課題名 遺伝子破壊株イメージ・マイニング

代表研究者 東京大学大学院新領域創成科学研究科 教授 森下 真一

1. 代表研究者による成果概要報告

1-1. 研究目的

従来、個々の遺伝子機能を明らかにする有力な手法として、ある遺伝子を欠失させた細胞が、正常に働いている細胞と比べて、どのような変化を示すのかという表現型を詳細に解析し、その因果関係を追及するという方法が取られてきた。しかし、遺伝子機能を体系的に理解するために、この手法を網羅的に実行しようとするならば、一つ一つの遺伝子を欠損させた細胞が必要である。さらにいかに各遺伝子の機能欠損を反映した表現型を効率よく見つけ出すことができるかという点でも非常に困難である。このような背景から、網羅的な遺伝子欠損株の表現型解析は未開拓であり、表現型情報の不足は遺伝子機能の体系的な理解を遅らせている原因と考えられた。そこで、我々はゲノム配列の解読が完了しゲノムにコードされる遺伝子が明らかにされている出芽酵母を系として用い、遺伝学的解析手法が強力に発揮できる利点を活かし、既に構築されている網羅的な遺伝子破壊株を実験材料として、個々の遺伝子破壊株が示す細胞形態の異常性に着目して解析をおこなうアプローチをとった。

1-2. 研究開発概要

我々が細胞形態の異常性を表現型として解析した理由は、その制御機構が生育環境や増殖過程と密接に連携しており、非常に多くの遺伝子産物の協調的な働きによって維持されていると考えられることから、これを解析することで、より多くの遺伝子機能に関する知見が得られると期待したためである。各組織や諸器官を形成する細胞種特有の多様な形態形成メカニズムを解明することは生物学の大きなテーマの一つであるが、そのメカニズムの全貌を明らかにするためにも、単一細胞である出芽酵母の形態形成メカニズムを理解することが必須であると考えられる。この目標を実現するには、網羅的に作製された遺伝子破壊株の形態的特徴を表現型の一つとして客観的かつ定量的な情報で表し、迅速に抽出して比較分類することにより、形態制御に関わる新たな因子を同定し、各遺伝子産物の機能予測を行うための情報基盤を確立することが重要である。

そこでまず、出芽酵母遺伝子破壊株の細胞形態及び細胞内構造の状態を撮影した顕微鏡写真を網羅的にかつ高速に収集するための研究設備を整え人材を確保した。つづいて細胞の大きさ、細長さ、芽の位置などの細胞形態情報を定量的データとして取得する画像処理ソフトウェアを研究開発した。非必須遺伝子を破壊した場合、その表現型は微細な変化として表れる。そのため、小さな変化を正確に計測する必要があった。さらに野生株と比較して破壊株の表現型が微小であっても有意に変化していることを結論付けるため、必要かつ十分なサンプル数を確保した（一つの破壊株あたり 200

細胞以上)。定量性を保証でき、かつ正規分布に近似できた形態パラメータは 254 個であり、少なくとも一つの形態パラメータで異常を示す非必須遺伝子破壊株(総数 4,784 個)の数を、両側検定の閾値を各々 2×10^{-4} , 2×10^{-5} , 2×10^{-6} に分けて調べた結果、各々 2,378 個、1,685 個、1,280 個が異常と判定された。野生株(サンプル数 126 個)が誤って異常と判定される懸念もあったが、閾値 2×10^{-4} のとき 1 個の野生株サンプルがある形態パラメータで形態異常となり、閾値 2×10^{-5} のとき異常なサンプルは消失した。このように非必須遺伝子を破壊しても、多くの遺伝子破壊株に形態変化が見られることが分かった。そこで表現型変化を通じて遺伝子の機能を予測することに取り組み、つぎに述べる研究成果を得た。

1-3. 研究成果概要

定量的な形態情報から破壊株をグループに分類してみたところ、酵母細胞の形態と遺伝子機能との間に強い関連があることが示された。このことから、各グループに存在する機能既知遺伝子の特徴を抽出し、グループ内で機能が知られていない遺伝子の機能を推測できる可能性が示唆された。そこで、モデルケースとして DNA 損傷の修復機構に着目し予測を試みた。DNA 損傷は紫外線や放射線、化学物質などの外的要因の他、培養時間の経過や異常な DNA 複製などの内的要因によっても発生する。DNA 損傷は遺伝情報に変化をもたらす、生物にとって有害なことが多いため、生物はその修復システムを複数持っている。DNA 修復に関わる遺伝子群の破壊株で異常値を示す形態パラメータで破壊株を分類したところ、GO term が機能未知である遺伝子 SAC3 と DIA2 の破壊株が DNA 修復に関わる遺伝子群と同じグループへ分類されていた。更に詳しく調べたところ、確かにこの 2 つの遺伝子破壊株が DNA 損傷剤に対して感受性を示したことから、2 つの遺伝子が DNA 損傷の修復に関与していることが示唆された。別のモデルケースとして、細胞壁合成に関与する遺伝子群でも予測を行ったところ、予測された遺伝子の破壊株では、ほとんどすべてで細胞壁に何らかの異常があることがわかり、予測の汎用性が示された (Ohya et al. PNAS, 2005)。遺伝子破壊株イメージ・マイニングは、表現型データの網羅的収集と解析をおこなうフェノーム研究の典型として国際的にも評価され、たとえば以下の解説記事で紹介されている。

Patrick Goymer: Shaping up the genome. Nature Review Genetics, Vol.7, Feb. 2006; 79
画像データをイメージ・マイニングした結果はウェブサイト SCMD より 2003 年夏から公開している。2005 年 10 月から 2006 年 9 月までの 1 年間の利用状況はヒット数約 775 万、ユーザー数約 246,000 である。酵母研究のポータルサイト SGD と相互リンクしており出芽酵母研究での国際的認知度は高い。変異体画像をイメージ・マイニングする研究アプローチは、出芽酵母に留まらずショウジョウバエ、分裂酵母、真菌、シアノバクテリア、メダカ等のモデル生物の研究へ影響し広がっている。

2. 事後評価結果

2-1. 当初計画の達成度

○当初の研究開発計画から見た達成度等はどうか

出芽酵母形態異常の網羅的解析を行った結果、表現型異常が遺伝子機能を推定する一つのモデルになり得ることを示すことが出来たという点で計画通りに進行したと言える。このように単純と思える測定を基本から行った点は重要である。

○ 当初計画では想定されていなかった新たな展開が生じたか

形態異常のパラメータや異常を示す遺伝子破壊株の数が想定以上に多かったが、それらが成果の質に反映され望ましい展開となった。パラメータが予想以上に収集されているが、正規分布という仮定のため、その解析という意味では十分とは言い難い部分がある。今回の成果が外部との共同研究に発展しており、その意味でも望ましい方向に進んだと言える。

2-2. 知的財産権、外部発表（論文等）等研究開発成果の状況

公開されたデータベース、ソフトウェアへの多数のアクセスや遺伝子機能解析を含む学術論文の発表など、評価すべき成果が出ていると思われる。また外部発表のみでなく、発展的に外部との共同研究が行われている点も評価できる。

2-3. 研究開発成果の公開による波及効果

○データベース・プログラムや論文、学会発表など、これまでの成果公開によるバイオインフォマティクス領域およびライフサイエンス分野全体への影響や効果はどうか。

公開されたデータベースなどへのアクセス数の多さから、特定の研究分野へのインパクトは大きいことが分かる。しかし、解析が行われたのは出芽酵母の形態異常という限定された分野のため、現段階でライフサイエンス分野全体への影響までは及んでいないと思われる。

○国内外の類似研究開発の動向と比較して本課題の意義はどうか。

客観的で自動的な特徴抽出による表現型のデータベース化の思想は重要であり、国内外からのアクセスの多さを見ても意義の大きさがよくわかる。特に、今後期待される異なる分野への応用を可能にした、あるいは応用を考えさせるようにした成果の意義は大きい。

2-4. 成果の実用化の可能性及び成果から予想される波及効果

○今後、成果の生命科学、研究基盤、産業への貢献度はどう見込まれるか。

今回の成果は単細胞でのものであったが、今後のライフサイエンス・産業への貢献度は、多細胞系への展開がどの様になされるか、その範囲と質に依ると考えられる。

2-5. 総合評価

従来にない特徴のある研究アプローチを示し、フェノーム研究の一典型としての評価をうけている。また必須遺伝子の機能予測についても高い可能性を示したことは、極めて意義が大きい。一方、形態と遺伝子のギャップは未だ存在し、そこをうめる必要があると思われる。今後も共同研究など

外部との更なる協調により多細胞生物への展開も含めて研究が発展するよう期待する。

3. 主な論文発表等

1. T. L. Saito, J. Sese, Y. Nakatani, F. Sano, M. Yukawa, Y. Ohya, and S. Morishita. Data Mining Tools for the *Saccharomyces cerevisiae* Morphological Database. *Nucl. Acids. Res.* **33**, (Web Server issue):W589-W591 (2005).
2. Y. Ohya, J. Sese, M. Yukawa, F. Sano, Y. Nakatani, T. L. Saito, A. Saka, T. Fukuda, S. Ishihara, S. Oka, G. Suzuki, M. Watanabe, A. Hirata, M. Ohtani, H. Sawai, N. Fraysse, J-P. Latge, J. M. Francois, M. Aebi, S. Tanaka, S. Muramatsu, H. Araki, K. Sonoike, S. Nogami, and S. Morishita. High-dimensional and large-scale phenotyping of yeast mutants. *Proc Natl Acad Sci U S A.* **102(52)**:19015-20 (2005).
3. G. Suzuki, H. Sawai, M. Ohtani, S. Nogami, F. Sano-Kumagai, A. Saka, M. Yukawa, T. L. Saito, J. Sese, D. Hirata, S. Morishita, and Y. Ohya. Evaluation of image processing programs for accurate measurement of budding and fission yeast morphology. *Curr Genet.* 1-11 (2006)

参考

論文発表 国内 0 件、海外 10 件

口頭発表 国内 2 件、海外 1 件

ポスター発表 国内 19 件、海外 0 件

新聞報道等

日本工業新聞 平成 17 年 12 月 20 日 朝刊 「細胞の形から遺伝子機能」

日本経済新聞 平成 18 年 2 月 8 日 朝刊 「おいしさ作る酵母はこれ」

Patrick Goymer: Shaping up the genome. *Nature Review Genetics*, Vol.7, Feb. 2006; 79