総 説

自己免疫疾患とエピゲノム修飾

藤 尾 圭 志

Autoimmune disease and epigenome regulation

Keishi FUJIO

Department of Allergy and Rheumatology, Graduate School of Medicine, The University of Tokyo

(Accepted December 25, 2015)

summary

Epigenetic modifications play a central role in the cellular programming of gene expression. Two of the most characterized epigenetic modifications are DNA methylation and histone modification. Recent observation that a number of GWAS SNP for immunological diseases localize to immune enhancers suggests the importance of epigenetic modifications that control enhancer activity. Epigenome-wide analysis of DNA-methylation in systemic lupus erythematosus (SLE) and rheumatoid arthritis (RA) revealed differential DNA methylation in a number of disease-related gene pathways. With regard to histone mark, the requirement of millions of cells for established protocol prevents application to clinical samples. However, recent technical advances enable us to capture open chromatin in small amount of patient samples. As epigenetic modifications function as an integrator of environmental stimulation and the underlying genetic variant, detailed epigenetic analysis combined with genetic and environmental factors may facilitate the understanding of the progression of human immunological diseases.

Key words——autoimmunity; rheumatoid arthritis; systemic lupus erythematosus; epigenome; histone modification

抄 録

遺伝子発現はエピゲノム修飾による転写因子の結合性の調節により制御されており、この調節機構は染色体を構成する DNA およびヒストンの、メチル化やアセチル化による修飾から成り立っている。近年、自己免疫疾患の感受性遺伝子多型の多くがエンハンサー領域に存在することが明らかとなり、この事実はエンハンサーの機能を制御しているエピゲノムの重要性を示唆している。DNA メチル化に関しては、全身性エリテマトーデス (SLE) や関節リウマチ (RA) の患者検体におけるエピゲノムワイドの解析が行われ、疾患発症に関わる重要な遺伝子の DNA メチル化が低下していることが明らかとなりつつある。ヒストン修飾については、解析に必要な細胞数の多さからこれまであまり進んでいなかったが、最近の技術の進歩により少数細胞からの解析が可能となってきている。エピゲノム修飾は遺伝素因と環境要因双方の影響が統合されるレベルであり、ヒト疾患におけるエピゲノム修飾を遺伝素因と環境要因と関連付けつつ詳細に解析することで、ヒト疾患のメカニズムが明らかになることが期待される。

1. はじめに

自己免疫疾患を含む多くのヒト疾患は、その発症に遺伝素因と環境要因の影響を受けると考えられている。遺伝素因に関しては近年のゲノムワイド解析により疾患感受性遺伝子の解明が進んできたが、その中で免疫疾患の感受性多型はコーディング領域にはその 10% しか存在しないのに対し、60% はエンハンサー領域に存在することが分かってきた¹⁾。そしてこのエンハンサーの機能を制御しているのはエピゲノム修飾であることから、遺伝素因の発現には

エピゲノム制御が関与していることが明らかとなってきた。また共生微生物や共生微生物の代謝産物が、免疫細胞のエピゲノム修飾を介して免疫応答を制御することも示されてきた²⁾。これらのことから、遺伝素因と環境要因双方の影響はエピゲノム修飾のレベルで統合され、このエピゲノム修飾が以降の遺伝子発現からの細胞機能を規定すると考えられる。最近多くの自己免疫疾患においてもエピゲノムレベルの異常が報告されており、病態のより深い理解につながっている。本稿では各自免疫疾患において報告されているエピゲノムレベルの異常について概説する。

2. エピゲノム修飾機構

エピゲノム制御とはゲノムの DNA 配列の変化を伴わない遺伝子発現調節のことであり、染色体の構造変化がその分子機構として知られている³⁾。一卵性双生児は遺伝子は同一だが、細かい身体的特徴や成人後に罹る疾患などはかなり異なっており、これらはエピゲノム修飾の違いによるものと考えられる。遺伝子の転写を制御するエピゲノム修飾には主に3つのメカニズムが考えられている。一つ目は以前から知られている DNA のメチル化による転写抑制である。二つめは最近急速に理解が進んでいる、ヒストンタンパクの修飾である。三つ目が small noncoding RNA による染色体構造調節であるが、本稿では自己免疫疾患における DNA メチル化とヒストンタンパクの修飾について概説する。

哺乳類染色体 DNA のシトシンの 5 % はメチル基が共有結合している。メチル化を受けるシトシンは CpG というパリンδροミックな配列のシトシンに限定され、CpG 配列のシトシンの 7 割はメチル化を受けている。それ以外の並びの CpA, CpT, CpC, のシトシンがメチル化されることはほとんどない。この CpG 配列の新規のメチル化は DNA メチル化酵素 (DNA methyltransferase, DNMT), DNMT3a と DNMT3b が行い、複製の際のメチル化の維持を DNMT1 が担当する^{4,5)}。メチル化された DNA に対しては転写因子がその活性を発揮できなくなる。これはメチル化 DNA にメチル化 DNA 結合タンパク質複合体が結合し、その複合体中のヒストンメチル化酵素がヒストンをメチル化することで、ヒストン

を強く凝集した状態に保ち転写因子の結合を妨げるためと考えられている (図 1)。興味深いことに、およそ 70% の遺伝子のプロモーター領域周辺に見つかる CpG アイランドと名付けられた平均 1kb の領域では CpG 配列は基本的に転写の有無によらず、ほぼ完全にメチル化されていない。CpG アイランドがどのようにしてメチル化を免れているのかは未だ解明されていないが、その重要性が明らかとなりつつある脱メチル化酵素 Tet タンパク質が関与している可能性がある。

ヒストンの翻訳後修飾には、アセチル化、メチル化、リン酸化などが知られている。それぞれの修飾は近傍遺伝子群の転写活性を示す良い指標となる。これらの修飾の組合せは、転写活性やクロマチン動態に影響を及ぼすことが分かっており“ヒストンコード”と呼ばれる。一般に、ヒストンのアセチル化により染色体が開いて転写は活性化すると捉えられている (図 1)。従って脱アセチル化された染色体領域は、転写レベルでは不活性化された状態と考えられる。一方、様々なヒストンタンパク質の修飾の中で、染色体状態を規定する最も重要な修飾はメチル化であることが分かってきた。メチル化は修飾されるリシンやアルギニン残基によって意味が異なり、ヒストン H3 のリシン 4 番目 (H3K4) や H3K36 のメチル化修飾は活性化を、一方 H3K9 や H3K27 のメチル化修飾は抑制を引き起こすことが知られている。H3K4 のメチル化ではモノメチル化 (H3K4me1) はエンハンサー領域に、トリメチル化 (H3K4me3) はプロモーター領域に存在し、遺伝子の転写を促進する。ヒストン修飾はその組合せ

図 1 DNA やヒストンの修飾は DNA への転写因子の結合を制御する

によって作用が決定されることもある。通常、H3K4me3は転写活性が高い領域に、H3K27me3は転写活性が低い領域に多く存在するが、領域によっては相反する修飾が共存し“bivalent domain”と呼ばれる。細胞によっては、遺伝子発現のON/OFFを迅速に切り替えるために、必要な遺伝子ではbivalent domainにより待機状態にあると考えられる。

3. 自己免疫疾患とエピゲノム修飾

ここまで見てきたように、エピゲノム修飾は遺伝子発現を制御する重要な機構である。エピゲノム修飾は微生物や化学物質など環境要因の影響を受けることが知られている。何らかの環境要因によりエピゲノム修飾が変化すれば、それは遺伝子発現の変化につながる。その結果、免疫応答において同じ方向の変化が集積した場合には、免疫応答に異常を来す可能性がある。自己免疫疾患においてエピゲノムの解析はまだ端緒についたばかりであるが、近年の全身性エリテマトーデス（SLE）と関節リウマチ（RA）に関連する解析について述べてみたい。

1) 全身性エリテマトーデス

全身性エリテマトーデス（SLE）は自己免疫疾患の中で、最もエピゲノムに関連する報告が多い。SLEではアポトーシスを起こした細胞が重要な自己抗原であるが、アポトーシス細胞のDNAは脱メチル化されている⁴⁾。脱メチル化されたDNAは微生物のDNAと類似しているため免疫原性が高く、自己免疫応答を促進すると考えられている。プロカインアミドは薬剤性ループスを惹起することが知られているが、このプロカインアミドはDNMTを阻害することが報告され、DNAメチル化低下による何らかの遺伝子発現の亢進がSLEに関連していることを示唆している^{6,7)}。

SLEにおいて特にT細胞-B細胞相互作用を担う遺伝子が脱メチル化されていることが報告されている。CD40LはT細胞が抗体を産生するB細胞をヘルプする際に重要な共刺激分子である。CD40L遺伝子はX染色体上に存在するため、女性は潜在的には男性の2倍の遺伝子を持っているが、片方のX染色体は通常不活性化されているため、CD40Lの発現量は男性と同等に制御されている。しかしSLEではCD40Lプロモーターは脱メチル化され、女性のSLE患者は男性のSLE患者の2倍のCD40L発現量となっている⁸⁾。この事実はSLE発症の性差

と関連している可能性がある。CD70もB細胞上のCD27を刺激し、抗体産生を促進する共刺激分子である。薬剤性ループスを誘導するヒドララジンやプロカインアミドはCD70遺伝子領域の脱メチル化を誘導する。SLE患者のCD4陽性T細胞ではCD70遺伝子領域が脱メチル化され、CD70の発現量が増加している⁹⁾。

近年はゲノムワイドのDNAメチル化解析により多くの知見がもたらされつつある。Javierreらは一卵性双生児の一方のみがRA、SLEまたは皮膚筋炎（Dermatomyositis: DM）を発症した各30例について、807か所の遺伝子のプロモーターに限定して、DNAメチレーションをアレイで解析した¹⁰⁾。RAとDMでは発症の有無でDNAメチレーションに一定の差は認められなかったが、SLEでは発症している個体で49個の遺伝子のプロモーターの脱メチル化が認められた。これらの遺伝子にはIFNGR2、CSF3R（G-CSF receptor）などサイトカイン経路や細胞増殖に関与する遺伝子が多く含まれていた。この報告はSLEが他の自己免疫疾患よりもエピゲノム修飾の影響を強く受けていることを示唆している。Jeffriesらは2011年にゲノムワイドのDNAメチル化解析を報告した¹¹⁾。12例のSLE患者と12例の健康人で、27000のCpG領域を比較したところ、337か所のCpG領域がメチル化に差があり、うち7割はメチル化が低下していた。個別の遺伝子ではMatrix metalloproteinase 9（MMP9）やCD9の領域のメチル化が低下しており、遺伝子経路では葉酸合成系の遺伝子に差が見られた。特に一部の遺伝子領域のメチル化はSLEの疾患活動性と関連していた。同じグループは2013年に485,000以上のCpG領域について、SLE 18例と健康人18例のCD4陽性T細胞で解析し、47遺伝子の86か所のCpG領域でメチル化の差を認めたことを報告した¹²⁾。メチル化が低下していた35遺伝子のうちIFI44Lを含む21遺伝子は、I型インターフェロンの下流で発現する遺伝子であったが、メチル化の低下は疾患活動性とは関連がなかった。AbsherらはSLE 49例、健康人58例のCD4陽性T細胞、CD19陽性B細胞、CD14陽性単球のゲノムワイドメチル化解析を報告している¹³⁾。メチル化の差があるCpG領域は、B細胞で166領域、単球で97領域、T細胞で1033領域で、共通してI型インターフェロン下流の遺伝子近傍の領域を含んでいた。これらのメチル化の低下は、活動期だけでなく安定期にもみられた。このような

SLE の免疫細胞におけるメチル化の低下は、I 型インターフェロンへの反応性の亢進に関与している可能性があり、治療後の安定期にも残存していることから疾患の再燃とも関連しているのかもしれない(図 2)。このようなメチル化低下の機序は不明だが、Sunahori らは SLE の T 細胞で発現が亢進している protein phosphatase 2A (PP2Ac) をノックダウンすると、ERK 経路の活性化が上昇し、DNMT1 発現の亢進および CD70 発現の抑制が誘導されることを報告した¹⁴⁾。どのようなシグナルが SLE における DNMT1 の発現を制御しているのか、今後の解明が待たれる。

SLE におけるヒストン修飾に関してはまだ報告が少ない。SLE では IL-10 の血中濃度が上昇しており、IL-10 はヒトでは B 細胞機能を亢進させることから自己抗体産生に寄与している可能性がある。Hedrich らは SLE の T 細胞の IL-10 産生が STAT3 に依存しており、STAT3 がヒストンアセチルトランスフェラーゼ p300 の動員を介して IL-10 遺伝子のエピゲノムを修飾していることを報告した¹⁵⁾。今後ヒストン修飾に関する報告が期待される。

2) 関節リウマチ

RA においては、おもに末梢血単核球全体の解析で DNA メチル化全体の低下が報告されている。しかし DNA メチル化の低下と疾患活動性や、臨床的に有効な TNF 阻害療法との関連は確認されていない^{16,17)}。これらの解析は PBMC 全体を対象としており、特定の細胞集団の変化は捉えられていない可能

性がある。従来の多くの報告は一部の候補遺伝子領域に着目しており、CD40L 領域に関して SLE と同様 RA でも女性においてのみ脱メチル化されていると報告された¹⁸⁾。

2013 年に Liu らは抗シトルリン化タンパク抗体 (anti-citrullinated protein antibody: ACPA) 陽性の RA 患者 354 名と、コントロール 337 名でエピゲノムワイドの DNA メチル化解析を行った¹⁹⁾。DNA サンプルは全血であるが、各サンプル内の T 細胞、NK 細胞、B 細胞、単球および顆粒球の割合を補正して解析された。また RA の結果としての DNA メチル化と原因としての DNA メチル化を区別するために、RA の脱メチル化領域の中でも遺伝子多型と関連する部位に注目し、377 か所を同定した。興味深いことに遺伝子多型と RA の脱メチル化領域の関連の半数は、MHC 遺伝子周囲の 5Mb の領域に集中していた。さらにこの MHC 領域に焦点を当てて遺伝子多型との関連の強い脱メチル化領域を探索し、9 か所の RA の脱メチル化領域を同定した。これらの RA の脱メチル化領域は RA において最も重要な感受性遺伝子、HLA-DRB1 と有意に関連し、RA のリスクへの関与が推測された。また RA の脱メチル化領域は免疫細胞の中では、単球において高い一致率を示し、単球において機能していることが示唆された。

RA の個々の細胞に関しては滑膜細胞において、DNA メチル化が検討されている。RA の関節の CD4 陽性 T 細胞は CXCR4 を高発現しており、RA の滑膜細胞 (RASf) で産生が亢進している CXCL12 により遊走していると考えられる²⁰⁾。RASf ではこ

図 2 治療後の遺伝子発現の低下とエピゲノム状態の乖離の可能性

の CXCL12 遺伝子が脱メチル化されていることが報告されており、CXCL12 産生亢進への関与が推測される²¹⁾。2012 年に現産業医科大学の中野らは、RASf と変形性関節症 (OA) の OASF の比較では初めてのエピゲノムワイド解析を行った。メチル化に差があった 1859 の領域の中で 60% はメチル化が亢進しており、RA の免疫細胞における広範な脱メチル化とは異なっていた。メチル化に差がある経路は細胞遊走、細胞接着、細胞外マトリックス相互作用などが示された²²⁾。2013 年には同様のエピゲノムワイドな解析により、RASf と OASF では IL-6R や共刺激分子の CD26 の脱メチル化が異なっていることが報告された²³⁾。

これらの報告は RA では DNA メチル化が変化していることを示しているが、どのようなメカニズムによりこの変化が惹起されているのであろうか？試験管内で IL-1, TNF- α , TLR 刺激などを組み合わせて刺激すると、DNA をメチル化する DNMT が抑制され、特に IL-1 は DNMT 阻害剤と類似した効果を示す²⁴⁾。これらの結果は慢性炎症自体が DNA メチル化修飾による RASf の表現型につながっている可能性を示唆している。Ai らは early RA 4 例と established RA 11 例の滑膜線維芽細胞の DNA メチル化を調べ、5469 の遺伝子の CpG 領域のメチル化に差があることを報告した²⁵⁾。established RA でメチル化が低下している遺伝子の経路として、Wnt/ β -catenin 経路、インテグリン経路、レチノイン酸経路がピックアップされ、これらの経路が early RA と established RA の違いに関与している可能性が示唆された。

RA におけるヒストン修飾については報告が少ないが、岡山大学の川畑らは RASf では OASF よりヒストンデアセチラーゼ (histone deacetylase 1: HDAC1) 活性が亢進しており、RASf への TNF- α 刺激によりヒストンデアセチラーゼ (histone deacetylase 1: HDAC1) 発現が亢進することを報告した²⁶⁾。HDAC1 は細胞の増殖と分化に関連しており、p53 や p21 などの細胞増殖や細胞分裂を抑制する遺伝子の発現を低下させることが知られている。RA に関しても今後ヒストン修飾に関する報告が期待される。

4. ヒストン修飾解析法の進歩

これまでヒストン修飾の解析は、特定のヒストン修飾部位を認識する抗体を用いて免疫沈降を行

う ChIP シークエンスが中心であった。例えば抗 H3K4me1 抗体、抗 H3K4me3 抗体、抗 H3K27Ac 抗体などを超音波で破碎した染色体に結合させ、沈降してきた複合体に含まれる DNA 配列を次世代シークエンスで解析することで、特定のヒストンマークと関連する遺伝子領域の同定が可能である。この解析はエピゲノムを解析する上で非常に有効であるが、免疫沈降の抗体ごとの条件検討及び多くの細胞数が必要であり、このことがヒト疾患におけるヒストン修飾の解析があまり進まない理由であった。特に免疫沈降のステップなどでのサンプルのロスが問題で、近年は免疫沈降をせずに転写されやすい状態のオープンクロマチンを同定する方法が開発されてきている²⁷⁾。Formaldehyde-Assisted Isolation of Regulatory Elements (FAIRE) シークエンスでは、ホルムアルデヒドによりヒストン-DNA を架橋させ、フェノール・クロロフォルムにより架橋していないオープンクロマチンの DNA を抽出し、次世代シークエンスを行う。この FAIRE シークエンスでは 10 万個程度の細胞で解析が可能とされている。さらに最近、より少ない細胞数でオープンクロマチンの解析が可能な ATAC シークエンスが開発された²⁸⁾。ATAC シークエンスでは、タンパクの結合していない裸の DNA 部位に選択的に挿入されるトランスポゾンを使っている。核を抽出して、遺伝子シークエンスに用いるプライマー配列を挿入したトランスポゾンを作作用させると、染色体の裸の DNA 部分にトランスポゾンが飛び込み、ゲノム全領域の中で染色体の開いた場所を標識することができる。この標識がシークエンスプライマーになっており、この標識部位をシークエンスすることでオープンクロマチンが同定できる。この ATAC シークエンスでは 500–5 万個程度の細胞で解析が可能とされ、サンプル量に限界のあるヒトサンプルの解析に道が開かれたと言える。

5. おわりに

エピゲノム修飾は遺伝子発現の主要な制御機構であり、遺伝素因と環境要因が合流する生体応答レベルの 1 つである。自己免疫疾患におけるエピゲノム解析は、まだ始まったばかりであるが、ヒト疾患におけるエピゲノム修飾を遺伝素因と環境要因と関連付けつつ詳細に解析することで、ヒト疾患のメカニズムが明らかになることが期待される。

文 献

- 1) Farh, K.K., et al.: Genetic and epigenetic fine mapping of causal autoimmune disease variants. *Nature*. **518**: 337–343, 2015.
- 2) Furusawa, Y., et al.: Commensal microbe-derived butyrate induces the differentiation of colonic regulatory T cells. *Nature*. **504**: 446–450, 2013.
- 3) Roadmap Epigenomics Consortium, et al.: Integrative analysis of 111 reference human epigenomes. *Nature*. **518**: 317–330, 2015.
- 4) Jeffries, M.A., et al.: Autoimmune disease in the epigenetic era: how has epigenetics changed our understanding of disease and how can we expect the field to evolve? *Expert Rev Clin Immunol*. **11**: 45–58, 2015.
- 5) Branco, M.R., et al.: Uncovering the role of 5-hydroxymethylcytosine in the epigenome. *Nat Rev Genet*. **13**: 7–13, 2011.
- 6) Scheinbart, L.S., et al.: Procainamide inhibits DNA methyltransferase in a human T cell line. *The Journal of rheumatology*. **18**: 530–534, 1991.
- 7) Lee, B.H., et al.: Procainamide is a specific inhibitor of DNA methyltransferase 1. *The Journal of biological chemistry*. **280**: 40749–40756, 2005.
- 8) Lu, Q., et al.: Demethylation of CD40LG on the inactive X in T cells from women with lupus. *Journal of immunology*. **179**: 6352–6358, 2007.
- 9) Oelke, K., et al.: Overexpression of CD70 and overstimulation of IgG synthesis by lupus T cells and T cells treated with DNA methylation inhibitors. *Arthritis and rheumatism*. **50**: 1850–1860, 2004.
- 10) Javierre, B.M., et al.: Changes in the pattern of DNA methylation associate with twin discordance in systemic lupus erythematosus. *Genome research*. **20**: 170–179, 2010.
- 11) Jeffries, M.A., et al.: Genome-wide DNA methylation patterns in CD4⁺ T cells from patients with systemic lupus erythematosus. *Epigenetics: official journal of the DNA Methylation Society*. **6**: 593–601, 2011.
- 12) Coit, P., et al.: Genome-wide DNA methylation study suggests epigenetic accessibility and transcriptional poising of interferon-regulated genes in naive CD4⁺ T cells from lupus patients. *Journal of autoimmunity*. **43**: 78–84, 2013.
- 13) Genome-wide DNA methylation analysis of systemic lupus erythematosus reveals persistent hypomethylation of interferon genes and compositional changes to CD4⁺ T-cell populations. Absher DM, et al. *PLoS Genet*. **9**: e1003678, 2013.
- 14) Sunahori, K., et al.: The catalytic subunit of protein phosphatase 2A (PP2Ac) promotes DNA hypomethylation by suppressing the phosphorylated mitogen-activated protein kinase/extracellular signal-regulated kinase (ERK) kinase (MEK)/phosphorylated ERK/DNMT1 protein pathway in T-cells from controls and systemic lupus erythematosus patients. *The Journal of biological chemistry*. **288**: 21936–21944, 2013.
- 15) Stat3 promotes IL-10 expression in lupus T cells through trans-activation and chromatin remodeling. Hedrich CM, et al. *Proc Natl Acad Sci U S A*. **111**: 13457–13462, 2014.
- 16) Richardson, B., et al.: Evidence for impaired T cell DNA methylation in systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis. *Arthritis and rheumatism*. **33**: 1665–1673, 1990.
- 17) Liu, C.C., et al.: Global DNA methylation, DNMT1, and MBD2 in patients with rheumatoid arthritis. *Immunol Lett*. **135**: 96–99, 2011.
- 18) Liao, J., et al.: CD40L demethylation in CD4(+) T cells from women with rheumatoid arthritis. *Clinical immunology*. **145**: 13–18, 2012.
- 19) Liu, Y., et al.: Epigenome-wide association data implicate DNA methylation as an intermediary of genetic risk in rheumatoid arthritis. *Nature biotechnology*. **31**: 142–147, 2013.
- 20) Nanki, T., et al.: Stromal cell-derived factor-1-CXC chemokine receptor 4 interactions play a central role in CD4⁺ T cell accumulation in rheumatoid arthritis synovium. *J Immunol*. **165**: 6590–6598, 2000.
- 21) Karouzakis, E., et al.: DNA methylation regulates the expression of CXCL12 in rheumatoid arthritis synovial fibroblasts. *Genes and immunity*. **12**: 643–652, 2011.
- 22) Nakano, K., et al.: DNA methylome signature in rheumatoid arthritis. *Annals of the rheumatic diseases*. **72**: 110–117, 2013.
- 23) de la Rica, L., et al.: Identification of novel markers in rheumatoid arthritis through integrated analysis of DNA methylation and microRNA expression. *Journal of autoimmunity*. **41**: 6–16, 2013.
- 24) Nakano, K., et al.: Regulation of DNA methylation in rheumatoid arthritis synoviocytes. *Journal of immunology*. **190**: 1297–1303, 2013.
- 25) Ai, R., et al.: DNA Methylome Signature in Synoviocytes From Patients With Early Rheumatoid Arthritis Compared to Synoviocytes From Patients With Longstanding Rheumatoid Arthritis. *Arthritis*

- Rheumatol.* **67**: 1978–1980, 2015.
- 26) Kawabata, T., et al.: Increased activity and expression of histone deacetylase 1 in relation to tumor necrosis factor- α in synovial tissue of rheumatoid arthritis. *Arthritis research & therapy*. **12**: R133, 2010.
- 27) Tsompana, M., et al.: Chromatin accessibility: a window into the genome. *Epigenetics Chromatin*. **7**: 33, 2014.
- 28) Buenrostro, J.D., et al.: Transposition of native chromatin for fast and sensitive epigenomic profiling of open chromatin, DNA-binding proteins and nucleosome position. *Nat Methods*. **10**: 1213–1218, 2013.