

Journal Club (2024 年 1 月 15 日)まとめ

担当: 大田航平

発表論文:

Taskiran, I.I., Spanier, K.I., Dickmanken, H. *et al.*

Cell type directed design of synthetic enhancers.

Nature (2023).

<https://doi.org/10.1038/s41586-023-06936-2>

研究目的および概要:

エンハンサーとは遺伝子の転写量を増加させる作用をもつ、タンパク質をコードしない領域である。過去の知見からエンハンサーの機能はその塩基配列により決定されると考えられているが、エンハンサーの配列と機能を結ぶ具体的なロジックの解明には至っていない。そこで本研究では、任意の配列に対して、ショウジョウバエの脳細胞や人の皮膚がん細胞における「エンハンサーらしさ」を予測する深層学習モデルを活用し、細胞種特異的な合成エンハンサーのデザインを行い、デザイン過程からエンハンサー配列のロジックの解読を試みた。

ランダムに生成した塩基配列から出発し、深層学習モデルによって最も「エンハンサーらしさ」が高まると予測される一塩基変異を逐次的に加えていく方法(図1、左)と、特定の転写因子の結合モチーフを最も「エンハンサーらしさ」が高まると予測される位置に埋め込むという方法(図1、右)を用いて合成エンハンサーをデザインした。

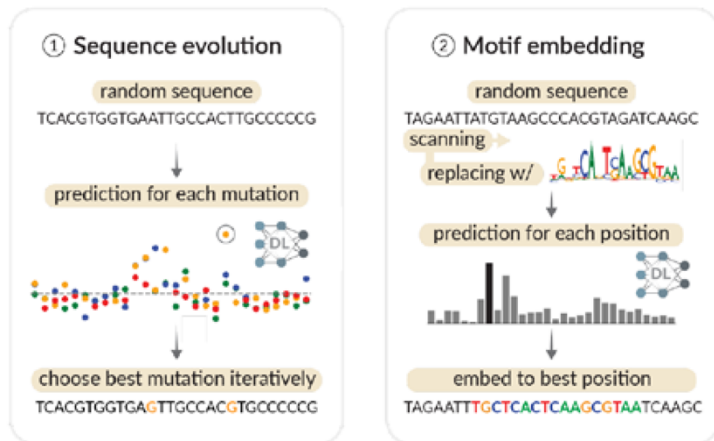


図 1

その結果、ランダム配列に 15 塩基前後の変異を加えることで、ショウジョウバエの脳の特定の細胞で機能するエンハンサーに変換することが可能であることがわかった。また、エンハンサーのデザインの過程で導入された変異は、リプレッサーの結合モチーフの破壊またはアクティベーターの結合モチーフの創造に関わるものであった。デザインされたエンハンサー配列がショウジョウバエの Kenyon 細胞とグリア細胞において

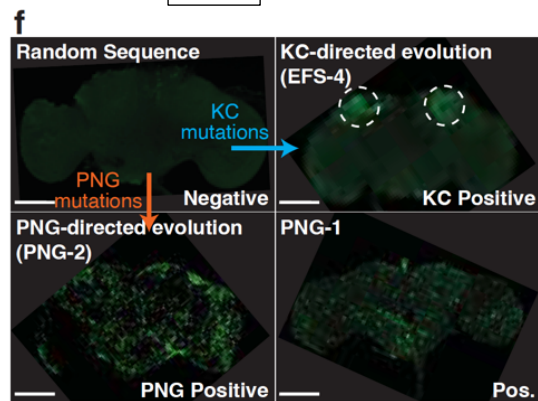


図 2

特異的に機能することを *in vivo* 実験により実証した(図 2)。

適切な位置にアクティベーターの結合モチーフを埋め込むことによって、ランダム配列をショウジョウバエの脳の Kenyon 細胞において特異的に機能するエンハンサーへと変換することができた。三つのアクティベーター (Mef2、Ey、Onecut) の結合モチーフを順番に並べた、49 塩基長の極めて短い配列 (図3左) であってもショウジョウバエの脳において細胞特異的なエンハンサーとして機能することが実験的に示された (図3右)。

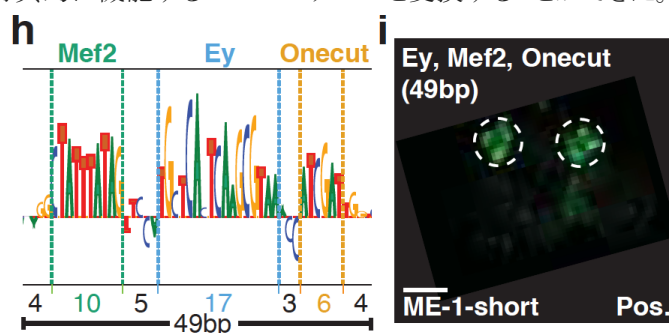


図 3

先行研究と比べて何がすごい？技術やアプローチのキモはどこ？

- 筆者らのグループがこれまでに開発した深層学習モデルを活用し、細胞種特異的に機能する合成エンハンサーのデザインおよび *in vivo* / *in vitro* 実験検証を行ったこと。

どうやってこの手法・仮説の有効性を検証したか:

- ショウジョウバエの脳の特定の細胞種に特異的に機能するようにデザインされた合成エンハンサー配列、minimal プロモータ、レポーター遺伝子 (GFP) をベクターに乗せ、ショウジョウバエの胚に組み込んだ。成熟したショウジョウバエの脳組織をイメージングし、合成エンハンサーの活性を評価した。
- ヒトのメラノーマにおいて特異的に機能する合成エンハンサー配列をデザインし、ルシフェラーゼアッセイにより合成エンハンサーの活性を評価した。

その他、議論した内容:

- ドライの手法は極めてシンプルである。この論文で最もインパクトが高いのは、デザインされた合成エンハンサーの機能を、*in vivo*、*in vitro* 実験を通して徹底的に実証した点である。
- ショウジョウバエの脳の特定の細胞のエンハンサー領域において、アクティベーターの結合モチーフが重要であることが示されたが、この結果は全ての組織に一般化できるわけではない。エンハンサーの配列と機能を結ぶロジックの包括的な理解には至っていない。
- 合成エンハンサー配列の細胞特異性を活用した治療の開発に繋がればよりインパクトが増すだろう。例えば、がん細胞だけで特定の遺伝子を発現させるような治療法などの開発はできないだろうか？

この研究をさらに発展させるとしたら:

- より多くの生物・組織における配列の「エンハンサーらしさ」を予測する深層学習モデルを開発し、合成エンハンサーのデザインを通して包括的なエンハンサー配列ロジックの理解を目指す。