

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 2 日現在

機関番号：12601

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2014～2015

課題番号：26882019

研究課題名(和文) 出芽酵母の一細胞フェノームによる遺伝子機能と化学物質応答の統計モデリング

研究課題名(英文) Statistical modeling of the gene function and the drug response by single cell phenomics in *Saccharomyces cerevisiae*

研究代表者

大貫 慎輔 (OHNUKI, Shinsuke)

東京大学・新領域創成科学研究科・特任研究員

研究者番号：80739756

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,100,000円

研究成果の概要(和文)：細胞の薬剤に対する応答や遺伝子変異株の形態表現型を500以上の観点で測定し、類似性で分類することで、遺伝子機能や薬剤の標的を予想することが可能である。本研究では、複数の薬剤を処理した場合や薬剤と遺伝子変異の間の相互作用を解析することが可能な、新たな統計モデルの構築を目的とした。このために、各観点到適切な確率分布を割り当てることで一般化線形モデルを応用可能にした。このとき、形態表現型に影響を与える交絡因子を特定し排除するための線形モデルを構築することで、検出力を高めることに成功した。そして、交互作用項のある線形モデルを構築することで、細胞の複雑な応答を説明可能な統計モデルの構築に成功した。

研究成果の概要(英文)：More than 500 traits of the cell morphology quantified by image processing program CalMorph provide rich information of the cell, enabling us to predict the gene functions and the intracellular targets of drugs. In order to develop statistical models enabling us to analyze the complicated interactions among effects of drug treatments and gene disruptions, a generalized linear model was introduced into the phenotypic analysis of the cell morphology. Confounding factors affecting the cell morphology were identified and those effects were reduced by the linear model, enabling us to increase the statistical power to detect the interactions. By incorporating an interaction term into the linear models, the synergistic effects of drug-drug interaction or gene-drug interaction on the cell were successfully detected, supporting the feasibility of the analysis for the complicated interactions among the gene functions and the drug effects.

研究分野：生命応答学

キーワード：出芽酵母 一般化線形モデル 細胞形態 CalMorph 表現型解析 多様性 交絡因子 ハイコンテンツ イメージング

1. 研究開始当初の背景

化学物質が生物に与える影響を観察することで、生命現象を明らかにする化学生物学的アプローチは、複雑な生命システムを解明するための有効な手法の一つである。例えば出芽酵母 *zds1* 変異株が、高濃度の  $Ca^{2+}$  に反応して細長い細胞形態を示すことを手掛かりに、 $Ca^{2+}$  に依存した新たな細胞周期進行の制御メカニズムが発見された (Mizunuma et al., 1998)。細胞の形は、様々な遺伝子の機能が複雑に絡み合って制御されていることから、化学物質に反応して発現する細胞内機能の解明に重要な手がかりを与える。出芽酵母では、画像解析システム CalMorph を使用することで、細胞形態を蛍光顕微鏡画像から 501 の観点 (形態パラメータ) で測定し、高次元で定量的な形態情報として出力することが可能である (Ohya et al., 2005)。そこで、高次元の形態情報で化学物質と遺伝子変異の影響の相関関係を分析することで化学物質への応答に関連する細胞内機能を特定できると考えた。

まず、高濃度  $Ca^{2+}$  処理で増殖できなくなる約 60 の *cls* 変異株の高次元な形態情報を使用して、高濃度  $Ca^{2+}$  処理に反応して変化する形態表現型の解析を行った (Ohnuki et al., 2007)。各株において複数回取得した形態パラメータの値を順位和に変換して 501 形態パラメータ全てを使ったクラスター分析を行ったところ、60 株中 31 株が 7 つのクラスを形成した。各クラスは同一の複合体を構成するサブユニットなどの機能的に関連する遺伝子の変異株によって構成されており、7 クラスの間で細胞の大きさやアクチンの局在など多くの形態的特徴に異なった変化の組合せが観察された。このことから、化学物質を処理した細胞と機能的に関連した遺伝子の破壊株は、化学物質に反応して変化する形態のプロファイルが互いに類似することがわかった。

次に、化学物質によって引き起こされる野生型酵母の形態変化の特徴と、遺伝子欠損によって引き起こされる形態的特徴の類似性の比較 (プロファイリング) によって、化学物質の細胞標的を推定できると考えた。そこで、既にデータベース化されている 4718 非必須遺伝子欠損株の形態情報 (Ohya et al., 2005) と、野生型に化学物質を処理した時の形態変化の濃度依存性を比較する形態プロファイリング法を考案した (Ohnuki et al., 2010)。酵母における細胞内標的と作用機作が未知のバニリンに考案したプロファイリング法を応用したところ、バニリン処理細胞がリボソーム大サブユニットの破壊株と形態的に類似し、ポリソーム解析やストレス顆粒の観察結果と併せて、バニリンが酵母のタンパク質合成を阻害していることが示唆された (Iwaki et al., 2013)。このことから、出芽酵母の化学物質に対する形態的応答と遺伝子変異による形態への影響のプロファイル

から化学物質への応答に関連する細胞内機能を特定できることがわかった。

2. 研究の目的

形態プロファイリング法にはいくつかの前提が置かれている。例えば化学物質の細胞内標的が 1 つであることは単一遺伝子の変異株を使用する本法において重要な前提である。しかしながら、多くの化学物質は  $Ca^{2+}$  のように複数の細胞内標的を持つ場合がほとんどである。細胞の形が様々な細胞内機能の複雑な相互作用の結果であることから、複数の細胞内標的を持つ化学物質に対して細胞の形態的応答はそれぞれの標的が影響を受けた結果の結合として現れると考えられる。これまでの予備的研究により、複数の細胞内標的をもつ化学物質を出芽酵母に処理した際の形態的応答様式を線型結合でモデル化することにより細胞内標的間の相互作用を検出できる場合があることがわかっている。そこで本研究計画では、 $Ca^{2+}$  などの複数の細胞内標的を持つ化学物質を細胞に処理した際に、標的間の機能的相互関係が形態プロファイル上にどのような結合様式で相互作用のプロファイルとして現れるかを俯瞰的に検証する。そのために、全ての形態パラメータにおいて相互作用の検出を可能にする統計モデルの基礎的な開発を行う。

3. 研究の方法

(1) 確率分布の決定

CalMorph から出力される 501 の形態パラメータを、形態パラメータの値  $y$  が取りうる範囲によって、便宜的に次の 4 つに分類した：正数型 ( $0 < y$ )、小数型 ( $0 < y < 1$ )、実数型 ( $- < y < +$ )、および割合型 ( $0 \leq y \leq 1$ )、ただし  $n = y \times N$ 、 $N$  は細胞数)。それぞれの分布型において複数の確率分布モデルを検討し、形態パラメータの定義と確率分布モデルの成立条件が一致する確率分布モデルを複数候補として選定した (表 1)。

表 1. 検証した確率分布

分布型	分布 1	分布 2	分布 3	分布 4
正数	正規分布	ガンマ分布	対数正規分布	ワイブル分布
小数	正規分布	ベータ分布	ゼロ過剰ベータ分布	ベータ分布
実数	正規分布 (正規化なし)	正規分布	逆ガンベル分布	ガンベル分布
割合	二項分布	二項分布	ゼロ過剰二項分布	ゼロ過剰二項分布

表 1 において、分布 1 には比較のために一般的に使われている確率分布を選定した。ただし、実数型のパラメータは、正規化前のデータを使用した。正規化は実数型のパラメータに対して非線形な挙動を最小化するため

に施された(Levy and Siegal, 2008; Yvert et al., 2013)。次に分布 2 には、各分布型に最適と考えられる確率分布を選定した。分布 3 および分布 4 の選定には、実際のデータの分布を観察して選定した。実際のデータの分布には、既に 100 回以上繰り返し取得されている野生型酵母のデータ(Ohya et al., 2005)を使用した。近似結果と野生型データを比較して、選定した分布 1 よりも、適当な場合があると思われた確率分布を分布 3 および分布 4 に選定した。

また、細胞機能が正常な野生型酵母のデータは限られた範囲に分布することが想定されたため、遺伝子破壊株の異常な値が想定されるケースにも選択した確率分布モデルが対応可能かどうか、4718 非必須遺伝子破壊株のデータも使用して、確率分布モデル候補の妥当性を検証した。

### (2) 交絡因子と統計モデルの決定

顕微鏡画像から細胞形態を定量する際にバイアスとなる実験工程を同定し、解析の段階でバイアスを排除するために、交絡因子を組み込まれた統計モデルを検討した。交絡因子の候補としては、蛍光フィルターの劣化など顕微鏡による効果やスライドガラスまたは顕微鏡観察用プレートのロット差(Okada et al., 2015)など多岐に渡る。本研究では、使用した顕微鏡と消耗部品の状況および撮影時期を記録しながら新たに取得された野生型酵母の形態データを使用した。

交絡因子を組み込んだ統計モデルとして顕微鏡と消耗部品が相互作用することを仮定した以下のモデルを設定した。

$$y = \beta_1 MS1 + \beta_2 MS2 + \beta_3 MS2a + \beta_4 MS2b + \beta_5 MS3$$

ここで、 $y$  は形態データ、 $MS1 \sim MS3$  は 3 つの顕微鏡、 $MS2$  と  $MS2a$  および  $MS2b$  は  $MS2$  における消耗部品の状態の違いを表し、そして  $\beta$  は交絡因子の固定効果を表す。統計モデルと確率分布モデルの最適な組み合わせを AIC により選択および決定した。

### (3) 形態表現型に現れる相互作用と遺伝子機能の相関関係の調査

#### 化学物質応答の形態プロファイルと遺伝子機能の相関解析

従来の順位和を使用したノンパラメトリックモデル(Ohnuki et al., 2015)ではなく、選択した確率分布モデルで濃度依存性を定量するパラメトリックモデルを応用することで、線形モデルによる形態プロファイルの実行可能性を検証した。

濃度依存性の定量には Wald 検定の Z 値を使用した。複数の抗真菌薬剤処理データを、濃度依存性を仮定して単回帰し、各パラメータで傾きの推定値を得た。傾きの推定値を Wald 検定の検定統計量である Z 値に変化し、これを濃度依存性とした。濃度依存性プロファイルの類似性と標的遺伝子の機能的関係の間の相関関係を検証した。また既に取得済みの 4718 非必須遺伝子破壊株および 1112 必須遺伝子ヘテロ破壊株の形態データを Z 値に

変換し、501 の Z 値を形態プロファイルとして使用し、遺伝子機能との相関関係を検証した。これにより線形モデルによる形態プロファイルの実行可能性を検証した。

#### Ca<sup>2+</sup>処理と *cis* 変異の相互作用の解析

既に同定済みの *cis* 変異株は Ca<sup>2+</sup> に感受性を示すことから、破壊された遺伝子の細胞内機能は細胞内外の Ca<sup>2+</sup> と関連する(Ohnuki et al., 2007)。一方、高濃度 Ca<sup>2+</sup> は細胞内に流入してカルモジュリンやサイクリンなど様々な細胞内分子と結合することで、イオンポンプや細胞周期制御などの複数の細胞内機能を活性化または不活性化する。このように複雑な効果のある Ca<sup>2+</sup> 処理と、その影響を受ける細胞内機能が個別に破壊された *cis* 変異の間で相互作用を検出する以下のモデルを構築した。

$$y = \beta_1 MT + \beta_2 Ca + \beta_3 MT \cdot Ca$$

ただし、 $y$  は形態データ、 $MT$  は *cis* 変異、 $Ca$  は Ca<sup>2+</sup> 処理濃度、 $\beta$  は固定効果を表す。このうち  $\beta_3$  の Z 値を相互作用の効果として使用した。得られた相互作用プロファイルを使用して、*cis* 変異株の Ca<sup>2+</sup> 処理との相互作用を説明する遺伝子機能集団を調査した。

#### DNA 合成阻害剤(HU)と液胞酸性化阻害剤(ConCA)の相互作用の解析

Ca<sup>2+</sup> のように多くの細胞内機能と相互作用する化学物質だけでなく細胞内の単一の機能を阻害することが知られている 2 つの薬剤を使用して、単純な系での解析を行った。HU (hydroxyurea) と ConCA (concanamycin A) の濃度をそれぞれ 5 段階に変えながら同時に処理して薬剤間の相互作用を観察した。各濃度の組み合わせについて 5 回ずつ計 125 回分取得された形態データを使用して薬剤間の相互作用を検出するために、以下の重回帰モデルを構築した。

$$y = \beta_1 HU + \beta_2 ConCA + \beta_3 HU \cdot ConCA$$

ただし、 $y$  は形態データ、 $HU$  は HU 処理濃度、 $ConCA$  は ConCA 処理濃度、 $\beta$  は固定効果を表す。このうち  $\beta_3$  を相互作用の効果として Wald 検定で検出した。

## 4. 研究成果

### (1) 確率分布の決定

野生型酵母の形態情報( $n = 123$ )を使用して確率分布モデルの検討を行った。501 の形態パラメータによって定量された形態情報において、それぞれのパラメータについて複数の確率分布モデルを仮定し(表 1)、野生型データに近似して、AIC で確率分布モデルを選択したところ、多くのパラメータで分布 1 が選択された。野生型の形態データで得られた確率分布モデルに汎用性があるかどうか確かめるために、既に取得済みの 4718 の遺伝子破壊株(Ohya et al., 2005)や 37 の野生酵母株(Yvert et al., 2013)の形態データに当てはめた。各形態データは全て確率分布モデルが想定する範囲内に分布していたことから、分布 1 の確率分布モデルは様々な条

件で得られた細胞形態に応用可能であると  
考えられた。また確率分布モデルを使用する  
ことにより得られるようになったばらつき  
の指標を用いて遺伝子破壊株と野生酵母の  
間で比較することで、自然界で蓄積された遺  
伝子変異よりも遺伝子破壊の方がより多様  
な表現型を生み出すことがわかった。これら  
の結果は BMC Genomics に論文として出版さ  
れた(Yang et al., 2014)。

## (2) 交絡因子と統計モデルの決定

形態情報に影響を与える実験的バイアス  
を特定するために、実験条件が詳細に記録さ  
れた 114 回分の野生型酵母のデータを使用し  
た。実験的バイアスの原因となる交絡因子を  
特定するために、使用した顕微鏡の種類や状  
態や撮影時期、細胞を培養したときの増殖量、  
撮影時の露光時間など様々な条件の組み合  
わせを検討した結果、顕微鏡の種類と撮影時  
期(消耗部品の状態)の組み合わせによって、  
観察されたバイアスを説明する線形モデル  
(方法参照)を構築した。構築した線形モデル  
と確率分布モデル(表 1)を組み合わせ、野  
生型データに当て嵌め、AIC でモデル選択し  
たところ、501 中 339 パラメータで交絡因子  
モデルが選択され(図 1)、多峰性の分布が交  
絡因子によって説明された。交絡因子モデル  
が選択されなかった 162 パラメータの分布は  
全て単峰性となっており、交絡因子の影響は  
確認されなかった。これらの結果から、使用  
した顕微鏡の種類と撮影時期の組み合わせ  
によって形態データに現れる交絡因子の影  
響は補正可能であると考えられた。

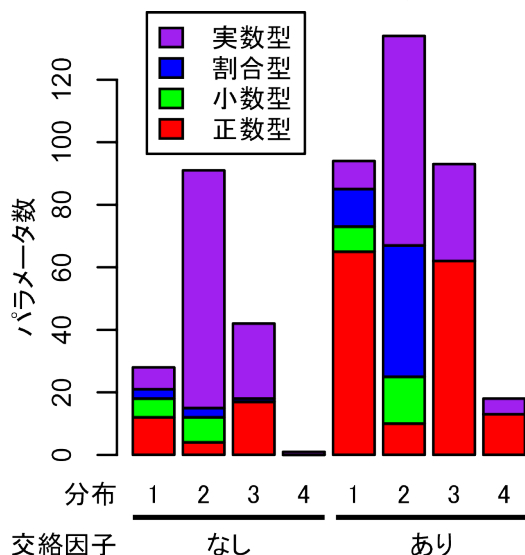


図 1 AIC によるモデル選択

## (3) 形態表現型に現れる相互作用と遺伝子機能の相関関係の調査

化学物質応答の形態プロファイルと遺  
伝子機能の相関解析

線形モデルによる形態プロファイリング  
の実行可能性を検証するために、野生型酵母  
に薬剤を処理したときの濃度依存的变化の  
解析を行った。様々な抗真菌薬剤を複数の濃  
度で処理し、濃度依存の形態変化を GLM で回  
帰することで得られた濃度依存性の形態プ

ロファイルを薬剤処理間で比較した所、機  
能的に関連した細胞内分子を標的とする薬  
剤の処理によって、類似した形態変化が引  
き起こされることがわかった(Gebre et al.,  
2015)。これにより濃度依存性を仮定した線  
形モデルによって形態プロファイリングが  
可能であることが確認された。

確立した一般化線形モデル(GLM)を用いて、  
4718 非必須遺伝子破壊株の形態異常を検出  
した所、従来(Ohya et al., 2005)と比べて  
約 2 倍の形態異常が検出された。これにより  
GLM によって多くの特徴で高感度に形態プロ  
ファイリングが行えると考えられた。更に、  
1112 必須遺伝子ヘテロ破壊株の細胞形態を  
取得し同様の解析を行った所、半数以上の株  
に形態異常が検出された。形態異常が検出さ  
れた遺伝子にアノテーションのあった 830  
GOs の中に、特徴的な形態異常を共有する遺  
伝子機能グループが  $P < 6 \times 10^{-5}$  の閾値で 300  
以上検出され(図 2、破線は閾値)、遺伝子機  
能と形態的特徴に相関関係があることがわ  
かった。これらのことから非必須遺伝子だけ  
でなく必須遺伝子を含めたゲノムワイドな  
標的予想を行うことが可能であると考えら  
れた。

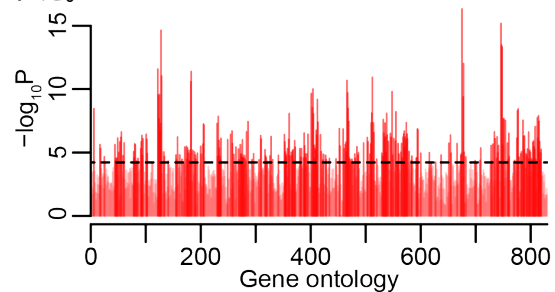


図 2 形態的特徴を共有する GO の検出

## Ca<sup>2+</sup>処理と *cls* 変異の相互作用の解析

薬剤処理と遺伝子変異の間または薬剤処  
理の間の相互作用を調べた。Ca<sup>2+</sup>処理と *cls*  
変異の相互作用を共分散分析モデルで検出  
した(方法参照)。相互作用の検出を、ネック  
幅を例にして以下の図 3 に示す。

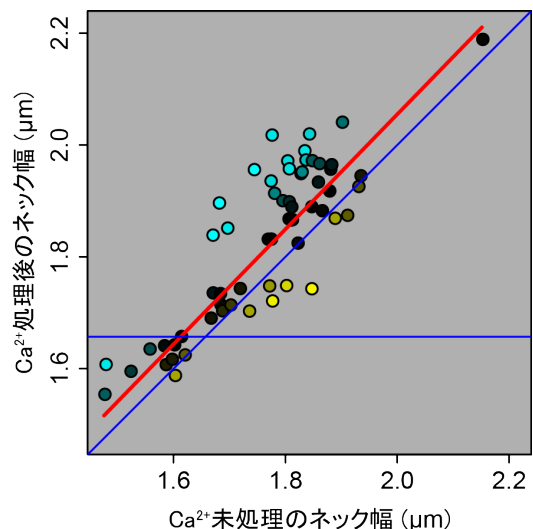


図 3 *cls* 変異と Ca<sup>2+</sup>処理の相互作用の検出

Ca<sup>2+</sup>未処理時のネック幅(x 軸)と処理後のネック幅(y 軸)上で 60 株を比較すると、野生型のネック幅(赤線と青水平線の交点)を基準に *cls* 変異と Ca<sup>2+</sup>処理の効果の相互作用を比較可能となる。図中の青対角線は Ca<sup>2+</sup>処理の前後でネック幅が同じであった場合を示しており、赤線は Ca<sup>2+</sup>処理の効果を表す。*cls* 変異株に Ca<sup>2+</sup>を処理した時のネック幅の変化が、野生型に Ca<sup>2+</sup>を処理した場合と同程度に変化した場合(赤線上にある場合)、*cls* 変異と Ca<sup>2+</sup>処理の間に相互作用はなく、それぞれ独立にネック幅に影響を与えていると考えられる。一方で、赤線よりも離れている場合、*cls* 変異株に Ca<sup>2+</sup>を処理したときのネック幅の変化が、野生型に Ca<sup>2+</sup>を処理した場合よりも、悪化(負の相互作用: 水色丸)あるいは緩和的(正の相互作用: 黄色丸)に変化しているため、両者の間に相互作用があったと考えられる。このようにして、*cls* 変異と Ca<sup>2+</sup>の相互作用を 501 パラメータ全てにおいて尤度比検定で検出した所、P < 0.05 (FDR = 0.1) で 501 中 148 パラメータに少なくとも 1 株以上の相互作用が検出された。

得られた相互作用の形態プロファイルに基づいて *cls* 変異株を階層クラスタ分析で分類した所(図 4)、多くのグループに分けられ、遺伝子機能との相関が検出された。

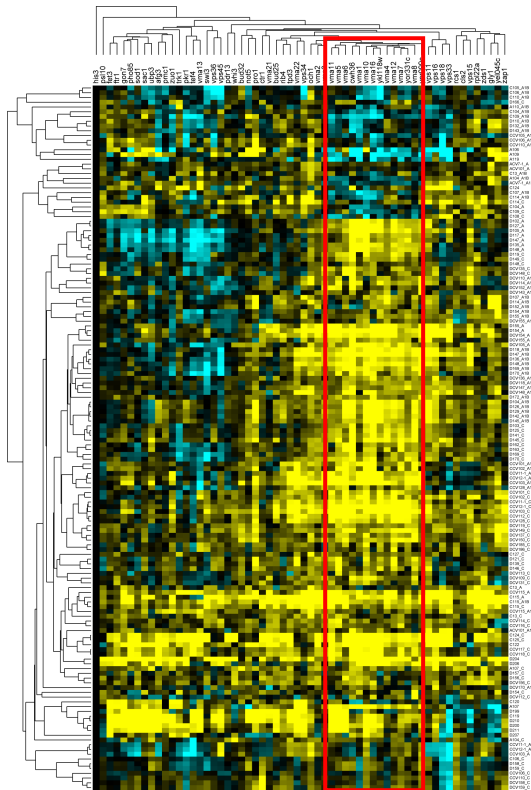


図 4 相互作用による *cls* 変異株の分類  
例えば、液胞 V 型 ATPase の変異株(図中赤枠)は相互作用プロファイルが類似しており、Ca<sup>2+</sup>処理により母細胞の短軸が短くなったり、ネック幅が広がったりする負の相互作用(図中水色)が変異株に共通して観察された。これらのことから、相互作用が類似する *cls* 変異株では Ca<sup>2+</sup>処理によって類似した機能が

攪乱されていると考えられ、Ca<sup>2+</sup>処理に対する変異株の応答は Ca<sup>2+</sup>処理と遺伝子変異およびそれらの相互作用の線形結合和によって表されることがわかった。本研究で開発した解析手法は Ca<sup>2+</sup>以外の様々な攪乱への応答に関係する遺伝子の機能解析や遺伝子間相互作用の解析に応用可能である。

#### DNA 合成阻害剤(HU)と液胞酸性化阻害剤(ConCA)の相互作用の解析

HU 処理と ConCA 処理の相互作用を重回帰モデルで検出した(方法参照)。P < 0.05 で 501 中 65 パラメータに薬剤処理間の相互作用が検出され、このうち 48 パラメータに拮抗的效果、9 パラメータに相乗効果、そして 8 パラメータに HU から ConCA への抑制的效果が検出された。HU と ConCA の細胞内標的は増殖表現型において直接的な遺伝的相互作用(Costanzo et al., 2010)は検出されていないが、一方の標的遺伝子を破壊した変異株で他方の薬剤処理した際の相乗的増殖抑制効果(Liao et al., 2007)が知られている。本研究でも相乗効果が検出されたことから、複数の薬剤を細胞に処理した際の応答様式は、各薬剤による応答とそれらの相互作用の線形結合和によって表されることがわかった。また、相乗効果だけでなく、拮抗的效果や抑制的效果も検出されたことから、薬剤間の相互作用を様々な特徴で観察することによって、複雑な効果のある薬剤の作用機序解明や標的予想の足掛かりになると考えられた。

#### <引用文献>

- Costanzo, M., Baryshnikova, A., Bellay, J., Kim, Y., Spear, E.D., Sevier, C.S., Ding, H., Koh, J.L., Toufighi, K., Mostafavi, S., et al. (2010). The genetic landscape of a cell. *Science* 327, 425-431.
- Gebre, A.A., Okada, H., Kim, C., Kubo, K., Ohnuki, S., and Ohya, Y. (2015). Profiling of the effects of antifungal agents on yeast cells based on morphometric analysis. *FEMS Yeast Res* 15, fov040.
- Iwaki, A., Ohnuki, S., Suga, Y., Izawa, S., and Ohya, Y. (2013). Vanillin Inhibits Translation and Induces Messenger Ribonucleoprotein (mRNP) Granule Formation in *Saccharomyces cerevisiae*: Application and Validation of High-Content, Image-Based Profiling. *PLoS One* 8, e61748.
- Levy, S.F., and Siegal, M.L. (2008). Network Hubs Buffer Environmental Variation in *Saccharomyces cerevisiae*. *Plos Biology* 6, 2588-2604.
- Liao, C., Hu, B., Arno, M.J., and Panaretou, B. (2007). Genomic screening in vivo reveals the role played by vacuolar H<sup>+</sup> ATPase and cytosolic acidification in sensitivity to DNA-damaging agents such as cisplatin. *Molecular pharmacology* 71,

416-425.

Mizunuma, M., Hirata, D., Miyahara, K., Tsuchiya, E., and Miyakawa, T. (1998). Role of calcineurin and Mpk1 in regulating the onset of mitosis in budding yeast. *Nature* 392, 303-306.

Ohnuki, S., Nogami, S., Kanai, H., Hirata, D., Nakatani, Y., Morishita, S., and Ohya, Y. (2007). Diversity of Ca<sup>2+</sup>-induced morphology revealed by morphological phenotyping of Ca<sup>2+</sup>-sensitive mutants of *Saccharomyces cerevisiae*. *Eukaryotic cell* 6, 817-830.

Ohnuki, S., Oka, S., Nogami, S., and Ohya, Y. (2010). High-content, image-based screening for drug targets in yeast. *PLoS One* 5, e10177.

Ohnuki, S., Okada, H., and Ohya, Y. (2015). Image-based prediction of drug target in yeast. *Methods in molecular biology* 1263, 319-327.

Ohya, Y., Sese, J., Yukawa, M., Sano, F., Nakatani, Y., Saito, T.L., Saka, A., Fukuda, T., Ishihara, S., Oka, S., *et al.* (2005). High-dimensional and large-scale phenotyping of yeast mutants. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 102, 19015-19020.

Okada, H., Ohnuki, S., and Ohya, Y. (2015). Quantification of cell, actin, and nuclear DNA morphology with high-throughput microscopy and CalMorph. *Cold Spring Harbor protocols* 2015, 408-412.

Yang, M., Ohnuki, S., and Ohya, Y. (2014). Unveiling nonessential gene deletions that confer significant morphological phenotypes beyond natural yeast strains. *BMC Genomics* 15, 932.

Yvert, G., Ohnuki, S., Nogami, S., Imanaga, Y., Fehrmann, S., Schacherer, J., and Ohya, Y. (2013). Single-cell phenomics reveals intra-species variation of phenotypic noise in yeast. *BMC Syst Biol* 7, 54.

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 4 件)

1. Gebre, A.A., Okada, H., Kim, C., Kubo, K., Ohnuki, S., and Ohya, Y. (2015). Profiling of the effects of antifungal agents on yeast cells based on morphometric analysis. *FEMS Yeast Res* 15, fov040. 査読あり  
DOI: 10.1093/femsyr/fov040
2. Okada, H., Ohnuki, S., and Ohya, Y.

(2015). Quantification of cell, actin, and nuclear DNA morphology with high-throughput microscopy and CalMorph. *Cold Spring Harbor protocols* 2015, 408-412. 査読あり  
DOI: 10.1101/pdb.prot078667

3. Ohnuki, S., Okada, H., and Ohya, Y. (2015). Image-based prediction of drug target in yeast. *Methods in molecular biology* 1263, 319-327. 査読あり  
DOI: 10.1007/978-1-4939-2269-7\_24

4. Yang, M., Ohnuki, S., and Ohya, Y. (2014). Unveiling nonessential gene deletions that confer significant morphological phenotypes beyond natural yeast strains. *BMC Genomics* 15, 932. 査読あり  
DOI: 10.1186/1471-2164-15-932

[学会発表](計 3 件)

1. 大貫慎輔、楊明、大矢禎一、一般化線形モデルを使った自然界に存在しない形態を持つ出芽酵母の解析、日本分子生物学会、2015年12月3日、神戸ポートアイランド(神戸)
2. Ohnuki, S., Yang, M., Ohya, Y., Application of generalized linear model to reveal nonessential genes of deletion mutants with significant morphological phenotypes beyond natural yeast strains, 27<sup>th</sup> International conference on yeast genetics and molecular biology, Sep. 6<sup>th</sup>-11<sup>th</sup> 2015, Trentino (Italy).
3. 大貫慎輔、大矢禎一、出芽酵母必須遺伝子の半数以上はヘテロ破壊によりハプロ不全性を示す、日本分子生物学会、2014年11月25日、パシフィコ横浜(神奈川)

[図書](計 0 件)

[産業財産権]

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

[その他]

ホームページ等: なし

#### 6. 研究組織

(1)研究代表者

大貫 慎輔 (OHNUKI, Shinsuke)  
東京大学・新領域創成科学研究科・特任研究員  
研究者番号: 80739756

(2)研究分担者

なし

(3)連携研究者

なし