

멀티오믹스(Multi-Omics) 접근법의 중요성: 후성유전체 및 전사체 데이터의 통합분석

멀티오믹스 접근법은 유전체(Genome), 후성유전체(Epigenome), 전사체(Transcriptome), 단백질체(Proteome) 등 다양한 '오믹스' 데이터를 통합하여 분석하는 방법을 말한다. 최근 유전체 기술의 발전으로 연구자들이 이전보다 더 많은 분자 데이터에 접근할 수 있게 되면서 더 깊이 있는 생물학적 통찰과 질병 메커니즘에 대한 종합적인 이해가 가능해졌다. 멀티오믹스 접근법은 유전자형과 표현형을 보다 효과적으로 연결하고, 새로운 약물 표적과 바이오마커를 발견할 수 있게 한다.[1]

본 기술 노트에서는 그 중에서도 후성유전체와 전사체 데이터의 통합을 통한 유전자 발현 조절을 종합적으로 이해하고 질병 메커니즘의 규명, 새로운 치료법 개발 사례를 함께 다룰 예정이다.

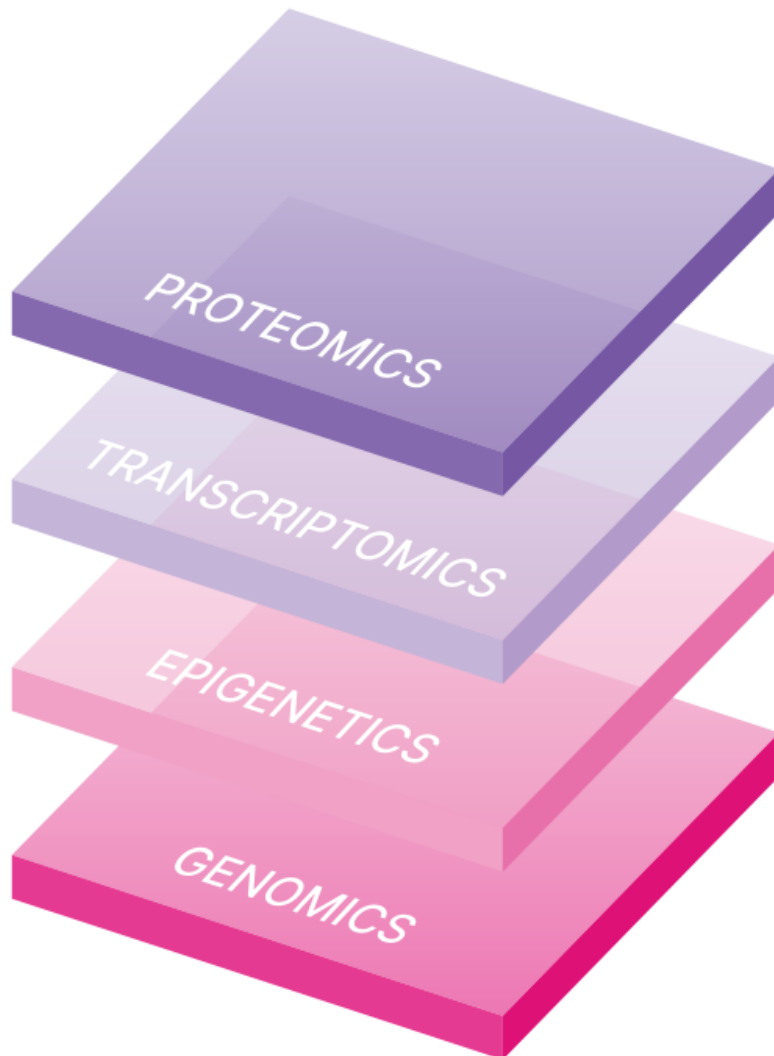


그림 1. Multiple layers of information connect genotype to phenotype [1]

후성유전학 메커니즘과 NGS

유전자 발현 조절은 생명체가 다양한 생물학적 기능을 수행하고 환경 변화에 적응하는 것에 있어서 핵심적인 역할을 한다. [2] 유전자 발현은 DNA 로부터 RNA 를 합성하는 전사(transcription)와 RNA 로부터 단백질을 합성하는 번역(translation)의 과정을 통해 이루어진다. 이 과정에서 유전자 발현은 여러 가지 수준에서 조절되는데, 그 중에서도 후성유전학적 조절 메커니즘이 특정 유전자의 발현을 켜고 끄는데 중요한 역할을 한다. [3] 후성유전학적 변화는 DNA 서열 자체를 변경하지 않으면서도 유전자 발현을 세밀하게 조절하는데, 아래와 같이 여러 메커니즘을 포함한다.

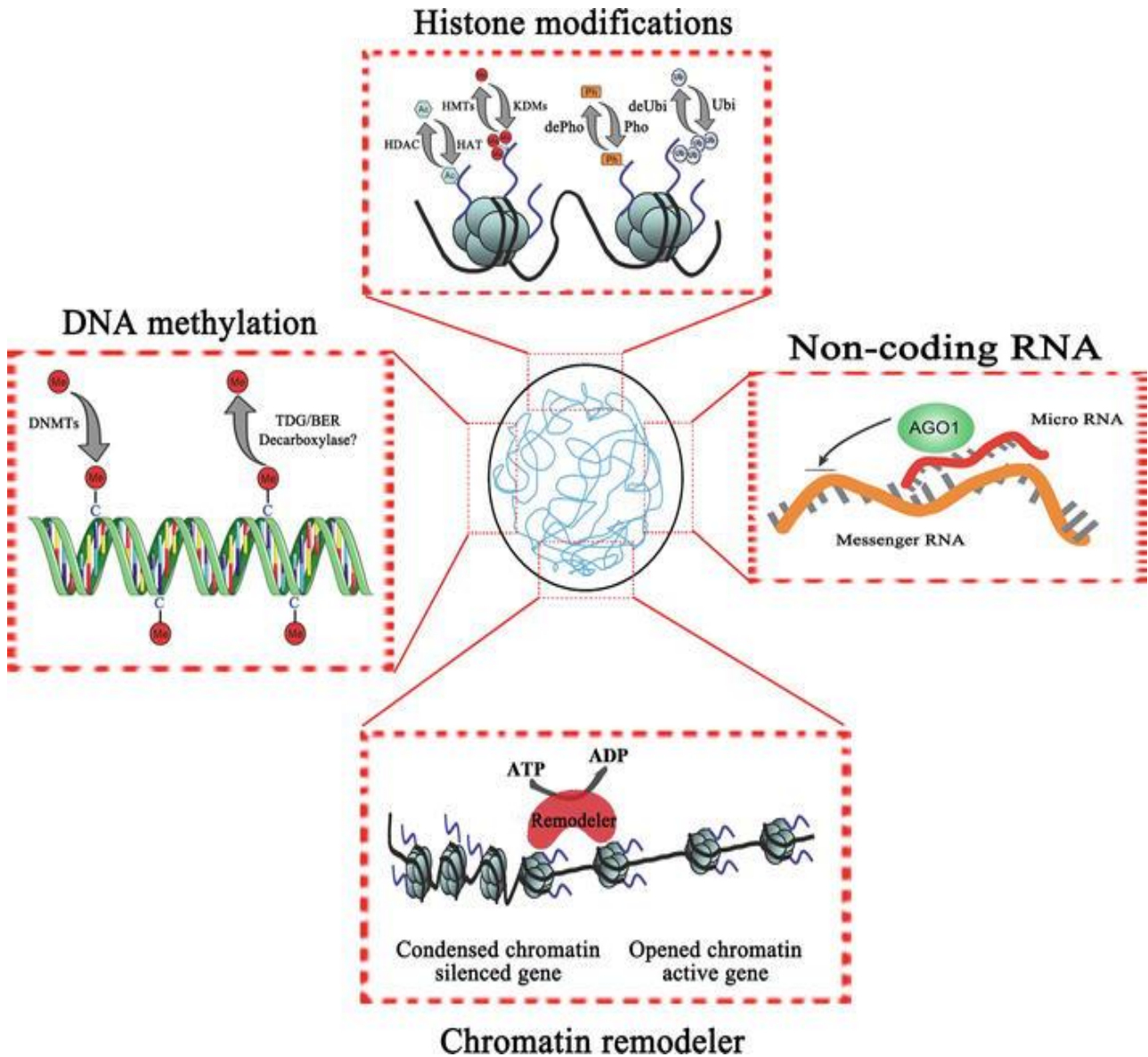


그림 2.Dynamic of epigenetic modifications.[5]

DNA 메틸화 (DNA Methylation)

DNA 의 특정 위치에 메틸기(-CH₃)가 추가되는 과정으로, 주로 사이토신 잔기(Cytosine residues)에서 발생한다. [4] 인간 게놈에는 약 6 억 개의 사이토신이 있으며, 이 중 약 5600 만 개는 구아닌이 뒤따라오는 CpG 부위에 위치한다. [6] 포유류 게놈에서는 CpG 부위의 약 70~80%가 변형되어 있는데,[7] 사이토신이 5 번 탄소 위치에서

메틸기(-CH3)로 변형되면 5-메틸사이토신(5mC)이 되며, 5mC 가 산화되면 5-하이드록시메틸사이토신(5hmC)이 형성된다. 이러한 변형은 유전자 발현과 발달을 포함한 다양한 생물학적 과정에 영향을 미친다.[8] 예를 들어, 메틸화된 사이토신(methylated cytosine)은 유전자 발현 억제와 관련이 있으며, 이는 억제된 유전자의 전사 시작 부위나 반복적인 DNA 서열 및 전이 요소에서 발견된다. 반대로, 사이토신 메틸화(cytosine methylation)는 발달 과정 중 유전자의 3' 끝부분에 있는 CpG 부위의 메틸화와 같이 일부 유전자의 발현을 활성화할 수 있다. 이처럼 5mC 와 5hmC 의 정확한 분석은 생물학적 과정을 이해하고 암과 같은 질병의 진단에 중요한 영향을 미칠 수 있다. [9]

EM-Seq (Enzymatic Methyl-Sequencing)

최근에는 메틸화 패턴 분석을 더욱 정밀하게 수행할 수 있는 기술로 Enhanced Methylation Sequencing 이 주목받고 있다. 기존에는 Whole Genome Bisulfite Sequencing(WGBS)이 메틸롬(methylome) 분석의 표준 방법으로 사용되어왔으나, Bisulfite 처리는 5mC 와 5hmC 에 저항성을 가져 우라실로 변환되지 않기 때문에 시퀀싱 과정에서 이 두 염기는 모두 사이토신으로 읽히게 된다. 즉, WGBS 는 5mC 와 5hmC 를 구분할 수 없어 정확한 메틸화 패턴과 유전자 발현 조절에 미치는 영향을 파악하기 어려운 단점이 있다. [9,10]

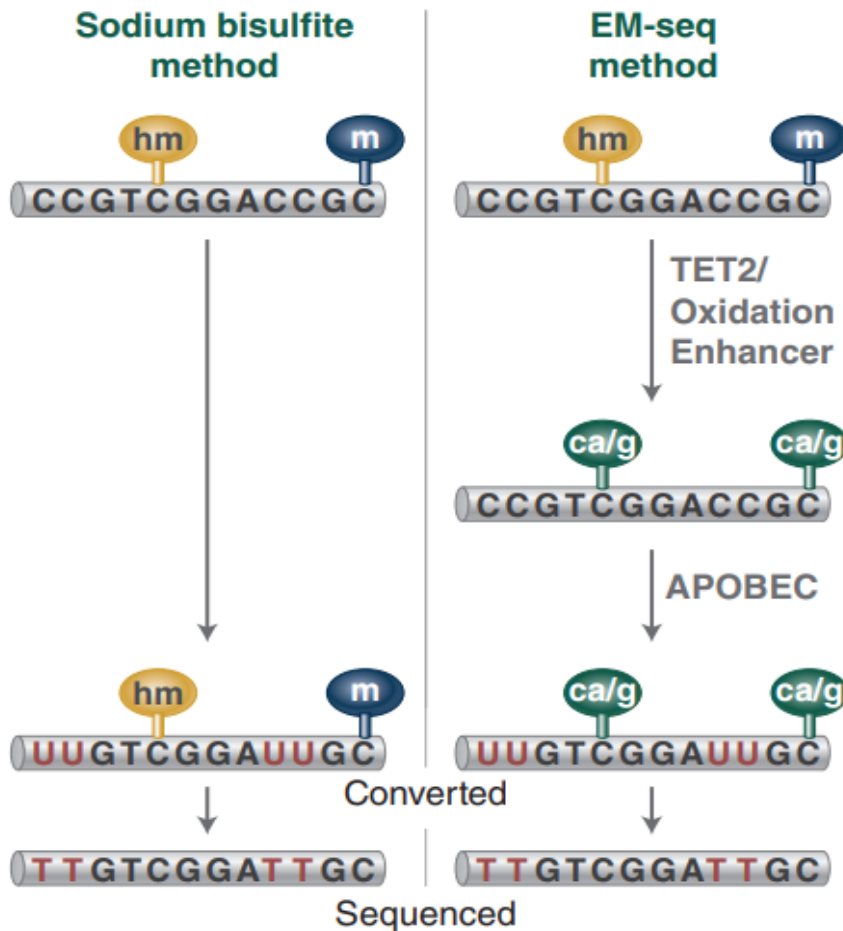


그림 3. Sodium bisulfite method vs EM-seq method [11]

이러한 한계를 극복하기 위해, 효소기반 접근법인 Enzymatic Methyl-seq(EM-seq)이 등장했다. EM-seq은 5mC 및 5hmC를 식별하는 새로운 방법으로, 효소 변환을 통해 DNA 손상을 최소화하며, 더 적은 시퀀싱 리드로 5mC 및 5hmC를 더 우수하게 검출할 수 있다. 뿐만 아니라, EM-Seq의 경우 WGBS와 동일한 서열을 생성하기 때문에 기존과 동일한 분석 파이프라인을 사용할 수 있는 장점을 가지고 있다. 완전하고 정확한 메틸롬 분석은 암과 같은 질병 상태 연구, 배아 발달 모니터링, 농업 식물 연구 등 다양한 분야에서 활용되고 있다. [11]

히스톤 변형 (Modification of Histone Proteins)

히스톤 변형은 히스톤 단백질에 화학적 태그(phosphate, methyl, or acetyl groups)를 추가하거나 제거하여 DNA 접근성을 조절하는 후성유전학적 조절 메커니즘이다. 히스톤은 DNA를 감싸 뉴클레오솜 구조를 형성하며, 이 구조는 전사인자와 RNA 중합효소의 접근성을 제어하여 유전자 발현을 조절한다. 유전자 발현이 필요할 때는 뉴클레오솜이 이동하여 특정 염색질 영역을 열어주고, RNA 중합효소와 전사 인자들이 프로모터에 결합할 수 있게 한다. 반대로 유전자가 발현되지 않도록 할 때는 히스톤이 염색질을 더 단단히 감싸 접근을 차단한다. 이렇듯 히스톤 변형은 유동적이며, 필요에 따라 태그가 추가되거나 제거될 수 있다 (그림 4). [3]

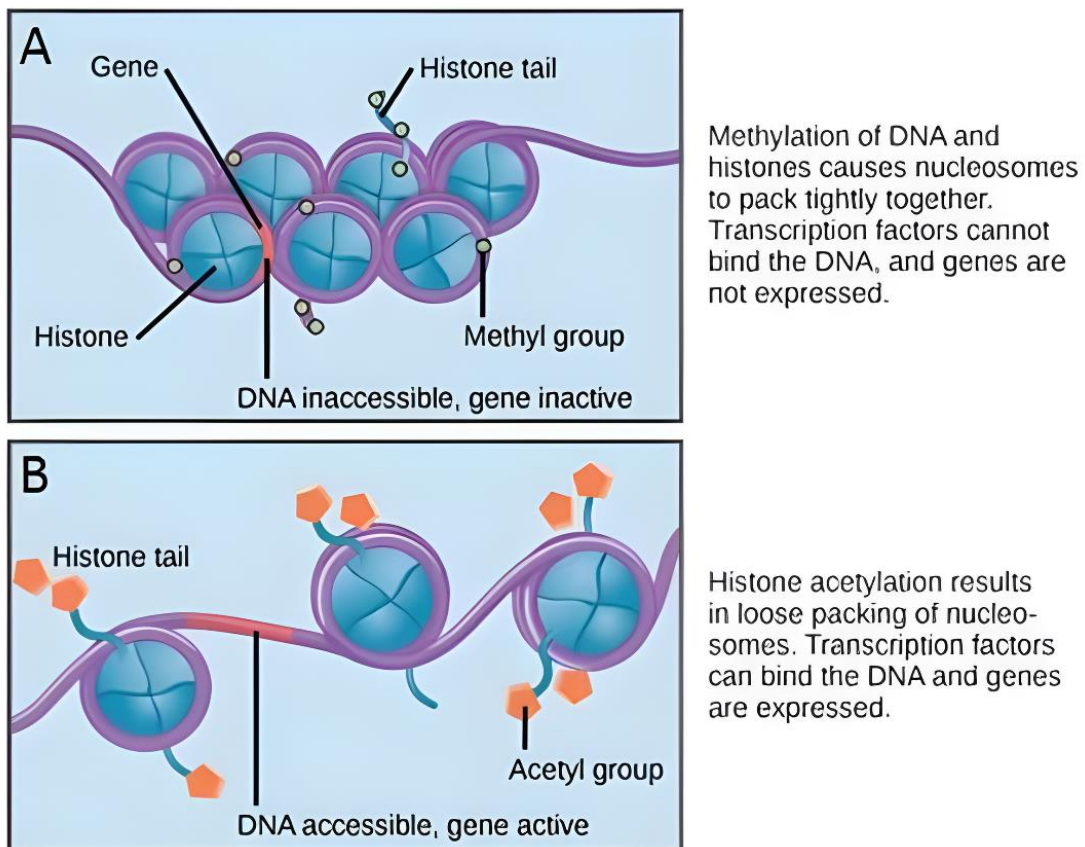


그림 4. Nucleosomes can slide along DNA.

(A) When nucleosomes are spaced closely together, transcription factors cannot bind and gene expression is turned off.

(B) When nucleosomes are spaced far apart, transcription factors can bind, allowing gene expression to occur.[3]

ChIP-Seq (Chromatin Immunoprecipitation Sequencing)

ChIP-Seq(Chromatin Immunoprecipitation Sequencing)은 특정 DNA 결합 단백질이나 히스톤 변형의 유전체 내 결합 부위를 식별하는 효과적인 방법이다. 이 기술은 세포 내 단백질을 염색질에 교차 연결하고, 염색질을 작은 조각으로 자른 후 특정 단백질에 특이적인 항체를 사용하여 단백질-DNA 복합체를 침강시키는 과정을 수행한다.[13] 이어서 침강된 DNA 조각은 유전체 전체를 분석하기 위해 NGS 기술을 사용하여 시퀀싱한 후 참조 유전체에 매핑하고 peak calling 알고리즘을 사용해 단백질의 결합 부위를 식별하는 단계로 진행된다. ChIP-Seq은 다양한 세포 유형과 조건에서 DNA-단백질 상호작용을 연구하는 데 필수적인 도구로 자리 잡았으며, 특히 히스톤 변형 연구와 유전자 발현 조절 메커니즘을 이해하는 데 중요한 역할을 하고 있다. [13,14]

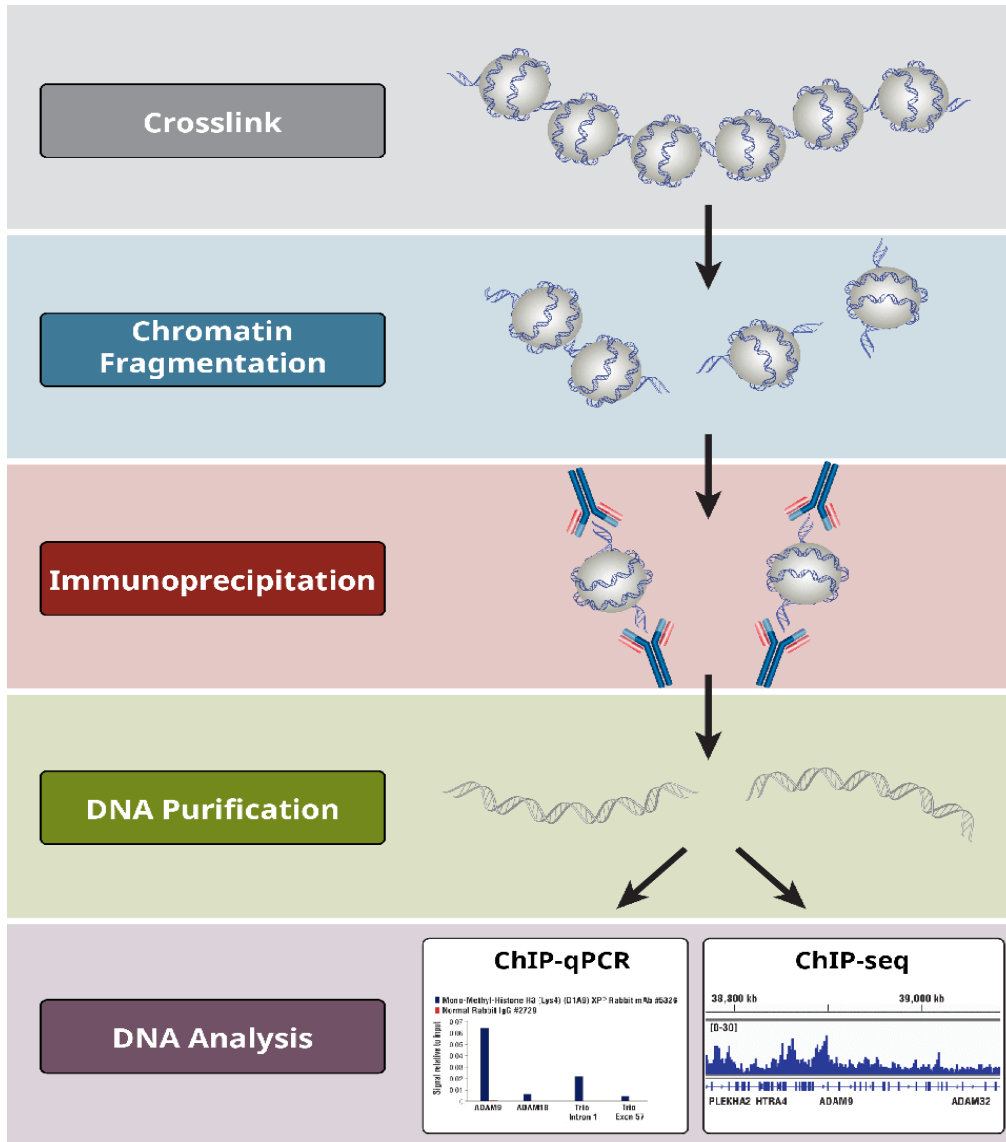


그림 5.ChIP Protocol Steps[14]

염색질 리모델링 (Chromatin Remodeling)

염색질 리모델링은 유전자 발현을 조절하는 중요한 메커니즘으로, 염색질 구조를 동적으로 변경하여 DNA 접근성을 조절한다. 이 과정은 ATP 를 사용하는 리모델링 복합체에 의해 수행되며, 뉴클레오솜의 이동, 재구성, 또는 제거를 통해 이루어진다. 염색질 리모델링 복합체는 히스톤 변형을 인식하는 특수 단백질 도메인을 통해

전사 인자와 단백질 복합체를 염색질에 모집하여 유전자 발현을 정확하게 조절한다. 뉴클레오솜의 위치와 상태는 전사, DNA 복제, 복구 과정에서 중요한 역할을 한다.[5]

ATAC-Seq (Assay for Transposase-Accessible Chromatin using Sequencing)

열린 염색질(Open Chromatin) 영역에 다양한 조절인자가 결합하게 되면 유전자 발현 변화가 생기게 된다. ATAC-Seq(Assay for Transposase-Accessible Chromatin using Sequencing)의 경우 종래 사용되었던 DNase-Seq 보다 열린 염색질 영역을 더 빠르고 민감하게 분석할 수 있는 장점을 가지고 있으며, Tn5 transposase 를 사용하여 어댑터를 열린 염색질 영역에 붙여 시퀀싱 하는 방식을 말한다. 여기서 Tn5 transposase 는 tagmentation 라고 불리는 과정을 통해 긴 DNA 가닥을 절단하는 역할을 말하며, tagmentation 은 시퀀싱 어댑터가 미리 로딩된 Tn5 transposase 로 DNA 를 '태깅(tagging)'함과 동시에 '절편화(fragmentation)' 하는 것을 의미한다. 다시 말해 태그가 붙은 DNA 단편을 정제하고 라이브러리를 만들어 시퀀싱을 수행하는 과정이라 볼 수 있다. 이를 통해 얻어지는 시퀀싱 리드(read)로 염색질의 접근 가능한 영역인 '개방 부위'를 유추할 수 있다. [15]

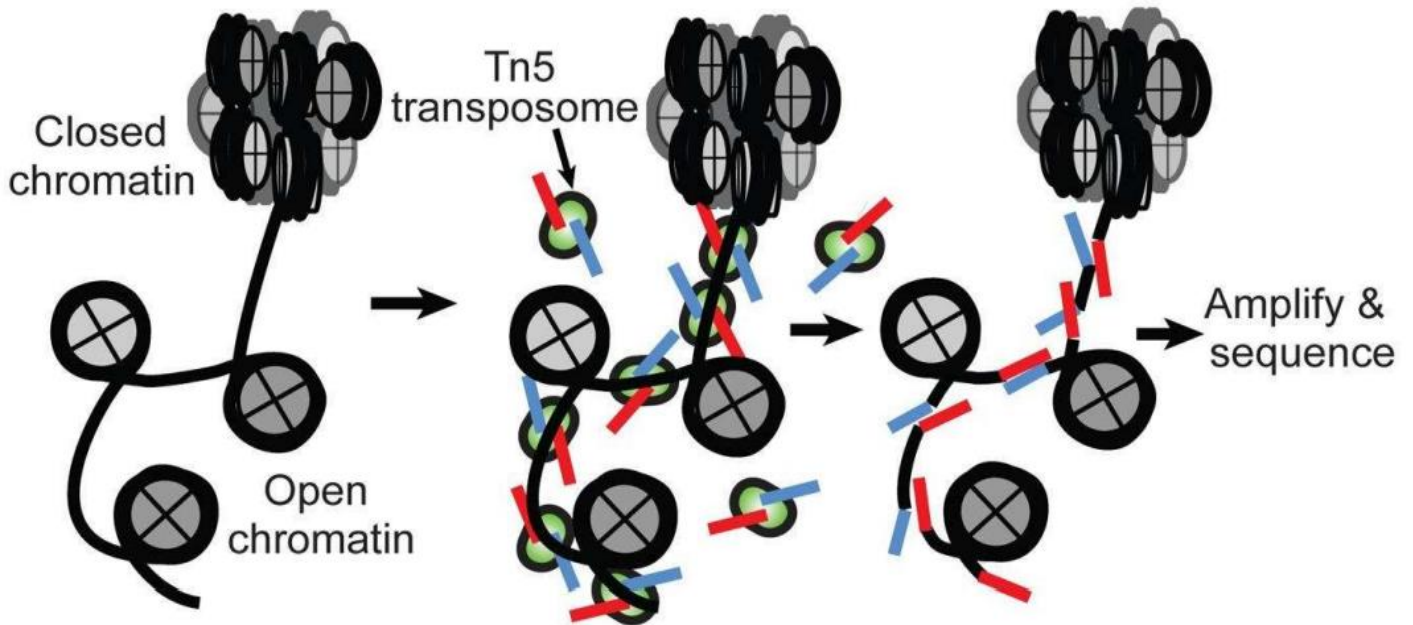


그림 6. ATAC-Seq 를 통한 염색질 접근성 분석 과정[15]

후성유전학 및 전사체 데이터 통합 분석의 중요성 및 실제 사례

후성유전학 데이터는 DNA 메틸화, 히스톤 변형, 크로마틴 접근성과 같은 다양한 비유전적 변화를 포함하여 유전자 발현을 조절하는 반면 전사체 데이터는 세포 내에서 발현되는 모든 RNA 분자의 정보를 제공한다. 이 두 데이터 세트는 상호 보완적이며, 통합분석을 통해 유전자 발현 조절의 메커니즘을 보다 명확하게 이해할 수 있다. 예를 들어, 다양한 조직에서의 유전자 발현과 DNA 메틸화 데이터의 통합은 정상 및 악성 조직 모두에서 유전자를 조절하는 분자 메커니즘에 대한 이해를 높일 수 있으며,[16] 유전학적, 후성유전학적, 전사체학적 데이터의 통합은 질병 메커니즘 뿐만 아니라, 바이오마커 발굴과 치료 전략을 파악할 수 있다. [17]

기초 과학 연구에서 후성유전학 방법에 중점을 둔 연구자들 중 77%가 전사체학 방법도 사용하고 있으며, 전사체학 방법에 중점을 둔 연구자들 중 34%가 후성유전학 방법도 사용하고 있다.[1] 이렇듯 통합적 접근법은 멀티오믹스 연구에서 필수적인 요소가 되고 있다.

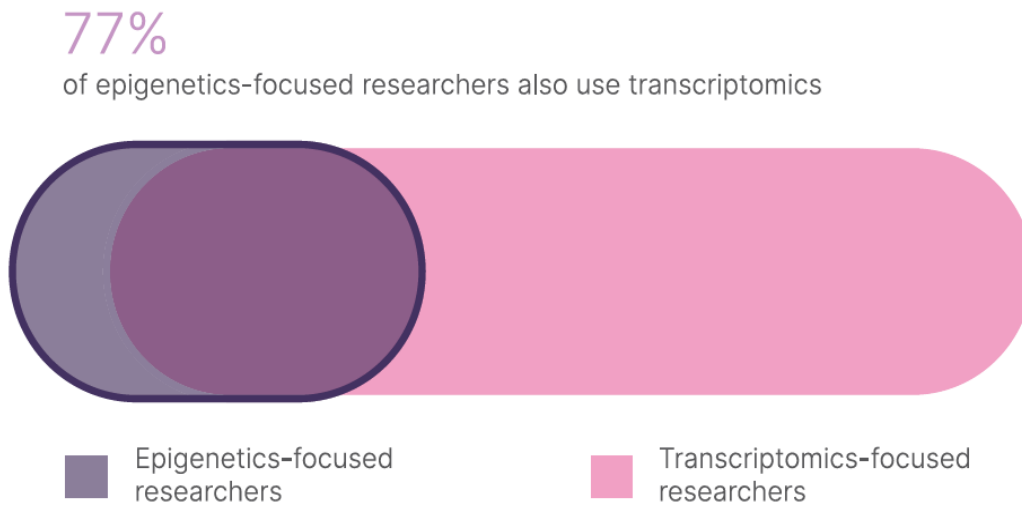


그림 7. Basic science researchers combining epigenetics + transcriptomics [1]

Integrative Analysis of ATAC-Seq and RNA-Seq Data

다음에서는 ATAC-Seq 과 RNA-Seq 데이터를 통합 분석하여 바이오마커를 보다 포괄적으로 이해하고 조기 위암(Early gastric cancer, EGC)의 표적 유전자 및 분자 메커니즘을 보다 정확히 식별한 연구 논문을 소개하고자 한다. 이 연구는 각각 30 개의 조기 위암(EGC) 조직, 위 전암성 병변(Gastric precancerous lesions, GPLs) 조직, 정상 위 점막(Normal) 조직을 분석하여 정상 위 점막에서 전암성 병변 및 조기 위암으로 전환되는 잠재적 조절 메커니즘을 밝혀냈다. GPL 및 EGC 에서 일부 유전자를 잠재적인 치료 대상으로 제안하는 새로운 관점을 제공하는 사례로, 해당 논문의 주요 내용은 아래와 같다.

1. RNA-Seq 을 통한 차등 발현 유전자 선별

- GPLs 와 EGC 간 비교에서 2,457 개의 차등 발현 유전자(dif-mRNAs)를 확인했다.
- 정상 조직(N)과 EGC 간 비교에서 2,857 개의 차등 발현 유전자를 확인하였으며, 이 중 2,548 개의 유전자는 발현이 증가했고, 2,766 개의 유전자는 발현이 감소했다. [18]

2. ATAC-Seq 을 통한 열린 염색질 영역 확인

- ATAC-Seq 을 통해 염색질의 열린 영역을 확인하여 RNA-Seq 결과와 일치하는 차등 발현 유전자들의 위치 정보를 얻었다. 이는 전사 시작 시점(TSS) 근처의 유전자 발현 조절에 중요한 영역이다.
- 최종적으로 차등 발현 유전자(DEGs)를 형성했다. [18]

3. 통합 분석

● GPLs 와 EGC 비교에서 2,205 개의 DEGs, 정상 조직(N)과 EGC 비교에서 2,578 개의 DEGs 를 확인하였으며, 두 그룹 간의 중복된 DEGs 는 1,705 개였다.

● 특히, CPS1, CYP2D6, APOB, CHST5, ANPEP 등 11 개의 유전자는 정상 조직(N)과 EGC 비교에서 발현이 증가했지만, GPLs 와 EGC 비교에서는 발현이 감소하였다. 이를 통해 이 유전자들이 종양 발생과 발달에 필수적인 역할을 할 수 있음을 확인하였다. [18]

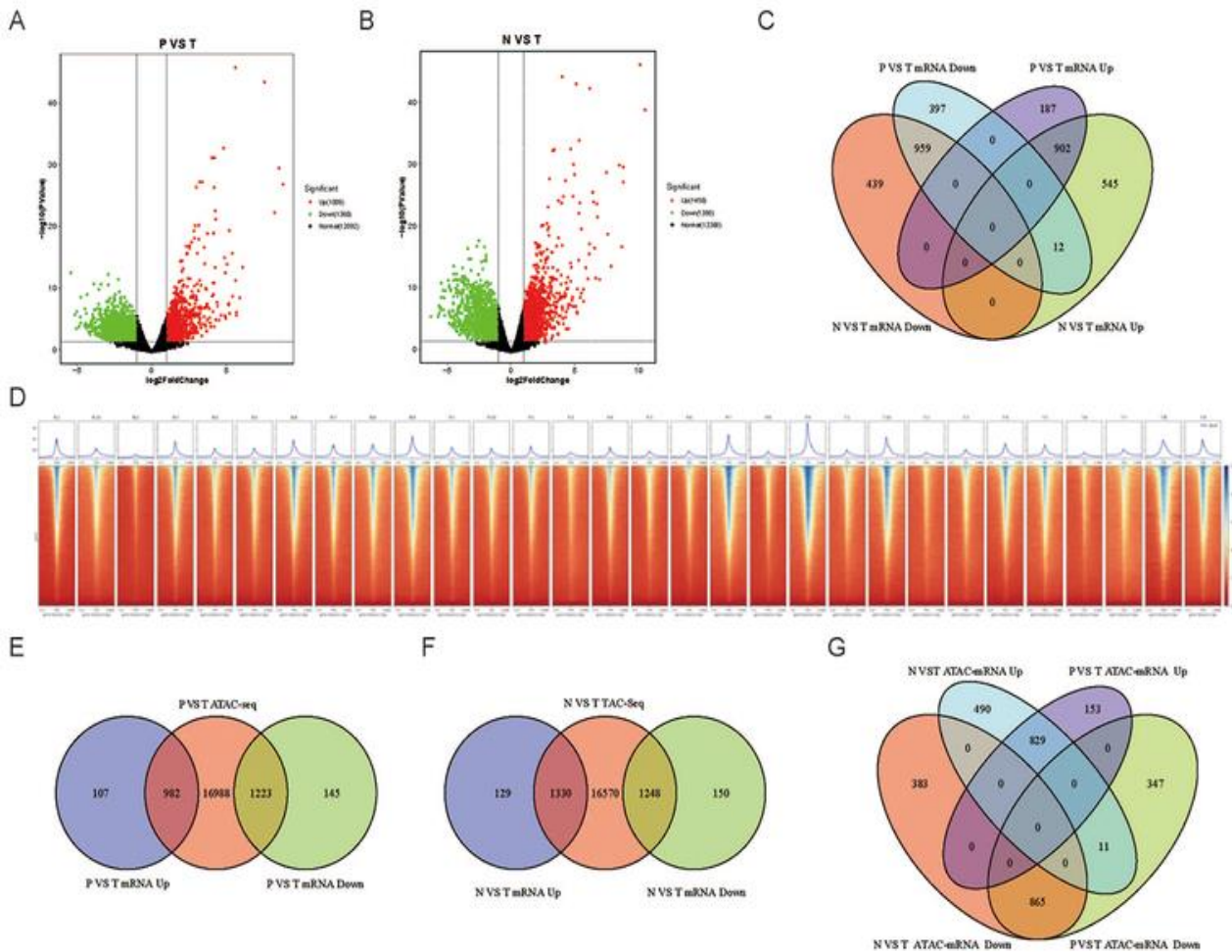


그림 8. Differential Expression and Functional Enrichment of Candidate DEGs. [18]

해당 연구에서는 miRNA 및 lncRNA 발현 분석도 추가로 이루어졌는데, 이를 통해 연구자들은 정상 조직에서 전암성 병변, 그리고 조기 위암으로 전환되는 동안 발생하는 유전자 발현 변화를 보다 명확히 이해하고, 치료 타겟이 될 수 있는 유전자들을 식별할 수 있음을 보여준다. [18]

Integrative Analysis of ChIP-Seq and RNA-Seq Data

다음은 ChIP-Seq 과 RNA-Seq 데이터를 통합 분석하여 급성 전골수성 백혈병(Acute Promyelocytic Leukemia, APL)에서 PML/RAR α 융합 단백질이 유도하는 전사 조절 이상을 재정의한 연구 논문을 소개하고자 한다. PML/RAR α 는 급성 전골수성 백혈병(APL)에서 중요한 역할을 하는 융합 단백질로, 기존에는 주로 전사 억제자로

알려져 있었으나, 본 연구에서는 ChIP-seq 과 RNA-seq 을 통해 PML/RAR α 가 유전자를 억제할 뿐만 아니라 활성화할 수도 있다는 새로운 증거를 제시했다. 해당 논문의 주요 내용은 아래와 같다.

- APL 모델인 NB4 세포를 사용하여 ChIP-seq 과 RNA-seq 통합 분석을 수행했다.
- ChIP-seq 을 통해 6,415 개의 PML/RAR α 결합 부위를 확인하고, RNA-seq 을 통해 PML/RAR α 에 의해 차등 발현되는 2,052 개의 유전자 식별했다.
- 이를 통해, PML/RAR α 는 억제 유전자 363 개와 활성화 유전자 424 개를 포함하여 총 787 개의 직접 표적 유전자를 도출하였으며, 유전자 억제와 활성화 HDAC1 과 P300 의 결합 패턴에 의해 결정됨을 확인하였다.
- 분석 결과, PML/RAR α 는 주로 슈퍼-인핸서(super-enhancer) 영역에 결합하여 유전자 발현을 조절하였으며, 이는 APL 세포의 생존에 중요한 역할을 했다. 또한 PML/RAR α 가 GF1 을 활성화함으로써 APL 세포의 분화를 억제하고, 백혈병 세포의 생존을 촉진한다는 점을 발견했다(그림 9). [19]

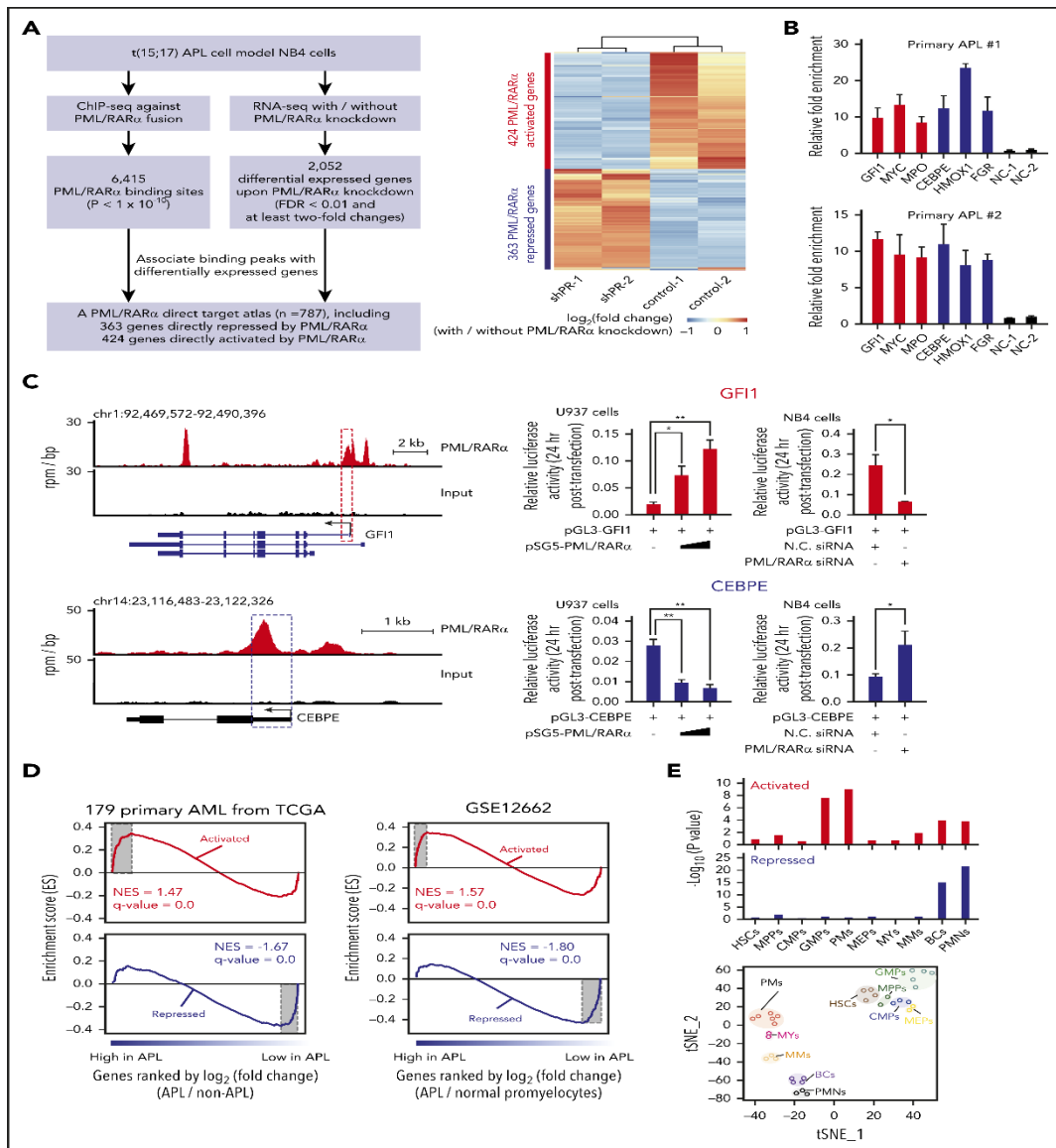


그림 9. PML/RAR α exerts both repressive and activating functions through direct binding. [19]

해당 연구에서는 이 연구는 PML/RAR α 의 새로운 유전자 활성화 역할을 규명하고, GF11 과 같은 새로운 표적 유전자를 통해 APL 치료의 새로운 타겟과 메커니즘을 제시하는 중요한 근거를 제공한다. 특히, PML/RAR α 가 슈퍼-인핸서 영역에서 염색질 구조 변화를 통해 APL 세포 생존에 중요한 유전자들을 조절한다는 중요한 발견을 함으로써 APL의 병리학적 특징을 이해하고, 새로운 치료 접근법을 개발하는 데 기여할 수 있음을 보여준다.

위 소개된 사례들은 이러한 통합분석의 실질적인 응용 가능성을 보여주며, 앞으로의 연구에서 멀티오믹스 접근법이 더욱 중요해질 것임을 시사한다.

Ebiogen's Epigenome and Transcriptome Sequencing Service

이바이오젠에서는 후성유전체 및 전사체 실험 분석 서비스를 진행하고 있으며, 타사에서 분석한 데이터 혹은 GEO 데이터 분석을 지원하는 별도의 자사 개발 분석 소프트웨어도 제공하고 있다. 자사에서는 다양한 데이터 세트를 효과적으로 활용할 수 있도록 연구자 맞춤형으로 소개하고 있다.

Enzymatic Methyl-Seq(EM-Seq) Service

DNA 손상 없이 methylation 분석이 가능한 EM-Seq 서비스를 제공하고 있다. 기존의 Whole Genome Bisulfite Sequencing(WGBS)은 bisulfite 처리를 통해 DNA 가 손상되어 편향된 결과를 얻을 수 있는 단점이 있다. 이바이오젠은 이를 해결한 enzyme-based 방법을 사용하여 DNA 의 손상을 최소화하고 효과적으로 5-mC 와 5-hmC 를 검출할 수 있는 서비스를 제공하고 있다.

Sample requirement	>2ug gDNA
Sample Type	gDNA
Library method	NEBNext® Enzymatic Methyl-seq Kit
NGS run format	Illumina NovaSeq6000, PE150bp
Data yield	~120G/sample
Turnaround time	~6 weeks after DNA QC

Chromatin Profiling (ChIP-Seq) Service

후성유전학 연구를 위해 매우 유용한 DNA 와 조절 단백질 간의 상호작용을 분석할 수 있는 ChIP-Seq 서비스를 제공하고 있다.

Sample requirement	>20ul IP-DNA
Sample Type	IP-DNA
Library method	NEB Ultra DNA Library kit
NGS run format	Illumina NovaSeq6000, PE100bp
Data yield	~4G/sample
Turnaround time	~3 weeks after Library QC

Transposase-Accessible Chromatin Profiling (ATAC-Seq) Service

과활성 돌연변이 Tn5 transposase 가 DNA 부위를 단편화하고 NGS adaptor Tagmentation 을 통해 open chromatin 영역을 profiling 하고 있으며, 유전자 발현 과정에서 일어나는 염색질(chromatin) 구조적 변화에 따른 접근 가능한 영역을 분석하고 있다.

Sample requirement	> ~1x10 ⁶ cells in 1ml media (Cell viability >80%)
Sample Type	Cell
Library method	ACTIVE MOTIF® ATAC-Seq Kit
NGS run format	Illumina NovaSeq6000, PE100bp
Data yield	~6G/ sample
Turnaround time	~5 weeks after Cell QC

Total RNA-Seq / mRNA-Seq Service

Genome Sequencing 이 완료된 생물종을 대상으로 RNA 를 분리하여 NGS 기술을 통해 전사체(transcriptome) 분석을 수행하고 있다. mRNA expression profiling 분석 이외에도 lncRNA, isoform, Alternative Splicing Event 등 다양한 분석을 지원하고 있다.

	Total RNA-Seq	mRNA-Seq
Sample requirement	>2ug total RNA	>2ug total RNA
Library method	RiboCop rRNA Depletion kit	Poly(A) RNA Selection kit

	+ CORALL RNA-seq Library Prep kit	+ CORALL RNA-seq Library Prep kit
NGS run format	HiSeq or NovaSeq, PE100	
Data yield	>6Gb/sample	>4Gb/sample
Turnaround time	~4 weeks after RNA QC	
Sample type	Tissue, Cell, Whole Blood(Paxgene), Plant, Fungi, Bacteria, etc.	

QuantSeq 3' mRNA-Seq Service

Poly(A)가 존재하는 생물종을 대상으로 RNA 를 분리하여 3' UTR 부분을 짧게 시퀀싱하고 유전자 발현 분석을 수행하고 있으며, mRNA expression profiling 분석만을 요구할 시 매우 저렴하게 고품질의 데이터를 제공하고 있다.

Sample requirement	>10ng total RNA
Sample Type	Tissue, Cell, Whole Blood(Paxgene), Plant, Fungi, FFPE, Sorted cell, etc.
Library method	QuantSeq 3' mRNA-Seq Library Prep Kit FWD
NGS run format	NextSeq 500/550, SE 75bp
Data yield	>10M read/sample
Turnaround time	~3 weeks after RNA QC

++ RNA prep.을 원하실 경우 담당자와 상의하여 진행이 가능.

ExDEGA(Excel based DEG Analysis)

ExDEGA(Excel based Differentially Expressed Gene Analysis) 분석툴은 연구자들이 엑셀 기반으로 RNA-Seq 또는 Microarray, Proteomics 데이터를 보다 쉽게 직관적으로 다룰 수 있도록 사용자 편의를 최대한 반영한 분석툴이다.

ExDEGA 는 사용자들의 요구사항을 지속적으로 반영하여 엑셀사용에 익숙하지 못한 연구자들도 쉽게 사용이 가능하도록 계속 업데이트될 예정이며, 해당 분석툴은 이바이오젠에서 제공하는 RNA-seq 및 Microarray 및 Proteomics 데이터(엑셀 파일)에서만 사용할 수 있다.

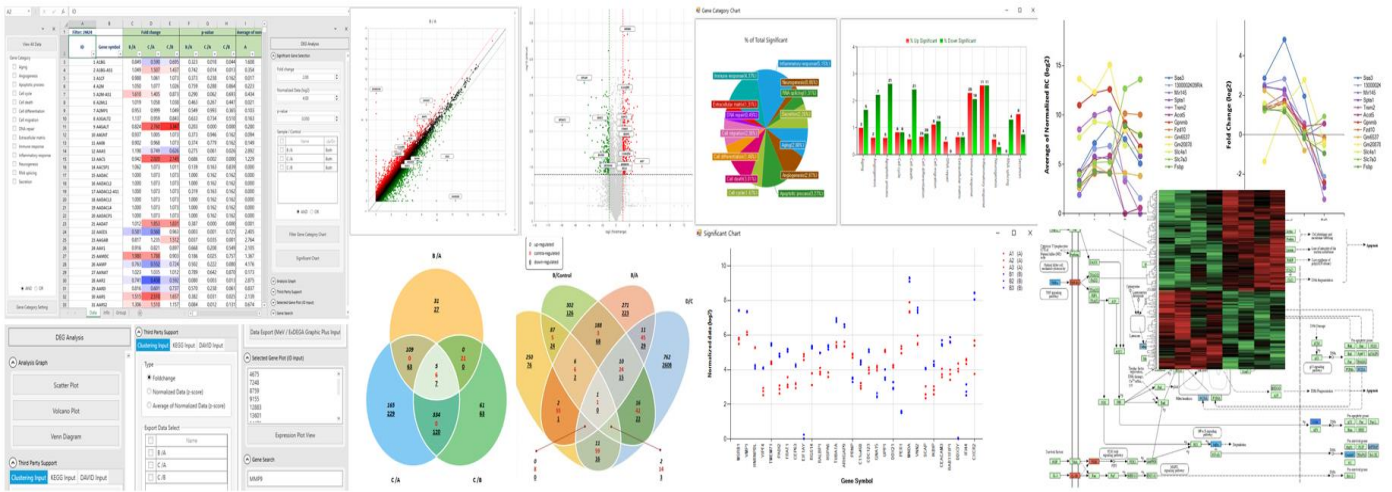


그림 10. ExDEGA Analysis image

ExPADA(Excel based Peak Annotation and Differential enrichment Analysis)

ExPADA(Excel based Peak Annotation and Differential enrichment Analysis)는 연구자들이 DNA-Seq (EM-Seq, ChIP-Seq, ATAC-Seq) 데이터를 보다 쉽고 직관적으로 다룰 수 있도록 만든 엑셀 기반의 분석 도구이다. DNA-Seq의 분석 결과로부터 ExPADA를 이용하여 유용한 정보를 얻을 수 있으며, 사용자들의 요구사항을 지속적으로 반영하여 엑셀 사용에 익숙하지 않은 연구자들도 쉽게 사용할 수 있도록 지속적으로 업데이트 될 예정이다.

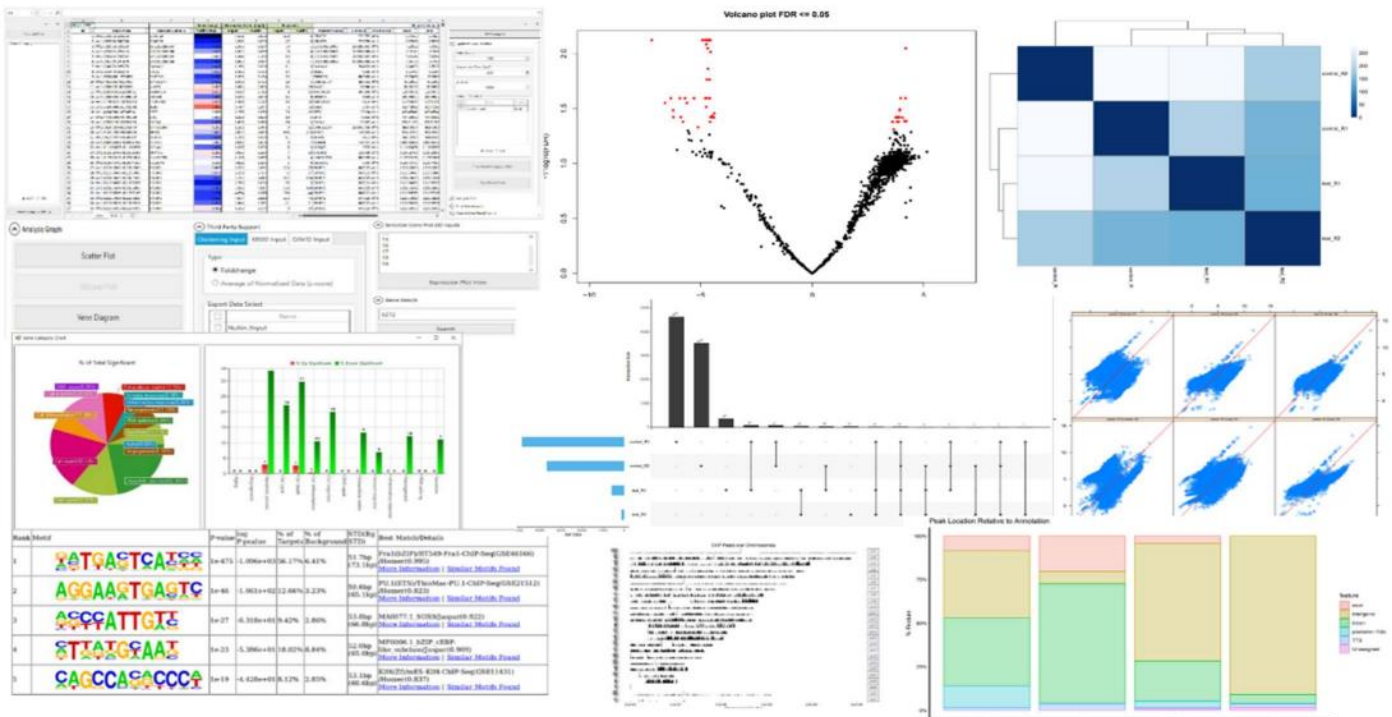


그림 11. ExPADA Analysis image

< 참고 문헌 >

1. Illumina. (2022). *Multimomics eBook*
2. Wikipedia. (2023). *Regulation of gene expression*.
3. RWU Pressbooks. (2023). *Chapter 17. Regulation of Gene Expression – Introduction to Molecular and Cell Biology*.
4. Alokail, M.S., & Alenad, A.M. (2015). *DNA Methylation*. In M. Gunduz (Ed.), *A Concise Review of Molecular Pathology of Breast Cancer*. IntechOpen.
5. Cui, G., Dong, Q., Gai, K., & Qi, S. (2022). *Chromatin Dynamics: Chromatin Remodeler, Epigenetic Modification and Diseases*. In T. Huang (Ed.), *Epigenetics - Regulation and New Perspectives*. IntechOpen
6. International Human Genome Sequencing Consortium. (2001). *Initial sequencing and analysis of the human genome*. *Nature*, 409, 860–921.
7. Schübeler D. 2015. *Function and information content of DNA methylation*. *Nature* 517: 321–326. 10.1038/nature14192
8. Smith ZD, Meissner A. (2013). *DNA methylation: roles in mammalian development*. *Nat Rev Genet* 14: 204–220.
9. Vaisvila R, Ponnaluri VKC, Sun Z, et al. (2021). *Enzymatic methyl sequencing detects DNA methylation at single-base resolution from picograms of DNA*. *Genome Res* 31: 1280–1289.
10. Skvortsova, K., Zotenko, E., & Luu, P.-L. (2017). *Comprehensive evaluation of genome-wide 5-hydroxymethylcytosine profiling approaches in human DNA*. *Epigenetics & Chromatin*, 10, Article 16.
11. New England Biolabs. (n.d.). *NEBNext Enzymatic Methyl-seq (EM-seq) Technical Note*
12. Nakato, R., & Shirahige, K. (2017). *Recent advances in ChIP-seq analysis: from quality management to whole-genome annotation*. *Briefings in Bioinformatics*, 18(2), 279-290.
13. Sundaram, A. Y. M., Hughes, T., Biondi, S., et al. (2016). *A comparative study of ChIP-seq sequencing library preparation methods*. *BMC Genomics*, 17, Article 816.
14. Cell Signaling Technology. [ChIP Protocol Steps]. Retrieved from [<https://www.cellsignal.com/applications/chip-and-chip-seq/regulation-expression-in-cell-and-tissue>]
15. 이바이오젠. (2022). [기술노트] *Epigenetics (후성유전학) 개요 및 기술*.
16. Itai, Y., Rappoport, N., & Shamir, R. (2023). *Integration of gene expression and DNA methylation data across different experiments*. *Nucleic Acids Research*, 51(15), 7762–7776.
17. Hermani, S., Yarmolinsky, J., & Millstein, J. (2018). *Making sense of the epigenome using data integration approaches*. *Frontiers in Genetics*.
18. Chen, N., Liu, Q., Ma, X., et al. (2021). *Integrative Analysis of ATAC-Seq and Whole-Transcriptome Sequencing in the Trilog of Gastric Carcinogenesis: From Normal Mucosa to Precancerous Lesions and to Gastric Cancer*.
19. Tan, Y., Wang, X., & Song, H. (2021). *A PML/RARa direct target atlas redefines transcriptional deregulation in acute promyelocytic leukemia*. *Blood*, 137(11), 1503-1516.