugimoto C, Paulsen I, Mackey AJ, Roos DS, Hall N, Berriman M, Barrell B, Sibley LD, Ajioka JW., Common inheritance of chromosome Ia associated with clonal expansion of *Toxoplasma gondii.*, *Genome Res.*, 16:1119-1125 (2006)
18. 702102105 (論文)
Osawa A, Kato M, Matsumoto E, Iwase K, Sugimoto T, Matsui T, Ishikura H, Sugano S, Kurosawa H, Takiguchi M, Seki N., Activation of genes for growth factor and cytokine pathways late in chondrogenic differentiation of ATDC5 cells., *Genomics.*, 88(1):52-64 (2006)
19. 702102110 (論文)
Yamamoto K, Ohishi M, Katsuya T, Ito N, Ikushima M, Kaibe M, Tataru Y, Shiota A, Sugano S, Takeda S, Rakugi H, Ogihara T., Deletion of angiotensin-converting enzyme 2 accelerates pressure overload-induced cardiac dysfunction by increasing local angiotensin II., *Hypertension.*, 47:718-726 (2006)
20. 702102044 (論文)
Watanabe J, Wakaguri H, Sasaki M, Suzuki Y, Sugano S., Comparasite: a database for comparative study of transcriptomes of parasites defined by full-length cDNAs., *Nucleic Acids Res.*, 35:D431-438, (2007)
21. 702102047 (論文)
Wang HY, Chien HC, Osada N, Hashimoto K, Sugano S, Gojobori T, Chou CK, Tsai SF, Wu CI, Shen CK., Rate of Evolution in Brain-Expressed Genes in Humans and Other Primates., *PLoS Biol.*, 2006 Dec 26;5:e13 [Epub ahead of print]
22. 702102051 (論文)
Takeda JI, Suzuki Y, Nakao M, Kuroda T, Sugano S, Gojobori T, Imanishi T., H-DBAS: Alternative splicing database of completely sequenced and manually annotated full-length cDNAs based on H-Invitational., *Nucleic Acids Res.*, 35(1):D104-109 (2007)
23. 801231936 (論文)
Sakakibara Y, Irie T, Suzuki Y, Yamashita R, Wakaguri H, Kanai A, Chiba J, Takagi T, Mizushima-Sugano J, Hashimoto SI, Nakai K, Sugano S., Intrinsic Promoter Activities of Primary DNA Sequences in the Human Genome., *DNA Res.*, 14, 71-77 (2007)
24. 801231941 (論文)
Kasahara M, Naruse K, Sasaki S, Nakatani Y, Qu W, Ahsan B, Yamada T, Nagayasu Y, Doi K, Kasai Y, et al, The medaka draft genome and insights into vertebrate genome evolution., *Nature*, 447, 714-719 (2007)
25. 801231948 (論文)
Tsuritani K, Irie T, Yamashita R, Sakakibara Y, Wakaguri H, Kanai A, Mizushima-Sugano J, Sugano S, Nakai K, Suzuki Y., Distinct class of putative non-conserved promoters in humans: Comparative studies of alternative promoters of human and mouse genes., *Genome Res.*, 17, 1005-1014 (2007)
26. 801231952 (論文)
Muramatsu S, Wakabayashi M, Ohno T, Amano K, Ooishi R, Sugahara T, Shiojiri S, Tashiro K, Suzuki Y, Nishimura R, Kuhara S, Sugano S, Yoneda T, Matsuda A., Functional gene screening system identified TRPV4 as a regulator of chondrogenic differentiation, *J Biol Chem.*, 282, 32158-32167 (2007)
27. 801231957 (論文)
Yamamoto YY, Ichida H, Abe T, Suzuki Y, Sugano S, Obokata J., Differentiation of core promoter architecture between plants and mammals revealed by LDSS analysis., *Nucleic Acids Res.*, 35, 6219-6226 (2007)

28. 801232001 (論文)
Okabe T, Ohmori Y, Tanigami A, Hishigaki H, Suzuki Y, Sugano S, Kawaguchi A, Nakaya H, Wakitani S., Detection of gene expression in synovium of patients with osteoarthritis using a random sequencing method., *Acta Orthop.*, 78, 687-692 (2007)
29. 801232011 (論文)
Rensing SA, et al, The Physcomitrella genome reveals evolutionary insights into the conquest of land by plants., *Science*, 319, 64-69 (2008)
30. 801232028 (論文)
Wakaguri H, Yamashita R, Suzuki Y, Sugano S, Nakai K., DBTSS: database of transcription start sites, progress report 2008., *Nucleic Acids Res*, 36, D97-D100 (2008)
31. 801232033 (論文)
Ahsan B, Kobayashi D, Yamada T, et al., UTGB/medaka: genomic resource database for medaka biology., *Nucleic Acids Res.*, 36, D747-D752 (2008)
32. 806171335 (論文)
Yamashita R, Suzuki Y, Takeuchi N, Wakaguri H, Ueda T, Sugano S, Nakai K., Comprehensive detection of human terminal oligo-pyrimidine (TOP) genes and analysis of their characteristics, *Nucleic Acids Res.*, 2008 May 4
33. 806171337 (論文)
Davuluri RV, Suzuki Y, Sugano S, Plass C, Huang TH., The functional consequences of alternative promoter use in mammalian genomes., *Trends Genet.*, 24:167-177, (2008)
34. 806171340 (論文)
Osada N, Hashimoto K, Kameoka Y, Hirata M, Tanuma R, Uno Y, Inoue I, Hida M, Suzuki Y, Sugano S, Terao K, Kusuda J, Takahashi I., Large-scale analysis of *Macaca fascicularis* transcripts and inference of genetic divergence between *M. fascicularis* and *M. mulatta*., *BMC Genomics*, 008 Feb 24;9:90
35. 806171343 (論文)
Uno Y, Suzuki Y, Wakaguri H, Sakamoto Y, Sano H, Osada N, Hashimoto K, Sugano S, Inoue I., Expressed sequence tags from cynomolgus monkey (*Macaca fascicularis*) liver: A systematic identification of drug-metabolizing enzymes., *FEBS Lett.*, 582:351-358, (2008).
36. 901110945 (論文)
Takeda J, Suzuki Y, Sakate R, Sato Y, Seki M, Irie T, Takeuchi N, Ueda T, Nakao M, Sugano S, Gojobori T, Imanishi T., Low conservation and species-specific evolution of alternative splicing in humans and mice: comparative genomics analysis using well-annotated full-length cDNAs., *Nucleic Acids Res*, 36: 6386-6395, (2008)
37. 901110953 (論文)
Lee YS, Choi SL, Kim TH, Lee JA, Kim HK, Kim H, Jang DJ, Lee JJ, Lee S, Sin GS, Kim CB, Suzuki Y, Sugano S, Kubo T, Moroz LL, Kandel ER, Bhak J, Kaang BK, Transcriptome analysis and identification of regulators for long-term plasticity in *Aplysia kurodai*., *Proc Natl Acad Sci USA*, 105:18602-18607, (2008)
38. 901111005 (論文)
Yoshikawa F, Sato Y, Tohyama K, Akagi T, Hashikawa T, Nagakura-Takagi Y, Sekine Y, Morita N, Baba H, Suzuki Y, Sugano S, Sato A, Furuichi T, Opalin, a transmembrane sialylglycoprotein located in the CNS myelin paranodal loop membrane., *J Biol Chem*, 283:20830-20840,(2008)
39. 903112308 (論文)
International Silkworm Genome Consortium, The genome of a lepidopteran model insect, the silkworm *Bombyx mori*., *Insect Biochem Mol Biol.*, 38:1036-1045, (2008).
40. 901111023 (論文)
Hashimoto S, Qu W, Ahsan B, Ogoshi K, Sasaki A, Nakatani Y, Lee Y, Ogawa M, Ametani A, Suzuki Y, Sugano S, Lee CC, Nutter RC, Morishita S, Matsushima K., High-resolution analysis of the 5'-end transcriptome using a next generation DNA sequencer, *PLoS ONE*, 4:e4108, (2009)
41. 901111151 (論文)
Oyama M, Kozuka-Hata H, Tasaki S, Semba K, Hattori S, Sugano S, Inoue JI, Yamamoto T, Temporal perturbation of tyrosine-phosphoproteome dynamics reveals the system-wide regulatory networks., *Mol Cell Proteomics*, 2008 Sep 24. [Epub ahead of print]
42. 903112258 (論文)
Tsuchihara K, Suzuki Y, Wakaguri H, Irie T, Tanimoto K, Hashimoto SI, Matsushima K, Mizushima-Sugano J, Yamashita R, Nakai K, Bentley D, Esumi H, Sugano S., Massive transcriptional start site analysis of human genes in hypoxia cells., *Nucleic Acids Res.*, 2009 Feb 22. [Epub ahead of print]
43. 901111011 (プロシーディングス)
Wakaguri H, Suzuki Y, Katayama T, Kawashima S, Kibukawa E, Hiranuka K, Sasaki M, Sugano S, Watanabe J., Full-Malaria/Parasites and Full-Arthropods: databases of full-length cDNAs of parasites and arthropods, update 2009, *Nucleic Acids Res*, 37:D520-525, (2009)
44. 903112314 (論文)
Hiwasa T, Shimada H, Kuboshima M, Shiratori T, Kagaya A, Nabeya Y, Sugano S, Ochiai T, Matsubara H, Takiguchi M., Decrease in chemosensitivity against anticancer drugs by an esophageal squamous cell carcinoma SEREX antigen, AISEC., *Int J Oncol.*, 34: 641-648, (2009)

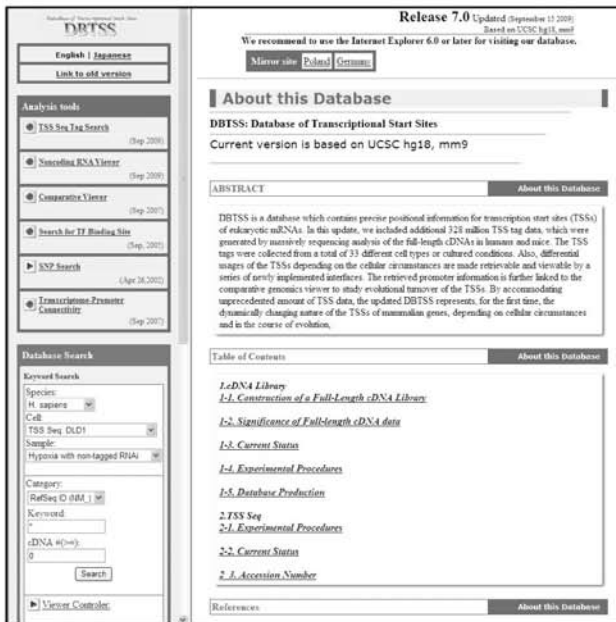
4) データベース/ソフトウェア

データベース公開 (DB名、URL、簡潔な内容紹介)

DB名 : DBTSS URL : <http://dbtss.hgc.jp/>

各種生物の転写開始点の情報をデータベースとしたもの。現在は、ヒトとマウスが多いが、今後他の生物を充実。なお、5'SAGE の HEK293 と Ramos の 配列データに関しては、<http://5sage.gi.k.u-tokyo.ac.jp/>にて、生データを公開している。

図4 DBTSS : フロントページ



DB名 : PrimerStation

URL : <http://ps.cb.k.u-tokyo.ac.jp/index.html>

PrimerStation は全ヒトゲノムに対して非常に高い特異性を持つ最適なプライマセットを計算するウェブサービス。本設計方法では高い精度を出すためにプライマの溶液中での会合率を用いる。会合率で厳格に計算するのは非常に計算時間がかかるため、これまでこのような物理化学モデルで計算し全ヒトゲノムに対してチェックをするようなウェブサービスはなかった。

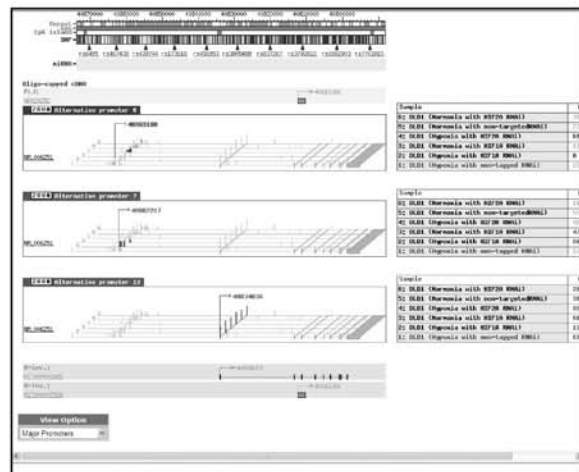


図5 DBTSS : 細胞別・選択プロモーターの図示