

【目的】 本研究では、細胞核内のクロマチン状態の変化と、それに連動して起こる細胞の不可逆な遷移過程をデータ駆動的に捕捉することにより、細胞個性獲得のための分子制御機構を明らかにすることを旨とする。クロマチン状態、転写因子結合、エンハンサー活性、遺伝子発現の定量的関係を明らかにし、数理モデル化することにより、さまざまな疾患解明に応用可能な数理情報基盤を構築する。

【方法】 免疫 B 細胞の分化における NF-κB の転写制御を対象とし、エンハンサーと呼ばれる遺伝子の制御領域とその標的遺伝子発現との関係に注目した情報統合解析を行った。マウス脾臓から B 細胞を単離し、anti-IgM 刺激有無の条件下で、細胞試料を作製した。Super enhancer (SE) と Typical enhancer (TE) というタイプの異なるエンハンサーの同定を目的とした H3K27ac 免疫沈降シーケンス (acetylated histone H3 lysine 27 ChIP-seq)、NF-κB (RelA) の DNA 結合領域を同定するための RelA ChIP-seq、クロマチン開口領域を同定するための ATAC-seq (an assay for transposase-accessible chromatin through sequencing) を行った。さらに、エンハンサーの標的遺伝子の発現量を求めるために、一細胞 RNA シーケンス (RamDA-seq) を行った。これらの次世代シーケンスデータをもとに、統合情報解析を行った。抗原刺激前後での SE および TE における各シグナルの定量的比較、クロマチン開口領域のモチーフ解析による SE と TE に特徴的な結合転写因子の予測を行った。最終的に、エンハンサーのクロマチン開口領域における NF-κB 結合数と各遺伝子発現量の関係を数理モデルを用いて解析した。

【結果】 H3K27ac データにより、SE および TE を同定し、この情報統合解析を行ったところ、SE において、クロマチン開口、NF-κB 結合が連動して起こり、遺伝子発現を高く、また閾値様に誘導することが明らかになった。さらに、このデータを定量的に解析することにより、SE と TE の違いは、DNA の長さと共に伴う NF-κB 結合数の増加にあることがわかった。詳細な解析により、DNA の長さは遺伝子の倍数変化に影響し、NF-κB の結合数は、閾値変化に重要であることがわかった。また、モチーフ解析の結果から、この閾値応答には、パイオニア因子 PU.1 と NF-κB の共在が重要であることがわかった。SE により発現誘導される遺伝子のひとつに免疫細胞分化に重要な転写因子 IRF4 が見出されたことから、SE を介した転写因子の発現の時間発展が、細胞の不可逆的遷移に関与することが示唆された。

数理モデルを用いたエンハンサーによる遺伝子発現制御機構の同定

