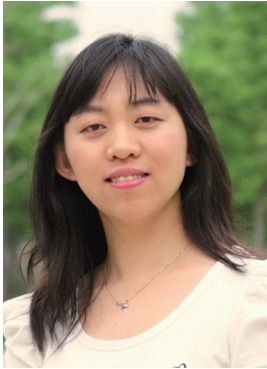


DOI: 10.13376/j.cblls/2015045

文章编号: 1004-0374(2015)03-0336-08



王秀杰, 生物信息学家, 现任中国科学院遗传与发育生物学研究所研究员、分子系统生物学研究中心主任。兼任 *RNA Biology*、*BMC Genomics* 等杂志编委, 以及第五届中国青年科技工作者协会常务理事和中国遗传学会青年委员会副主任委员等职务。在国际学术期刊发表 SCI 论文 70 余篇, 被他引 2 500 余次。曾获得国家自然科学奖、中国青年五四奖章、中国科学院杰出科技成就奖等奖励。该课题组长期从事表观遗传调控相关的生物信息学研究, 主要关注转录组多样性与功能, 以及不同类型表观遗传修饰间的相互调控关系。此外, 该课题组也根据需求开发一些针对高通量数据的生物信息分析软件。

染色质高级结构——基因组调控的重要形式

苑宝文^{1,2}, 王秀杰^{1*}

(1 中国科学院遗传与发育生物学研究所, 植物基因组学国家重点实验室, 北京 100101; 2 中国科学院大学, 北京 100049)

摘要: 真核生物的染色体高度致密, 且在细胞核中形成多种构象。近年来发展起来的染色体构象捕获技术及其衍生技术, 使得在分子水平上研究染色质结构与功能成为可能。越来越多的证据表明, 染色质高级结构的形成并不是随机的, 而是参与调控基因表达的一个关键因素。主要介绍基于染色体构象捕获技术发展出的不同技术, 并总结目前关于染色质高级结构的特征与功能的知识。

关键词: 染色体构象捕获; 染色质高级结构; 染色质环结构

中图分类号: Q243 **文献标志码:** A

Chromatin higher-order structure: an important form of genome regulation

YUAN Bao-Wen^{1,2}, WANG Xiu-Jie^{1*}

(1 State Key Laboratory of Plant Genomics, Institute of Genetics and Developmental Biology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China; 2 University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Abstract: Eukaryotic chromosomes are highly compact and form various conformations in cell nucleus. The recent development of chromosome conformation capture (3C) technology and other related technologies have enabled the identification and functional studies of chromatin structures at the molecular level. Increasing lines of evidence have shown that the formation of chromatin higher-order structures is not random, but serves as a key factor to facilitate gene expression. Here, we will introduce the basic concepts of variable 3C-based chromatin structure investigation techniques, and review the current knowledge about the features and functions of chromosome higher-order structures.

Key words: chromosome conformation capture (3C); chromatin higher-order structure; chromatin loop

收稿日期: 2015-03-02

基金项目: 国家重点基础研究发展计划(“973”项目)(2011CBA01101); 国家高技术研究发展计划(“863”计划)(2012AA020404); 植物基因组学国家重点实验室自主研究课题(SKLP2011B0105)

*通信作者: E-mail: xjwang@genetics.ac.cn

1 染色质高级结构简介

DNA 是遗传信息的载体, 是维持细胞生命活动的基本元件。在细胞核中, DNA 双螺旋上会结合很多组蛋白、非组蛋白以及 RNA 分子, 并依赖这些蛋白与 RNA 分子折叠形成具有一定高级结构的 DNA 蛋白纤维, 称为染色质。在细胞分裂期, 染色质进一步紧密盘绕折叠, 从而形成高度螺旋化的染色体。近期的研究表明, 除了一级结构携带的遗传序列信息, 染色质的三维结构对于基因表达、DNA 复制、DNA 损伤修复等均具有重要的调控作用^[1-4]。研究发现, 包括癌症在内的很多疾病都伴随着染色质空间结构的改变^[4-6]。

2 染色质高级结构的检测方法

传统研究细胞核中染色质相互作用的手段主要是通过荧光原位杂交 (fluorescence *in situ* hybridization, FISH)^[7] 技术, 利用荧光标记染色质或染色质上的特定位点, 并在显微镜下测量荧光标记物之间的空间距离^[4]。基于这一方法, 科学家们发现了细胞分裂间期细胞核中各个染色体会形成相对独立的染色体域 (chromosome territories, CTs), 以及基因和其远端的调控序列之间的紧密且非随机的相互作用等基本染色质三维结构特征^[8-9]。

但是, 传统的染色质荧光成像方法具有较大的局限性, 最突出的缺点是低通量和低分辨率, 很难精细解析细胞内染色质在不同时期和不同组织中精细的高级结构^[4, 10-11]。

近年来随着高通量测序技术的发展, 科学家们开发出了一系列在分子水平研究细胞核中染色质高级结构的新技术, 推动了染色质高级结构研究的快速发展。其中, 染色体构象捕获 (chromosome conformation capture, 3C) 技术及其衍生技术是目前应用最广泛的技术。

2.1 3C技术

染色体构象捕获 (3C) 技术最初是由 Dekker 等^[12] 在研究酵母的生殖时发明的。

基于 3C 技术的一般工作流程如下^[12-15]: (1) 用甲醛处理细胞 (或者分离的细胞核), 使染色质相互作用的位点被交联固定; (2) 利用限制性内切酶或超声打断 DNA; (3) 在极低 DNA 浓度的溶液中加入高浓度的连接酶, 使得被交联在一个蛋白质复合物中的 DNA 片段末端相连, 而非交联的 DNA 片段间连接的几率很低; (4) 用蛋白酶解交联, 使

得 DNA 从蛋白上脱离; (5) 利用定量 PCR 或测序等方法检测连接位点; (6) 数据分析处理, 解析染色质相互作用的位置 (图 1)。

3C 技术曾被用于研究酵母^[16] 和人的胸腺细胞^[17] 中不同距离的染色体基因位点间的相互作用。理论上, 3C 技术可以检测基因组上任何两个已知 DNA 片段之间的相互作用, 但是研究发现其更适合于检测距离范围在 5 kb 到几百 kb 之间的 DNA 片段间的相互作用^[18]。并且 3C 技术仅能用来检测已知或推测有相互作用的位点, 是“一对一”的检测方法, 检测通量和覆盖度都很低, 无法大规模发现未知的染色质空间结构。为克服这些局限, 基于 3C 技术又发展出了多种染色质高级结构检测方法, 以下将逐一进行简要介绍。

2.2 4C技术










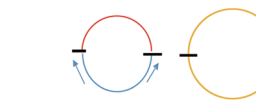
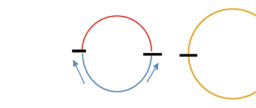



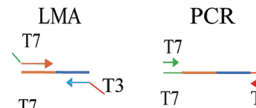
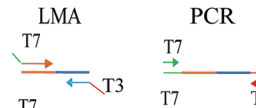



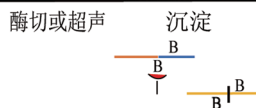
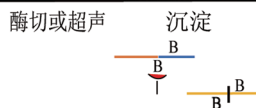









4C (circular chromosome conformation capture) 技术^[19] 是基于 3C 技术“一对一”检测的基础上, 发展出的“一对多”的检测方法, 可以用来检测某一特定 DNA 片段与基因组上所有其他 DNA 片段之间的相互作用。4C 技术基于邻近连接的原理: 利用高浓度的 DNA 连接酶和较长的连接时间, 使得 DNA-蛋白质复合物形成环化 DNA; DNA 解交联后, 在与目标 DNA 邻近的特异性引物的指导下, 对捕获的 DNA 序列进行扩增和测序。

4C 技术最初用于研究 β -globin (组织特异性基因) 和 *Rad23a* (管家基因) 与基因组上其他位点间的相互作用图谱^[20]。此后, 其他 4C 实验也相继开展, 比如研究基因座控制区^[21] (locus control region, LCR) 和 Polycomb 蛋白家族^[22-23] 对下游基因簇的调节作用等。4C 技术可以根据某一目标 DNA 序列, 来检测所有与其相互作用的 DNA 序列, 实现了“一对全部”的检测。

2.3 5C技术

5C (chromosome conformation capture carbon copy) 技术是基于 3C 技术“一对一”检测的基础上, 发展出的“多对多”的检测方法, 可以同时检测很多位点之间的相互作用^[24]。5C 技术的基本原理是: 在 3C 引物的两端分别加上通用引物 (如 T3 和 T7), 然后进行扩增与测序。根据连接介导的扩增反应 (ligation-mediated amplification, LMA) 的原理, 只有具有相互作用的片段才能被扩增。

5C 技术已经被成功地用来检测人的 α -globin^[25]、 β -globin^[24] 以及 HOXA-D 基因簇^[26-28] 的表达调控。5C 技术虽然使用通用引物提高了通量, 但由于很

细胞或组织	交联	断裂	连接	解交联	检测	技术	特点	
					定量 PCR 	3C	一对一	
						酶切 反向 PCR 测序 	4C	一对全部
						LMA PCR 测序 	5C	多对多
						酶切或超声 沉淀 测序 	Hi-C	全部对全部
						定量 PCR 	ChIP-loop	一对一
				加连接子 酶切 DNA模板 PET-seq 	ChIA-PET	全部对全部		

注：检测手段及所能检测的相互作用范围是这些技术的主要区别。

图1 基于3C的技术原理示意图

难设计出针对所有位点的 PCR 引物，仅能实现“多对多”的检测。相对于可以检测全基因组范围相互作用的技术，5C 技术的检测通量仍然受到限制。

2.4 Hi-C技术

Hi-C 技术是第一个从 3C 技术发展出的“全部对全部”的检测方法，可以捕获全基因组范围的染色质相互作用^[29]。Hi-C 技术的基本原理是：将交联的 DNA 片段用一种 DNA 限制性内切酶（如 HindIII）酶切，然后使用生物素标记的核苷酸修复黏性末端，再使用平端 DNA 连接酶在低浓度下连接带有生物素标记的邻近 DNA 片段，然后利用生物素抗体纯化连接片段，进而进行高通量测序^[29-31]。

基于 Hi-C 技术鉴定了很多染色质高级结构模型，比如染色体区室（chromosome compartments）^[29]、不规则球体模型（fractal globule model）^[29]、拓扑关联结构域（topologically associating domains, TADs）^[32]、染色质环结构（chromatin loops）^[33] 等。Hi-C 技术是一种无偏差和高覆盖度的技术，实现了对整个基因组三维结构的全面解析。

2.5 Hi-C衍生技术

基于 Hi-C 技术发展而来的系链式构象捕获（tethered conformation capture, TCC）技术在固相载体而非溶液中进行连接反应，大大降低了噪音，提高了检测结果的信噪比^[34]。单细胞 Hi-C 技术是将 Hi-C 技术应用到单个细胞核中，可以捕获单个细胞核内的染色质高级结构，可用于分析细胞之间染色体高级结构的差异^[35]。此外，还有原位（*in situ*）Hi-C 技术等基于 Hi-C 技术衍生出的检测技术^[36]。

2.6 ChIP-loop技术和ChIA-PET技术

ChIP-loop（chromatin immunoprecipitation loop）技术^[37]和 ChIA-PET（chromatin interaction analysis using paired end tag sequencing）技术^[38]都是用来检测由特定蛋白质介导的 DNA 片段之间的相互作用。ChIP-loop 技术是由 3C 技术发展出来的“一对一”的检测技术，用于检测由特定蛋白介导的已知位点之间的相互作用，和 3C 技术在检测方法上相同。

ChIA-PET 技术是基于 3C 技术“一对一”检测的基础上，发展出的“全部对全部”的检测方法^[38]，

可以检测由特定蛋白介导的全基因组范围染色体之间的相互作用。ChIA-PET 技术的主要原理是^[38-39]: 用甲醛交联 DNA 和蛋白质, 固定所有结合于目标蛋白质的 DNA-DNA 间的长距离相互作用。超声后的 DNA-蛋白质复合物使用特定蛋白的特异性抗体沉淀, 使得由目标蛋白介导的染色体相互作用被捕获。用 DNA 连接酶连接被沉淀的染色质复合物中的邻近 DNA 片段末端, 然后用限制性内切酶消化连接复合物, 之后利用配对末端标签 (paired-end tags, PETs) 对获得的 DNA 片段进行扩增测序。

ChIA-PET 技术已被用来研究由雌激素受体 α (estrogen receptor α , ER α)^[38, 40-41] 和 CTCF (CCCTC-binding factor)^[40] 介导的染色质相互作用。研究人员利用 ChIA-PET 技术发现了促进染色质高级结构形成的重要蛋白因子 RAD21、SMC3、CTCF 和 ZNF143 等^[41]。尽管 ChIA-PET 技术每次只能检测一种特定蛋白介导的 DNA 片段间的相互作用, 但它是一种无偏差的、全基因组范围的、高分辨率的方法, 可被广泛应用于检测转录调控因子结合位点和其靶标基因之间的作用, 从而解析转录调控的机制^[38]。

3 染色质高级结构的形成与分布规律

3.1 染色体域

染色体成像技术显示, 很多生物在细胞分裂间期, 同一条染色体上的基因位点在空间上倾向于聚集在一起, 在细胞核中形成相对独立的区域, 被称为染色体域 (CTs)^[42]。这一现象也被 Hi-C 技术的检测结果所证实^[29, 43-44]。研究表明, 位于同一条染色体上的基因位点之间的相互作用 (染色体内部相互作用) 频率远远高于位于不同染色体上的两个基因位点之间的相互作用 (染色体间相互作用) 频率。

荧光原位杂交与 Hi-C 检测结果均表明染色体域在细胞核中的定位并不是随机的。长度较短、基因含量高的染色体通常具有更高的染色体间相互作用频率, 并且更倾向于定位于细胞核的中心。长度较大、基因密度相对较低的染色体更倾向于定位于细胞核的周边位置。这种现象在人和小鼠的细胞核中均是一致的^[29, 42, 44]。

3.2 染色体区室

在染色体域内, 对染色体相互作用的 Hi-C 数据分析证实了染色体区室的存在^[29]。Dekker 实验室在研究分辨率为 1 Mb 的染色体相互作用图谱时, 根据染色质的状态, 将染色体区室分别命名为 A 类染色体区室和 B 类染色体区室^[15, 29, 43-44]。染色体区

室大小平均为 5 Mb, A 类染色体区室和 B 类染色体区室间隔出现, 广泛地分布在整个基因组上^[29]。分析表明, A 类染色体区室倾向于与其他 A 类染色体区室相互作用, 而 B 类染色体区室倾向于与其他 B 类染色体区室相互作用。一般来说, A 类染色体区室多为具有转录活性的开放染色质结构, 显著富集基因、活性组蛋白标记物 (例如 H3K36me3) 和 DNase I 超敏感位点; B 类染色体区室为转录沉默的闭合染色体结构, 通常缺乏基因和 DNase I 超敏感位点, 富集非活性的组蛋白标记物 (如 H3K27me3)^[15, 29, 45]。两类染色体区室均具有细胞类型特异的活性和非活性的染色质区域, 与其相应的基因表达模式有关。

3.3 拓扑关联结构域

随着测序深度的增加, 研究人员对染色体相互作用图谱的认识也不断深入, 于 2012 年得到了分辨率为 40 kb 的染色体相互作用图谱。根据这些图谱, 染色体区室又被进一步分为约 0.8 Mb 大小的、在进化上保守的拓扑关联结构域 (TADs)^[32]。染色体上有相互作用的基因位点通常位于同一个 TAD 内部, 而非多个 TADs 之间。TAD 边界 (TAD boundary) 指的是位于两个染色体拓扑结构域之间的 DNA 片段, 它们可以阻止 TADs 之间的交流和相互作用。对 TADs 相关的遗传和表观遗传特征的综合分析表明, TAD 边界可以限制异染色质的扩散, 主要分布有 CTCF 蛋白结合位点、管家基因、转运 RNA (transfer RNAs, tRNAs) 基因和短散在元件 (short interspersed element, SINE)^[32]。此外, 转录起始位点 (transcription start sites, TSS) 也在 TAD 边界处富集。

CTCF 被认为是一种参加介导和阻碍长距离相互作用的关键蛋白, 参与指导 TAD 边界的形成^[46-48]。很多研究都关注 CTCF 和它的协同蛋白 (目前已知的主要是黏连蛋白 cohesin) 在 TADs 结构的形成和维持过程中的作用。在哺乳动物细胞中, CTCF 经常招募 cohesin, 并在 TAD 边界处富集, 但是他们在调节染色质结构和基因表达中所起的作用却并不相同^[46, 48-53]。敲除人胚肾细胞 (HEK293) 的 cohesin, 会导致局部染色质相互作用的普遍丢失, 但 TADs 结构依然保持完整; 然而, 当敲除 CTCF 时, TADs 内的相互作用频率降低, TADs 间的相互作用频率增加。在这两种情况下, 基因表达都发生了紊乱^[49]。另一项利用处于有丝分裂后期的小鼠角质细胞的研究工作表明, 敲除 cohesin 后, 染色质的整体结构发生变化, 并且伴随着 TADs 结构的松散化^[53]。在小鼠胸腺细胞中敲除 cohesin, 会导致细胞停滞在细

胞分裂 G₁ 期, 由 cohesin 介导的位点之间的相互作用消失, 但是与转录激活和失活相关的染色质之间的相互作用变得更加显著, 并且伴随着基因表达的改变^[54]。在裂殖酵母 *Schizosaccharomyces pombe* 中的研究发现, 丢失 cohesin 会引起小范围内常染色质形成的局部球体结构和局部染色体域的破坏; 但对异染色质区球体结构的形成却没有影响^[55]。尽管不同实验得出的结果有差别, 但都证明 CTCF 和 cohesin 在哺乳动物染色质 TAD 边界的确定中发挥了关键的作用。但还有很多 TAD 边界没有 CTCF 和 cohesin 的结合, 提示还有其他因子参与 TAD 边界的形成。

3.4 染色质环

基因和它们远端的调控元件可形成长距离的相互作用, 其中增强子和启动子形成的染色质环是研究最为广泛的结构。很多基因都可以和多个远端的调控元件作用, 而这些调控元件也可以和多个其他基因作用^[56-57], 从而在细胞中形成复杂的染色质结构网络。最近几项研究表明, 染色质结构网络的形成需要蛋白 CTCF、mediator、cohesin 以及基因转录元件的参与^[58-59], 一些 lncRNA 也有助于染色质环结构的形成^[60]。TADs 中存在两种由 cohesin 介导的染色质环结构: cohesin 相关的增强子-启动子染色质环和 cohesin 相关的由 CTCF 介导的染色质环^[61]。Mediator 是转录辅激活因子, 可同时与转录因子和 cohesin 结合, 结合 mediator 的转录因子与增强子结合, 同时 NIPBL (Nipped-B-like protein) 又会把 mediator-cohesin 复合物装载到启动子上, 于是形成 cohesin 相关的增强子-启动子染色质环^[62-65]。当 cohesin 和 CTCF 结合位点结合时, 形成 cohesin 相关的由 CTCF 介导的染色质环^[54]。

4 染色质高级结构的保守性与功能

4.1 染色体域和区室是普遍存在的基因组结构基础

染色体域和染色体区室是构成整个基因组染色体骨架的主要结构。每个物种各个类型的细胞中, 染色体会在细胞核中形成相对独立的多个染色体域, 每个染色体域内部又包含多个染色体区室。前面提到, 部分染色体区室参与了细胞类型特异的基因表达调节, 比如在人的 K562 和 GM06990 细胞系^[29], 以及小鼠野生型和 ATM^{-/-} 突变型的祖 B 淋巴细胞^[44] 中特异表达的染色体区室。

4.2 TADs 是稳定存在的染色体结构单元

TADs 是组成基因组高级结构和功能的基本单

元^[50]。和染色体区室不同, TADs 不仅在同一物种不同类型的细胞中保守^[66], 并且多数在人和小鼠中也是保守的^[32, 51, 66]。人和小鼠的基因组分别有超过 2 000 个的 TADs, 占整个基因组大小的 90% 以上^[45]。类似的 TADs 结构也在果蝇的胚胎细胞^[51]、小鼠 X 染色体的失活中心 (X-inactivation centre, *Xic*)^[67]、酵母^[55] 和拟南芥^[68] 中被发现。

TADs 在维持生物体正常功能中发挥着重要作用。增强子选用 (enhancer adoption) 是一种通过拷贝数变异 (copy-number variation, CNV) 导致的 TAD 边界的丢失或者重复而引起的突变机制。在某些情况下, 当基因选用不同的增强子时, 会破坏相对应的 TAD 边界, 导致增强子激活相邻 TADs 内的基因, 引起基因表达紊乱甚至疾病^[69]。另一项关于人乳腺癌细胞 (T47D) 注射孕酮前后染色质修饰分布和转录活性变化的研究发现, 孕酮激活基因转录可引起 TADs 结构改变, 且不同 TADs 对孕酮和雌激素刺激有不同的反应^[70]。

4.3 染色质环是基因调控的功能单元

Cohesin 介导的启动子和增强子之间相互作用而形成的染色质环结构一般具有组织或细胞特异性^[71]。对启动子、增强子和 CTCF 的序列分析表明, 顺式作用元件在进化过程中呈现出不同程度的保守性: 启动子在序列和功能上最为保守, 而增强子和 CTCF 在不同的物种中具有很大的差异^[57], 这也是导致不同物种在基因的表达调控方面存在差异的因素之一。Cohesin 相关的由 CTCF 介导的染色质环一般很大且广泛存在于很多细胞系中^[54]。它们既可以促进基因表达, 又可以通过行使绝缘子的功能而抑制基因表达^[32, 54]。一项最近的工作报道了 TADs 中超级增强子区域 (super-enhancer domain) 和多梳区域 (polycomb domain) 的存在^[61], 它们都是 cohesin 相关的由 CTCF 介导的染色质环。在超级增强子区域内, 基因表达激活; 而在多梳区域内, 基因表达受到抑制; 当两种结构受到破坏时, 基因表达都发生改变。

大部分基因及其远端调控元件所形成的染色质环状结构均被限制在同一 TAD 的内部^[57]。研究发现, 在不同类型的细胞中, 相邻基因簇的关联表达也与 TADs 结构有关^[45, 72]。分析小鼠 X 染色体失活中心的结果表明, 在细胞分化过程中, 位于同一个 TAD 内部的基因倾向于共同表达^[67]。

尽管在细胞分化过程中, TADs 沿着染色体的分布相对稳定^[32, 67], 但 TADs 内部的结构却在不同

细胞类型间存在差异。染色质环细胞类型特异性的成因及其相关因子还有待进一步研究。

5 总结和展望

细胞中功能性染色质的相互作用是影响基因功能的一个重要因素。染色质构象捕获技术及其衍生技术的发展, 以及高通量测序技术的普及, 使得精确研究染色质的高级结构及染色质间的相互作用成为可能。目前, 关于染色质高级结构的研究还处于起步阶段, 相关调控因子与机制尚有很多有待挖掘。未来随着研究的进一步深入, 必将揭示更多新的规律。

[参 考 文 献]

- [1] Misteli T. Spatial positioning: A new dimension in genome function. *Cell*, 2004, 119(2): 153-6
- [2] Fraser P, Bickmore W. Nuclear organization of the genome and the potential for gene regulation. *Nature*, 2007, 447(7143): 413-7
- [3] Alt FW, Zhang Y, Meng FL, et al. Mechanisms of programmed DNA lesions and genomic instability in the immune system. *Cell*, 2013, 152(3): 417-29
- [4] Hu M, Deng K, Qin Z, et al. Understanding spatial organizations of chromosomes via statistical analysis of Hi-C data. *Quant Biol*, 2013, 1(2): 156-74
- [5] Mitelman F. Recurrent chromosome aberrations in cancer. *Mutat Res*, 2000, 462(2-3): 247-53
- [6] Rowley JD. The critical role of chromosome translocations in human leukemias. *Annu Rev Genet*, 1998, 32: 495-519
- [7] van Steensel B, Dekker J. Genomics tools for unraveling chromosome architecture. *Nat Biotechnol*, 2010, 28(10): 1089-95
- [8] Branco MR, Pombo A. Chromosome organization: new facts, new models. *Trends Cell Biol*, 2007, 17(3): 127-34
- [9] Wasserman WW, Sandelin A. Applied bioinformatics for the identification of regulatory elements. *Nat Rev Genet*, 2004, 5(4): 276-87
- [10] Tanay A, Cavalli G. Chromosomal domains: epigenetic contexts and functional implications of genomic compartmentalization. *Curr Opin Genet Dev*, 2013, 23(2): 197-203
- [11] Rego EH, Shao L, Macklin JJ, et al. Nonlinear structured-illumination microscopy with a photoswitchable protein reveals cellular structures at 50-nm resolution. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 109(3): E135-43
- [12] Dekker J, Rippe K, Dekker M, et al. Capturing chromosome conformation. *Science*, 2002, 295(5558): 1306-11
- [13] Hakim O, Misteli T. SnapShot: Chromosome confirmation capture. *Cell*, 2012, 148(5): 1068 e1-2
- [14] Splinter E, Grosveld F, De Laat W. 3C technology: Analyzing the spatial organization of genomic loci *in vivo*. *Methods Enzymol*, 2004, 375: 493-507
- [15] de Wit E, de Laat W. A decade of 3C technologies: insights into nuclear organization. *Genes Dev*, 2012, 26(1): 11-24
- [16] O'Sullivan JM, Tan-Wong SM, Morillon A, et al. Gene loops juxtapose promoters and terminators in yeast. *Nat Genet*, 2004, 36(9): 1014-8
- [17] Skok JA, Gisler R, Novatchkova M, et al. Reversible contraction by looping of the *Tcra* and *Tcrb* loci in rearranging thymocytes. *Nat Immunol*, 2007, 8(4): 378-87
- [18] Simonis M, Kooren J, de Laat W. An evaluation of 3C-based methods to capture DNA interactions. *Nat Methods*, 2007, 4(11): 895-901
- [19] Zhao Z, Tavossidana G, Sjolinder M, et al. Circular chromosome conformation capture (4C) uncovers extensive networks of epigenetically regulated intra- and interchromosomal interactions. *Nat Genet*, 2006, 38(11): 1341-7
- [20] Simonis M, Klous P, Splinter E, et al. Nuclear organization of active and inactive chromatin domains uncovered by chromosome conformation capture-on-chip (4C). *Nat Genet*, 2006, 38(11): 1348-54
- [21] Noordermeer D, de Wit E, Klous P, et al. Variegated gene expression caused by cell-specific long-range DNA interactions. *Nat Cell Biol*, 2011, 13(8): 944-51
- [22] Bantignies F, Roure V, Comet I, et al. Polycomb-dependent regulatory contacts between distant Hox loci in *Drosophila*. *Cell*, 2011, 144(2): 214-26
- [23] Tolhuis B, Blom M, Kerkhoven RM, et al. Interactions among polycomb domains are guided by chromosome architecture. *PLoS Genet*, 2011, 7(3): e1001343
- [24] Dostie J, Richmond TA, Arnaout RA, et al. Chromosome Conformation Capture Carbon Copy (5C): A massively parallel solution for mapping interactions between genomic elements. *Genome Res*, 2006, 16(10): 1299-309
- [25] Bau D, Sanyal A, Lajoie BR, et al. The three-dimensional folding of the α -globin gene domain reveals formation of chromatin globules. *Nat Struct Mol Biol*, 2011, 18(1): 107-14
- [26] Fraser J, Rousseau M, Shenker S, et al. Chromatin conformation signatures of cellular differentiation. *Genome Biol*, 2009, 10(4): R37
- [27] Ferraiuolo MA, Rousseau M, Miyamoto C, et al. The three-dimensional architecture of Hox cluster silencing. *Nucleic Acids Res*, 2010, 38(21): 7472-84
- [28] Wang KC, Yang YW, Liu B, et al. A long noncoding RNA maintains active chromatin to coordinate homeotic gene expression. *Nature*, 2011, 472(7341): 120-4
- [29] Lieberman-Aiden E, van Berkum NL, Williams L, et al. Comprehensive mapping of long-range interactions reveals folding principles of the human genome. *Science*, 2009, 326(5950): 289-93
- [30] van Berkum NL, Lieberman-Aiden E, Williams L, et al. Hi-C: a method to study the three-dimensional architecture of genomes. *J Vis Exp*, 2010, (39): e1869
- [31] Belton JM, McCord RP, Gibcus JH, et al. Hi-C: a comprehensive technique to capture the conformation of genomes. *Methods*, 2012, 58(3): 268-76

- [32] Dixon JR, Selvaraj S, Yue F, et al. Topological domains in mammalian genomes identified by analysis of chromatin interactions. *Nature*, 2012, 485(7398): 376-80
- [33] Bulger M, Groudine M. Functional and mechanistic diversity of distal transcription enhancers. *Cell*, 2011, 144(3): 327-39
- [34] Kalhor R, Tjong H, Jayathilaka N, et al. Genome architectures revealed by tethered chromosome conformation capture and population-based modeling. *Nat Biotechnol*, 2012, 30(1): 90-8
- [35] Nagano T, Lubling Y, Stevens TJ, et al. Single-cell Hi-C reveals cell-to-cell variability in chromosome structure. *Nature*, 2013, 502(7469): 59-64
- [36] Rao SS, Huntley MH, Durand NC, et al. A 3D map of the human genome at kilobase resolution reveals principles of chromatin looping. *Cell*, 2014, 159(7): 1665-80
- [37] Horike S, Cai S, Miyano M, et al. Loss of silent-chromatin looping and impaired imprinting of DLX5 in Rett syndrome. *Nat Genet*, 2005, 37(1): 31-40
- [38] Fullwood MJ, Liu MH, Pan YF, et al. An oestrogen-receptor- α -bound human chromatin interactome. *Nature*, 2009, 462(7269): 58-64
- [39] Li G, Fullwood MJ, Xu H, et al. ChIA-PET tool for comprehensive chromatin interaction analysis with paired-end tag sequencing. *Genome Biol*, 2010, 11(2): R22
- [40] Handoko L, Xu H, Li G, et al. CTCF-mediated functional chromatin interactome in pluripotent cells. *Nat Genet*, 2011, 43(7): 630-8
- [41] Heidari N, Phanstiel DH, He C, et al. Genome-wide map of regulatory interactions in the human genome. *Genome Res*, 2014, 24(12): 1905-17
- [42] Tanabe H, Muller S, Neusser M, et al. Evolutionary conservation of chromosome territory arrangements in cell nuclei from higher primates. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99(7): 4424-9
- [43] Gibcus JH, Dekker J. The hierarchy of the 3D genome. *Mol Cell*, 2013, 49(5): 773-82
- [44] Zhang Y, McCord RP, Ho YJ, et al. Spatial organization of the mouse genome and its role in recurrent chromosomal translocations. *Cell*, 2012, 148(5): 908-21
- [45] Dekker J, Marti-Renom MA, Mirny LA. Exploring the three-dimensional organization of genomes: interpreting chromatin interaction data. *Nat Rev Genet*, 2013, 14(6): 390-403
- [46] Holwerda SJ, de Laat W. CTCF: the protein, the binding partners, the binding sites and their chromatin loops. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 2013, 368(1620): 20120369
- [47] Phillips JE, Corces VG. CTCF: master weaver of the genome. *Cell*, 2009, 137(7): 1194-211
- [48] Ong CT, Corces VG. CTCF: an architectural protein bridging genome topology and function. *Nat Rev Genet*, 2014, 15(4): 234-46
- [49] Zuin J, Dixon JR, van der Reijden MIJA, et al. Cohesin and CTCF differentially affect chromatin architecture and gene expression in human cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2014, 111(3): 996-1001
- [50] Pope BD, Ryba T, Dileep V, et al. Topologically associating domains are stable units of replication-timing regulation. *Nature*, 2014, 515(7527): 402-5
- [51] Sexton T, Yaffe E, Kenigsberg E, et al. Three-dimensional folding and functional organization principles of the *Drosophila* genome. *Cell*, 2012, 148(3): 458-72
- [52] Li YY, Huang WC, Niu L, et al. Characterization of constitutive CTCF/cohesin loci: a possible role in establishing topological domains in mammalian genomes. *BMC Genomics*, 2013, 14(1): 553
- [53] Sofueva S, Yaffe E, Chan WC, et al. Cohesin-mediated interactions organize chromosomal domain architecture. *EMBO J*, 2013, 32(24): 3119-29
- [54] Seitan VC, Faure AJ, Zhan Y, et al. Cohesin-based chromatin interactions enable regulated gene expression within preexisting architectural compartments. *Genome Res*, 2013, 23(12): 2066-77
- [55] Mizuguchi T, Fudenberg G, Mehta S, et al. Cohesin-dependent globules and heterochromatin shape 3D genome architecture in *S. pombe*. *Nature*, 2014, 516(7531): 432-35
- [56] Sanyal A, Lajoie BR, Jain G, et al. The long-range interaction landscape of gene promoters. *Nature*, 2012, 489(7414): 109-13
- [57] Shen Y, Yue F, McCleary DF, et al. A map of the cis-regulatory sequences in the mouse genome. *Nature*, 2012, 488(7409): 116-20
- [58] Gheldof N, Smith EM, Tabuchi TM, et al. Cell-type-specific long-range looping interactions identify distant regulatory elements of the CFTR gene. *Nucleic Acids Res*, 2010, 38(13): 4325-36
- [59] Tolhuis B, Palstra RJ, Splinter E, et al. Looping and interaction between hypersensitive sites in the active β -globin locus. *Mol Cell*, 2002, 10(6): 1453-65
- [60] Shibayama Y, Fanucchi S, Magagula L, et al. lncRNA and gene looping: what's the connection? *Transcription*, 2014, 5(3): e28658
- [61] Downen JM, Fan ZP, Hnisz D, et al. Control of cell identity genes occurs in insulated neighborhoods in mammalian chromosomes. *Cell*, 2014, 159(2): 374-87
- [62] Spitz F, Furlong EEM. Transcription factors: from enhancer binding to developmental control. *Nat Rev Genet*, 2012, 13(9): 613-26
- [63] Lelli KM, Slattery M, Mann RS. Disentangling the many layers of eukaryotic transcriptional regulation. *Annu Rev Genet*, 2012, 46: 43-68
- [64] Lee TI, Young RA. Transcriptional regulation and its misregulation in disease. *Cell*, 2013, 152(6): 1237-51
- [65] Kagey MH, Newman JJ, Bilodeau S, et al. Mediator and cohesin connect gene expression and chromatin architecture. *Nature*, 2010, 467(7314): 430-5
- [66] Luo C, Dong J, Zhang Y, et al. Decoding the role of chromatin architecture in development: coming closer to the end of the tunnel. *Front Plant Sci*, 2014, 5: 374
- [67] Nora EP, Lajoie BR, Schulz EG, et al. Spatial partitioning of the regulatory landscape of the X-inactivation centre. *Nature*, 2012, 485(7398): 381-5

- [68] Feng S, Cokus SJ, Schubert V, et al. Genome-wide Hi-C analyses in wild-type and mutants reveal high-resolution chromatin interactions in *Arabidopsis*. *Mol Cell*, 2014, 55(5): 694-707
- [69] Ibn-Salem J, Köhle S, Love MI, et al. Deletions of chromosomal regulatory boundaries are associated with congenital diseases. *Genome Biol*, 2014, 15: 423
- [70] Le Dily F, Bau D, Pohl A, et al. Distinct structural transitions of chromatin topological domains correlate with coordinated hormone-induced gene regulation. *Genes Dev*, 2014, 28(19): 2151-62
- [71] Phillips-Cremins JE, Sauria ME, Sanyal A, et al. Architectural protein subclasses shape 3D organization of genomes during lineage commitment. *Cell*, 2013, 153(6): 1281-95
- [72] Caron H, van Schaik B, van der Mee M, et al. The human transcriptome map: Clustering of highly expressed genes in chromosomal domains. *Science*, 2001, 291(5507): 1289-92