

〔研究の概要〕

転写制御因子等による遺伝子の発現制御を理解し制御できれば、細胞分化のメカニズムの理解と制御や、遺伝子発現の異常による疾患の解明や治療法の開発などが期待される。本研究では、遺伝子発現制御のカスケードやネットワークを解析する手法を開発し、転写制御因子の発現量を変化させたときに、他の遺伝子の発現量がどのように変化するかを、遺伝子間の発現制御の相互作用を考慮して、定量的に予測できるようにする。遺伝子ネットワーク予測のための条件検討を行い、予測精度を向上し、遺伝子ネットワークに含まれる遺伝子発現制御の関係を予測し解明する。遺伝子発現制御の分子メカニズムに関わり、遺伝子から離れたゲノム DNA に結合する転写制御因子と遺伝子との相互作用の仕切りに関する DNA 結合タンパク質について、深層学習を用いた手法で網羅的に探索し、特徴を明らかにした。

〔研究経過および成果〕

ヒトの遺伝子(Gene)の発現制御の基本的な転写制御により、ゲノム DNA にコードされた mRNA 配列の転写が起こる。遺伝子の転写開始点近傍のプロモーター(Promoter)領域だけでなく、遺伝子から離れた位置(Enhancer 等)のゲノム DNA に結合する転写制御因子(転写因子)が遺伝子の転写開始点の周辺と相互作用し、転写を制御することが明らかとなった(図 1)。

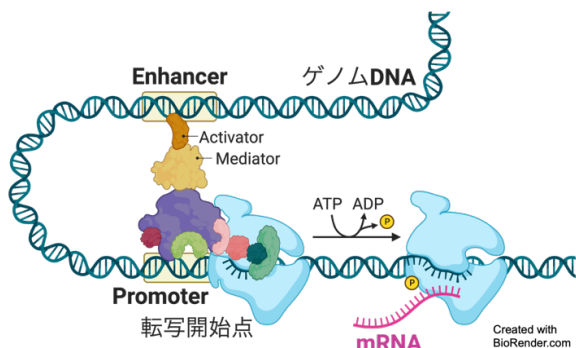


図 1 ゲノム DNA の転写制御

遺伝子から離れた位置の Enhancer 等と近傍の Promoter の相互作用の仕切り (インシュレータ)

として機能する DNA 結合タンパク質が報告されている。脊椎動物では、CTCF が主要なインシュレータとして知られ、DNA のループ構造を束ねる位置に二つ (二量体) の CTCF が結合する。CTCF は Forward-Reverse の向き (逆向き) に DNA のループに結合することが多い(図 2)。Enhancer はループの内側の遺伝子と相互作用するが、外側の遺伝子とは相互作用しない。

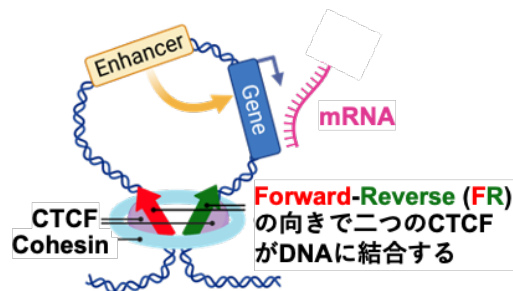


図 2 インシュレータ機能と関わる CTCF

本研究では CTCF 以外のインシュレータ機能と関わる DNA 結合タンパク質を網羅的に探索した。生物実験解析で多くの DNA 結合タンパク質について解析することは手間と費用がかかり困難である。

結果として、既知のインシュレータ機能に関わる DNA 結合タンパク質(CTCF, Cohesin)を含め、99 種類の DNA 結合タンパク質が、インシュレータと関わることを示された。

論文検索により、インシュレータや、ゲノム DNA の相互作用や構造変化により転写制御に関わる DNA 結合タンパク質が 23 種類含まれていた。2021 年に DNA 結合タンパク質で転写因子の MAZ がインシュレータと関わることを生物実験解析により報告された。

二つの CTCF が DNA のループに結合するときに、DNA 結合配列の向きに偏りがあることが生物実験解析により報告されており、その割合は 76.4% FR (Forward-reverse), 11.0% FF (Forward-Forward), 10.3% RR (Reverse-Reverse), 2.3% RF (Reverse-Forward) で、主に FR の向きになり、FF と RR が同じ程度、RF はほとんど見られない。本研究で、向きの偏りによる、遺伝子発現量の予測への影響 (Contribution score, 貢献度、重要度)を、説明可能な AI の手法(DeepLIFT)で解析した結果、同様の傾向が示され、深層学習による予測が正確であることが示された。99 種類の DNA 結合タンパク質のうち、大部分(89 種類)が DNA 結合配列の向きの偏りを示した。

mRNA が転写される活性のある領域と、転写されない抑制された領域を公共データベースの実験データを用いてゲノムブラウザ(UCSC Genome browser)で表示した。その二つの領域の境界(インシュレータサイト)にある、99 種類の DNA 結合タンパク質の DNA 結合位置と、結合位置と重なるゲノム DNA の相互作用の実験データを可視化し、DNA 結合位置と相互作用、活性と抑制の領域の対応について確認した(図 3)。

その結果、インシュレータサイトにある、DNA 結合位置と重なる相互作用が、遺伝子の転写の活性と抑制の領域とよく適合することがわかった。また 99 種類の DNA 結合タンパク質は、他の DNA 結合タンパク質よりも統計的に有意に多く、インシュレータサイトに結合することが示された。これらの結果から DNA 結合タンパク質の DNA 結合がゲノム DNA の相互作用と関わり、相互作用のループにより、遺伝子の転写が活性な領域と抑制された領域が区切られることが示唆された。

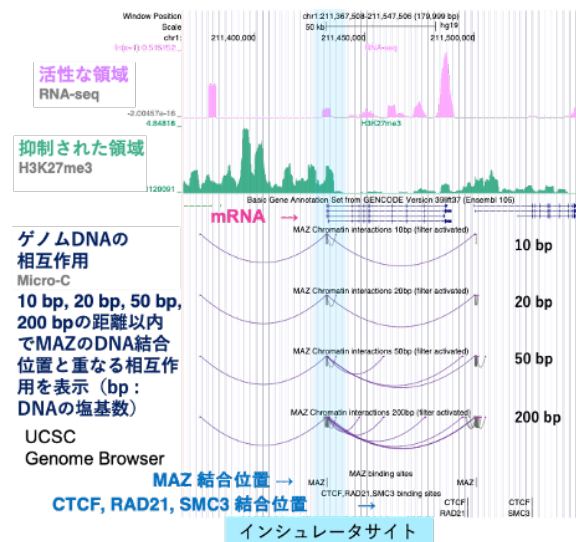


図3 インシュレータサイトと DNA 結合位置、相互作用のゲノムブラウザによる表示

[発表論文]

1. Osato N and Hamada M (2024) Discovery of regulatory motifs associated with human insulator sites reveals the role of directional bias in insulator function. *bioRxiv* preprint, doi: <https://doi.org/10.1101/2024.01.20.573595>