

摂動に基づく遺伝子制御ネットワーク推定

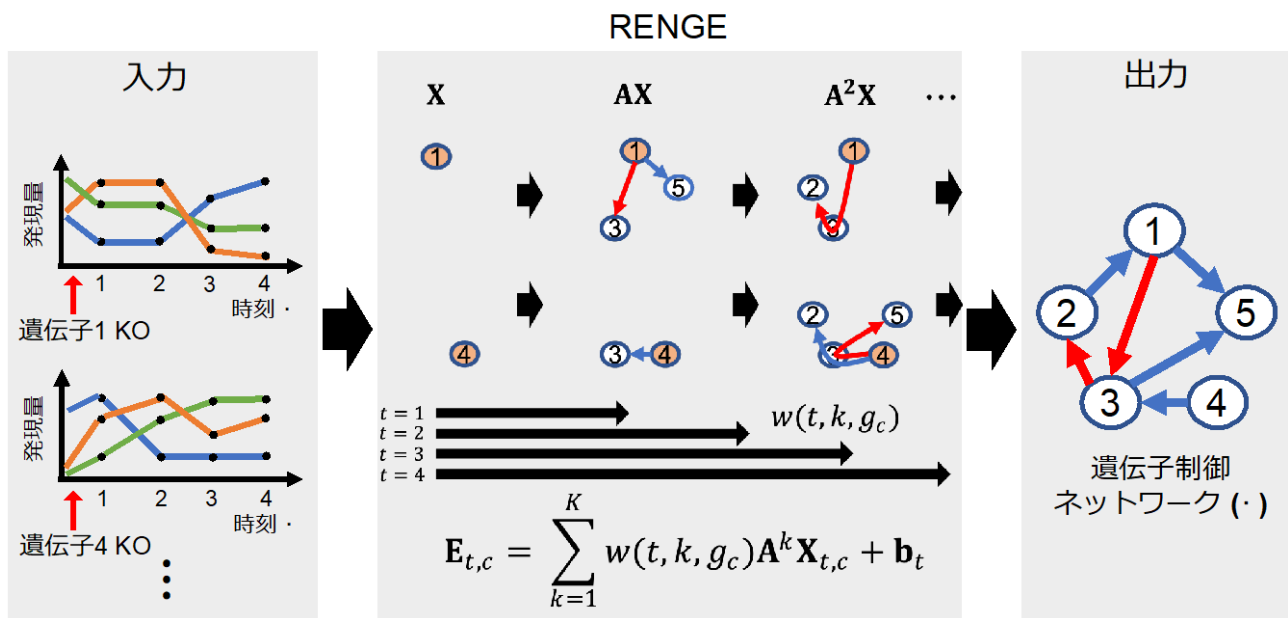
—数理モデルによる自動決定—

概要

細胞の中にはおよそ2万個の遺伝子が含まれますが、これらは単独で働くのではなく、お互いに制御しあうことで活性と不活性（遺伝子発現（注1））を切り替えています。遺伝子間の制御関係は、複雑なネットワークを形成することが分かってきています。このネットワークに基づいて細胞の性質が決まったり、あるいは性質の切り替えが起きたりすることから、遺伝子制御ネットワークは「細胞の設計図」と言えます。しかし、遺伝子制御ネットワークは未だ部分的にしか明らかになっておらず、また正確にそれを決定することは困難な課題でした。

京都大学医生物学研究所の石川雅人特定助教、望月敦史教授、遊佐宏介教授、永樂元次教授と、東京大学の木立尚孝准教授らの共同研究グループは、様々な遺伝子をノックアウト（注2）した後の時系列発現変化を計測したデータから、数理モデルに基づいて遺伝子制御ネットワークを高精度かつ半自動的に推定する手法 RENGINE を開発しました。シミュレーションデータとヒト iPS 細胞（注3）における発現計測データの両方において、RENGE は既存手法を凌駕する性能を示しました。RENGE により推定されたヒト iPS 細胞の遺伝子制御ネットワークの解析から、iPS 細胞の多能性（注4）を維持する上で重要なタンパク質複合体（注5）が示唆されました。RENGE により推定された遺伝子制御ネットワークを利用することで、細胞分化（注6）の鍵因子をネットワークから決定し、細胞運命制御を実現できる可能性があります。

本研究成果は、2023年12月28日午前10:00現地時間に国際学術誌「*Communications Biology*」にオンライン掲載されました。



RENGE は遺伝子をノックアウトした後の時系列発現変化に基づき、遺伝子制御ネットワークを推定する。

1. 背景

細胞内では、遺伝子がお互いの発現を制御しあうことで、適切な遺伝子を発現させ、遺伝子発現のダイナミクスを作り出しています。この遺伝子の制御関係は遺伝子制御ネットワークと呼ばれています。遺伝子制御ネットワークは直接的な計測が難しく、多くの場合、遺伝子の発現量データなどから間接的に推定されてきました。これに対して、遺伝子ノックアウトを利用する古典的な方法は、制御関係を比較的正確に捉えられると考えられます。ある遺伝子をノックアウトし機能を失わせた後に、他の遺伝子の発現がどのように変化したかを調べることで、ノックアウトした遺伝子がどの遺伝子を制御していたかがわかります。ただし、この方法で遺伝子制御ネットワークを推定する場合、多数の遺伝子をそれぞれノックアウトし、その後の発現変化を計測する必要があります。最新技術である、1細胞 CRISPR 実験（注7）を用いることで、これを大規模に実現できると考えられました。

しかし、1細胞 CRISPR 実験により得られるデータからノックアウト前後での発現変化を解析するだけでは、ノックアウトした遺伝子から直接制御されている遺伝子と、他の遺伝子を介して間接的に制御されている遺伝子を区別することができません。なぜならば、遺伝子をノックアウトすると、その遺伝子が直接制御している遺伝子のみならず、さらにその下流にある遺伝子までもが発現変化するからです。さらに、この方法ではノックアウトした遺伝子からの制御しか推定できないため、制御ネットワークに含まれるすべての遺伝子をノックアウトする必要があります。

2. 研究手法・成果

これに対し我々は、遺伝子をノックアウトした後に時系列で発現量を計測し、その発現ダイナミクスから情報を抽出することで、上述の問題を解決できることに気づきました。そして、そのようなデータから遺伝子制御ネットワークを推定する手法である RENG を開発しました。RENG は遺伝子ノックアウトの影響が、制御ネットワーク上を伝播して他の遺伝子へ伝わっていく過程を捉えた数理モデルを用いています。この数理モデルの中に制御ネットワークを表すパラメータが含まれており、遺伝子ノックアウト後の発現ダイナミクスを説明できるようにパラメータを推定することで、制御ネットワークが推定されます。

仮想的なデータを用いて、RENG の推定精度を検証したところ、既存手法より際立って優れた性能を示しました。次に、ヒト iPS 細胞を用いて1細胞 CRISPR 実験を行い、遺伝子ノックアウト後の時系列発現データを取得しました。このデータに RENG を適用することで、ヒトの多能性維持に関わる 103 遺伝子を含む遺伝子制御ネットワークを同定しました。また、このネットワークを解析したところ、これまでに知られていた多能性維持に働く遺伝子制御ネットワークの特徴が再現されていました。例えば、多能性因子として知られる POU5F1(OCT4)、SOX2、NANOG などにより形成される正のフィードバックループ、それらの多能性因子による分化関連遺伝子の直接的抑制などの特徴が見られました。分子生物学における数十年の研究によって蓄積されてきた知見が、わずか1回の実験と RENG の推定により、得られたこととなります。さらに、この制御ネットワークにおいて同じターゲット遺伝子を制御している転写因子（注8）は、タンパク質複合体として働く傾向があることがわかりました。この結果から、PRDM14 と RUNX1T1 が複合体を形成して iPS 細胞の多能性維持に働く可能性が示唆されました。

3. 波及効果、今後の予定

本研究で開発した RENGЕ は、遺伝子の摂動（ノックアウト）により得られる情報を最大限に活用してネットワークを推定する手法です。この手法は iPS 細胞以外の細胞種など他の生命システムにも適用可能であるため、RENGЕ によって様々な生命現象を支配する制御ネットワークを正確に推定できる可能性があります。RENGЕ で推定されたネットワークに基づき鍵遺伝子を特定し、特定の機能を持つ細胞を人工的に作り出すなど、新しい方法の開発が可能となるかもしれません。

4. 研究プロジェクトについて

本研究は、JST 戦略的創造研究推進事業 CREST（JPMJCR1922）、科学研究費助成事業（JP17K20146, JP21H04959, JP20K15714, JP22K06237, 17K00398, 20K12059, 19H05670, 19H03196）、三菱財団、武田科学振興財団、加藤記念バイオサイエンス振興財団、および京都大学医生物学研究所共同研究拠点他の支援を受けて実施されました。

<用語解説>

注 1（遺伝子）発現：DNA 上にコードされた遺伝子の情報に基づき、メッセンジャーRNA やタンパク質が合成され、遺伝子の機能が発揮されること。

注 2（遺伝子）ノックアウト：遺伝子の機能を破壊すること。

注 3 iPS 細胞：人工的に作られた多能性幹細胞。

注 4 多能性：細胞が、個体を構成する三胚葉すべてに分化できる能力。

注 5 タンパク質複合体：複数のタンパク質が集まったもの。複合体として特定の機能を持つことが多い。

注 6 分化：細胞が特定の形態や機能を持つ細胞に変化すること。

注 7 1 細胞 CRISPR 実験：CRISPR/Cas9 システムによる遺伝子ノックアウトと、1 細胞 RNA-seq を組み合わせることで、様々な遺伝子をノックアウトした後の発現変化を 1 細胞レベルで計測することができる手法（Perturb-seq など）。

注 8 転写因子：DNA に結合し、遺伝子の転写（メッセンジャーRNA の産生）を制御するタンパク質。

<研究者のコメント>

新しい実験技術の開発により取得可能となった大規模データから、どのように役に立つ情報を抽出するかは現在の生命科学の大きな課題です。本研究では、遺伝子ノックアウト後の発現ダイナミクスを説明する数理モデルを用いることで、遺伝子制御ネットワークを他手法より正確に推定できました。新しい実験技術とそれに適した数理的解析手法を組み合わせることで、生命システムを効率的に解明していくことができると考えられます。（石川雅人）

<論文タイトルと著者>

タイトル：RENGE infers gene regulatory networks using time-series single-cell RNA-seq data with CRISPR perturbations (RENGE は CRISPR 擾動を伴う時系列 1 細胞 RNA-seq データを用いて遺伝子制御ネットワークを推定する)

著者：Masato Ishikawa*, Seiichi Sugino, Yoshie Masuda, Yusuke Tarumoto, Yusuke Seto, Nobuko Taniyama, Fumi Wagai, Yuhei Yamauchi, Yasuhiro Kojima, Hisanori Kiryu, Kosuke Yusa, Mototsugu Eiraku, and Atsushi Mochizuki

掲載誌：*Communications Biology* DOI：10.1038/s42003-023-05594-4