

# 審査の結果の要旨

氏名 ガーネゴルモハンマディ ファルザン

本論文は3章からなり、第1章は出芽酵母の CalMorph 形態パラメータの単峰性の解析、第2章は一般線形モデル (GLM) とガウシアン混合モデル (GMM) を用いたグルカン合成酵素温度感受性変異株のクラスタリング、第3章は出芽酵母の細胞壁マンノプロテインの形態フェノタイピングについて述べられている。

形態学は、遺伝的または環境的摂動によって影響され得る生物の基本的な表現型の特徴の一つである。画像処理ソフトウェアの急速な進歩により、真核細胞の定量的形態学的データを取得することが可能になってきた。例えば、CalMorph は出芽酵母 *Saccharomyces cerevisiae* の高次元形態学的表現型の研究に広く使用されてきた。細胞集団の分布は通常多峰性を示す。多峰性を示した場合には統計モデルが複雑になることが知られている。それ故、単峰性のパラメータを用いた統計的アプローチは形態学的表現型決定のために高い需要がある。しかしながら、CalMorph によって抽出された形態学的パラメータが単峰性であるかどうかは従来不明なままであった。そこで、本研究では、CalMorph 形態パラメータの中の単峰性パラメータを同定した。単峰性の形態学的パラメータを使用する新しいアプローチによって、GLMを適用して、1, 3- $\beta$ -グルカン合成酵素 (GS) の触媒サブユニット内の新規機能ドメインを見つけ、32個の細胞壁マンノプロテイン変異体をクラスター化することを目的とした。

第1章ではまず、CalMorph によって定量化された出芽酵母形態学的形質の単峰性をチェックするために、細胞壁、アクチン、および核DNAを染色後、野生型細胞の形態学的データセット (BY4743,  $n = 114$ ) を用いた。単峰性であるかどうかを確認するために、確率論的混合モデリング法を使用した。まずこれにより、501 の CalMorph の形態パラメータにより 426 個のパラメータが単峰性であることがわかった。続いて交絡因子 (使用する顕微鏡および画像取得期間を含む5つの因子の群) の統計モデルへの適用および3SD規則による異常値の除去によって、残りのパラメータのうち64個で多峰性が説明された。これらを合わせると490個の単峰性パラメーターが検出され、全体として 98.7% の CalMorph パラメータは単峰性を示すことが明らかになった。

第2章では、前章で明らかになった 490 単峰性パラメータを使用して温度感受性グルカン合成酵素変異体のクラスタリング解析を行った。GLM による線形変換の後、有意な形態学的異常を Wald 検定によって評価した。490個のうち、353個のパラメータは、帰無分布と比較して少なくとも1つの変異体において統計的に有意な差を示した。最初の3つの主成分を用いた GMM クラスタリングは、以前には同定されていなかった *fks1-1093* (Y710H) に対する新しい単一クラスタを含む4つのクラスタの混合を明らかにした。さらに、*fks1-1093* が2つの核を有する細胞を高い割合で含む特異的な形態学的特徴を示すことを示した。したがって、*fks1-1093* は、出芽または芽の形態形成において欠損を持っていると考えられた。こうして、単峰性パラメータと GMM クラスタリングを用いることにより、GS の新しい機能ドメインを発見することができた。

第3章では、490 単峰性パラメータを使用して細胞壁で働く各マンノプロテインが果たす機能を明らかにしようとした。そのためにまず、26個のグリコシルホスファチジルイノシトール (GPI) および6個の非GPI細胞壁マンノプロテインに欠陥のある突然変異体の形態学的データセットを取

集した。ANOVAモデルを適用した後、細胞壁変異体( $n = 5$ )における形態学的異常を、各パラメータについて野生型株( $n = 21$ )と比較することによってチェックした。490個の単峰性パラメータのうち、134個のパラメータが少なくとも1つの変異体において有意差を示し、GMMにより、9つのクラスターに分かれることが明らかになった。9つのクラスターのうち、5つのクラスターのメンバー(I、V、VI、VII、およびIX、合計7つの変異体)は明らかな形態学的欠陥を示し、これらのタンパク質の機能的欠陥によって表現型がよく説明された。以上の解析より、単峰性のCalMorphパラメータとパラメトリック解析の組み合わせは、形態学的解析のための高感度なアプローチを提供し、表現型研究のための新しい有効な基盤を構築することを明らかにした。

なお、本論文第3章は、劉亜軒、大貫慎輔、大矢禎一との共同研究であるが、論文提出者が主体となって分析及び検証を行ったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

したがって、博士(生命科学)の学位を授与できると認める。

以上 1992 字