

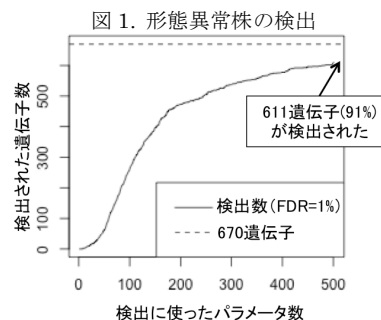
【序論】

出芽酵母の必須遺伝子は多くの重要な細胞プロセスに関与しており、その変異株の表現型解析は生命の基本システムの理解するために大きな貢献をしてきた。なかでも温度感受性変異(TS)は温度によって遺伝子機能をコントロールできるという点で優れており、多くの遺伝学的、細胞生物学的研究で利用されてきた。一方、出芽酵母の形態は細胞周期の進行や極性の形成、大きさの制御など様々な細胞内プロセスを反映していることが明らかになり、当研究室で開発された画像解析ソフト CalMorph を使って形態表現型を定量的に解析することが可能になった。細胞増殖に必須ではない非必須遺伝子については遺伝子欠損株の網羅的な表現型解析によって遺伝子機能と形態表現型の相関関係が明らかになったが(Ohya, Y. et al., 2005)、必須遺伝子については網羅的な解析はまだ行われていなかった。そこで本研究では新たに 670 の必須遺伝子を網羅する 774 の TS 株について、非制限温度で培養した細胞の形態情報を取得して表現型解析を行った。本研究で用いる必須遺伝子 TS 株セットは全出芽酵母必須遺伝子の約 60% をカバーしており、現在利用できるものとしては最大規模 (Zhijian, L. et al., 2011) (Ben-Aroya, S. et al., 2008) である。

【結果・考察】

1. 形態異常株の検出

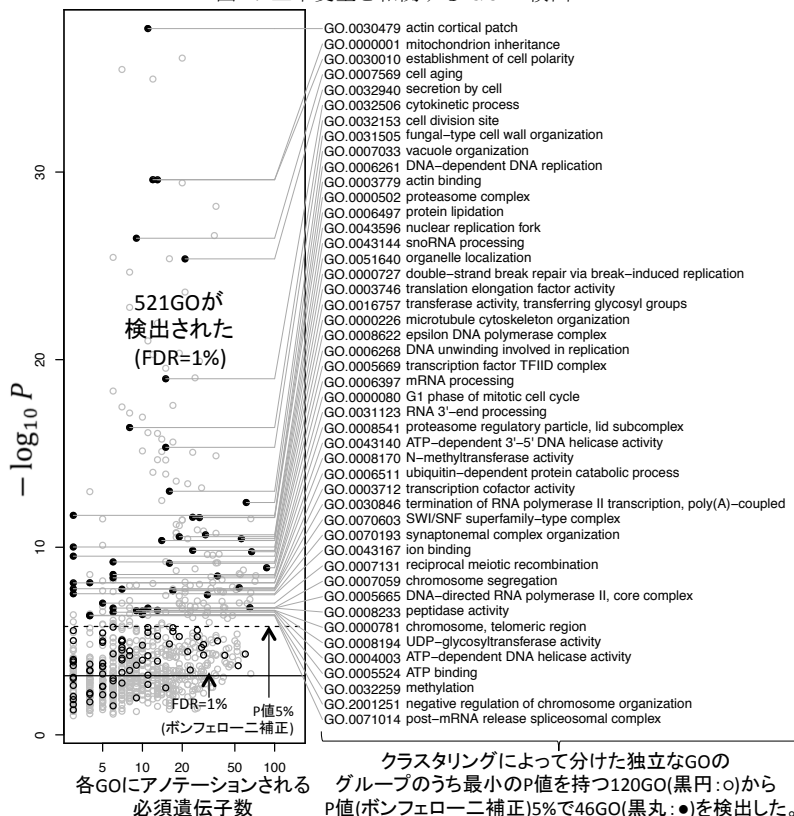
野性型と有意に異なる形態異常を持つ TS 株を特定するため、全 501 形態パラメータにおいて一般化線形モデル (GLM) を用いて最尤推定した野性型の確立分布を求めた後に、TS 株の両側一標本検定を行った。その結果 611 遺伝子 (91%) の TS 株でいずれかのパラメータで形態異常が検出された (FDR=1%) (図 1)。



2. 既知の遺伝子機能と関連した形態情報の抽出

形態異常を示した TS 株において遺伝子機能と関連する形態成分を抽出するため、形態情報と既知の遺伝子機能情報 (Gene Ontology、GO) との間で正準相関分析 (CCA) を行い、遺伝子機能と相関し、かつ互いに独立した形態表現型を表す 35 の形態成分 (正準変量) を得た。各 GO へのアノテーションを水準として各正準変量の一元配置分散分析を行った結果、TS 株の遺伝子機能を表す 851GO 中、60.9% を占める

図 2. 正準変量と相関する GO の検出



521GO が有意に形態表現型と関連していた (FDR=1%)。従って、CCA によって TS 株の形態情報から様々な遺伝子機能と有意に相関する成分が抽出できることがわかった (図 2)。

3. 遺伝子機能内・機能間における形態表現型の正と負の相関

TS 株の形態表現型の類似性を調べるために、形態表現型を表す正準変量の正準得点を用いて TS 株間の相関係数を計算した。二つ

の GO 間で比較すると、TS 株の相関係数の平均値は正から負に渡って広く分布していた (図 3)。したがって、異なる遺伝子機能間では TS 株の形態は組み合わせによって正や負の相関を示すものが存在することがわかった。一方、同じ GO 内で比較すると、TS 株間の相関係数の平均値は正に偏って分布していた (図 3)。したがって、同じ遺伝子機能を持つ遺伝子の TS 株の形態は多くの場合類似していることがわかった。

具体的にどの TS 変異株の形態表現型が類似しているかを調べるために、GO 内の相関係数の平均が最も高い 17GO にアノテーションされる 65 遺伝子の TS 株間の相関係数のヒートマップ図を描いた (図 4A)。

GPI-anchoring に関わる 3 つの GO とタンパク質の N-グリコシル化に関わる 1 つの GO にアノテーションされる遺伝子の TS 株の

形態的特徴に強い正の相関が見られた (図 4B、黒線)。出芽酵母では GPI-結合タンパクの多くは N-グリコシル化されている (Caro et al.,1997) ことから、これら 4 つの GO にアノテーションされる遺伝子の TS 株の形態表現型が類似していると考察した。また、このヒートマップ図では、負に相関している GO 間の組み合わせも見られた (図 4A、白色)。例えばタンパク質合成に関わる GO (nuclear ribonuclease P 複合体) とタンパク質分解に関わる GO (proteasome コア複合体 β サブユニット) の二つの GO 間で負に相関していた (図 4C、グレー線)。これら TS 株における形態的特徴における負の相関は 2 つの GO が機能的に反対の関係にあるからだと考察した。

【結論】

今回はじめて必須遺伝子の変異株に関する網羅的な形態表現型解析を行い、非制限温度条件下でも解析した中の 9 割以上の TS 株が顕著な形態表現型を示すことがわかった。TS 株の形態表現型に有意に相関している遺伝子機能を特定することができたとともに、機能的に関係する遺伝子の TS 変異株の形態表現型が類似していることが明らかになった。

図 3. GO 内・GO 間平均相関係数

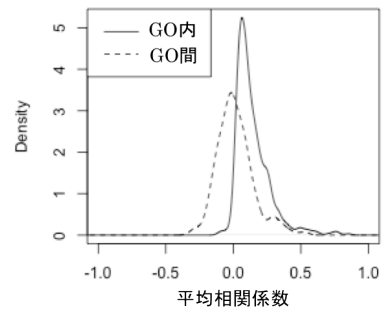


図 4. 相関係数のヒートマップ図と GO 間の類似性の例示

