

染色质构象捕获及其衍生技术

翟侃¹⁾ 武治印²⁾ 于典科^{1)*}

(¹⁾ 中国医学科学院肿瘤医院肿瘤研究所病因及癌变研究室, 北京 100021; (²⁾ 中国生物技术发展中心, 北京 100036)

摘要 染色质的构象在基因表达调节方面起重要作用. 介绍了染色质构象捕获、环状染色质构象捕获、3C 碳拷贝、ChIP-loop、ChIA-PET 和 Hi-C 等技术的基本原理及发展历程, 对影响实验结果准确性的主要因素进行了分析. 目的是在三维层面研究基因的表达调控介绍新的研究手段, 为功能研究提供新思路, 也为相关技术的应用提供理论参考.

关键词 染色质空间构象, 染色质构象捕获, 基因表达调控, 染色质相互作用

学科分类号 Q75, Q-33

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2010.00158

目前, 对基因表达调控的研究主要是以基因及其调控元件的线性关系为基础, 然而, 基因不仅仅以简单的线性形式存在, 越来越多的证据表明染色质之间的相互作用在基因表达调节方面起重要作用, 即基因的表达调控存在三维空间网络, 基因表达可被远程调控元件所调控. 染色质构象捕获(chromosome conformation capture, 3C)技术原本应用于酵母中研究基因表达时染色质的空间构象^[1], 继而发展为利用此技术在后生动物中研究细胞内染色质间的相互作用, 近年来发展出基于染色质构象捕获而衍生的环状染色质构象捕获(circular chromosome conformation capture, 4C)、3C 碳拷贝(3C-carbon copy, 5C)和 ChIP-loop assay 等技术, 为研究染色质间长距离相互作用提供了可能. 最近又出现 ChIA-PET^[2]和 Hi-C^[3]等技术, 它们以 *de novo* 的方式从全基因组的角度诠释了蛋白质因子与染色质相互作用的关系以及细胞核内互作染色质的空间构象. 本文从基本的 3C 技术开始, 对其衍生出的各种染色质构象捕获技术的原理和发展做简要综述, 并比较其各自的优缺点, 为这些技术的应用提供参考.

1 染色质构象捕获及其衍生技术的原理及发展

1.1 染色质构象捕获技术

染色质构象捕获(3C)技术的要点是: 福尔马林

瞬时固定细胞核染色质, 用过量的限制性内切酶酶切消化染色质-蛋白质交联物, 在 DNA 浓度极低而连接酶浓度极高的条件下用连接酶连接消化物, 蛋白酶 K 消化交联物以释放出结合的蛋白质, 用推测可能有互作的目的片段的引物进行普通 PCR 和定量 PCR 来确定是否存在相互作用^[4]. 3C 技术假定物理上互作的 DNA 片段连接频率最高, 以基因座特异性 PCR 来检测基因组中 DNA 片段之间的物理接触, 最终以 PCR 产物的丰度来确定是否存在相互作用.

3C 技术适用于研究 5 kb 至数百 kb 染色质之间的相互作用^[4]. 例如在酵母中, O'Sullivan 等^[5]应用 3C 技术成功研究了两段相距 6 700 bp 的染色质间存在的相互作用. Skok 等^[6]在人胸腺细胞中确定了相距约 600 kb 的两个染色质片段间存在相互作用. 需要指出的是, 单纯的 3C 实验检测到染色质间的相互作用不足以说明这些染色质接触具有功能意义. 同样, 使用 3C 技术没有检测到的染色质相互作用可能在真实状况下是存在相互作用的. 若染色质间确实存在与蛋白质因子相互作用的片段, 那么它们之间的酶连效率应比未发生定向作用的酶连

* 通讯联系人.

Tel: 010-87788715, E-mail: yudianking@gmail.com

收稿日期: 2010-03-29, 接受日期: 2010-06-07

片段高很多,因此,可以使用定量 PCR 的方法,对感兴趣的位点进行定量分析,找出活细胞中潜在的相互作用的染色质片段^[7]. 3C 实验中使用的限制性内切酶最好是识别的序列长度为 4 碱基的内切酶,以保证在基因组范围内有较多的酶切位点(平均 256 bp 一个酶切位点),这样可以增加空间上相邻片段的酶连效率^[8].

基因组中存在大量的转录调控元件,对这些元件功能的研究还远远不够深入,这主要受制于现有的研究技术. 利用 3C 技术有可能找出与不同转录因子作用的转录元件及其起直接作用的 DNA 区域.

1.2 环状染色质构象捕获技术

进行 3C 实验时,实验者必须知道所研究 DNA 片段和假定与其作用的 DNA 片段的部分信息,来设计 PCR 引物进行 PCR 实验进而确定这些片段之间是否存在相互作用,但这种假定本身就具有一定局限性,理论上做不到估计没有偏差. 基于 3C 技术发展而来的 4C 技术可以弥补这一不足. 4C 技术称环状染色质构象捕获(circular chromosome conformation capture)或芯片染色质构象捕获(chromosome conformation capture-on-chip)^[9-10]. 4C 技术的基本原理可概括为:福尔马林瞬时固定细胞核内的染色质,用过量的限制性内切酶将染色质-蛋白质交联物酶切消化,在 DNA 浓度极低、连接酶浓度极高的条件下将消化物用连接酶连接,蛋白酶 K 消化交联物以释放蛋白质(以上几步与 3C 相同). 此时,已知 DNA 片段(bait)与未知 DNA 片段(通常位于基因调控区)已经酶连成环状,使用 bait 的特异 PCR 引物进行反向 PCR,若在福尔马林固定细胞时这些 DNA 片段间存在蛋白质因子介导的物理接触,此时应有 PCR 产物^[4, 11]. 对 PCR 产物进行序列分析可确定互作染色质的位置及互作的可能性.

1.3 3C 碳拷贝技术

若研究几百个染色质片段之间可能存在的相互作用,使用 3C 技术需要设计大量 PCR 引物来确定已知片段与假定片段的关系,通量较低,较难实现. 因此,人们设计出 3C 碳拷贝(3C-carbon copy, 5C)技术,这个技术是基于 3C 的基本原理,结合连接介导的扩增(ligation-mediated amplification, LMA)来增加 3C 检测的通量. 以 3C 酶切连接文库为模板,在 3C 引物端加上通用接头(例如 T7、T3),例如在正向引物(bait)的 5'端加上 T7 接头,在反向引物的 3'端加上 T3 接头,若两个推测片段

存在相互连接,由于连接酶介导的连接作用的性质,只有连接上的片段才有扩增. 这样,利用通用引物 T7、T3 进行 PCR,而后将产物进行高通量测序即可实现高通量的 3C 实验^[4, 12-13]. 目前,已有专业的 5C 辅助网站帮助进行 5C 实验的引物设计^[14].

1.4 ChIP-loop 实验

在活细胞中,由蛋白质因子介导的单个 DNA 片段可能与多个位点相互作用,在不同的细胞中,同样的 DNA 片段也可能与不同的位点相互作用,这可能决定了不同细胞基因表达的时空差异. ChIP-loop 实验^[15]是基于 3C 技术发展起来的、研究候选蛋白质因子介导的与目的 DNA 片段互作的一种方法,常用的有 ChIP-3C 和 ChIP-4C 技术^[16]. 实验流程上,只是在过量的限制性内切酶将染色质-蛋白质交联物酶切消化后,用所研究蛋白质因子特异性的抗体进行免疫沉淀,然后再进行酶切产物连接,后续步骤与相应的 3C 和 4C 步骤相同. 应该注意的是,使用特异性抗体沉淀下来的蛋白质有可能作用于目的 DNA 旁边的位点,而不是介导目的 DNA 与其他 DNA 之间的相互作用. 曾有文献报道通过封闭此蛋白质因子的表达来看目的 DNA 片段与其他 DNA 之间的作用是否真正存在^[17].

1.5 ChIA-PET 和 Hi-C 技术

细胞中染色质有其独特的立体构象,但原本线性的染色质与其空间排布的关系是怎样的? 远程调控元件是如何实现调控? 最近 ChIA-PET 和 Hi-C 技术为研究这类问题提供了有效的平台. ChIA-PET (chromatin immunoprecipitation using PET) 技术是 3C、paired-end-tags (PET)^[18]和下一代测序技术的结合,既可检测细胞内染色质的相互作用又可解决实验所得 DNA 片段较小、数据量大等问题. 它可以无偏的、在全基因组范围找出与目标蛋白质因子作用的染色质片段. 其部分实验流程与 ChIP-loop 实验相似,都是以福尔马林固定细胞,限制性酶切基因组,用目的蛋白特异性的抗体沉淀蛋白质-DNA 复合物,给酶切片段加上带有生物素标记的接头(此接头带有特殊的酶切位点,例如 *Mme* I),然后进行二次连接反应,再使用带有接头的酶进行酶切(例如 *Mme* I),所得产物再加上接头,进行深度测序^[2]. 使用 ChIA-PET 可确定目标蛋白与 DNA 作用的位点,也可进一步确定目标蛋白可能调控的基因(图 1). 了解染色质空间折叠规律对于认识染色质结构、基因活性和细胞分化等方面都具有重要意义. 对于细胞核内基因组的空间折叠, Dekker 小

组利用 Hi-C 技术对其进行了深入研究, 总结出核内染色质折叠的基本规律^[9]. Hi-C 技术也是基于 3C 原理发展而来, 主要步骤为: 用福尔马林交联细胞内与蛋白质相互作用的染色体, 限制性酶切进行消化, 再将缺口进行补平(dCTP 进行生物素标记), 连接酶进行连接, 将样本进行超声破碎, 随后用生物素亲和层析将片段沉淀, 加上接头进行深

度测序, 然后进行海量数据的拼接构建出相邻染色质三维空间结构图. 进行 Hi-C 实验的难点不在于对染色质构象的捕捉, 而在于怎样对海量数据进行分析处理^[10]. 染色质本身是聚合存在的, 因此, 所得数据存在很大的背景噪声, 怎样消除背景噪声是 Hi-C 技术应用的一大难点.

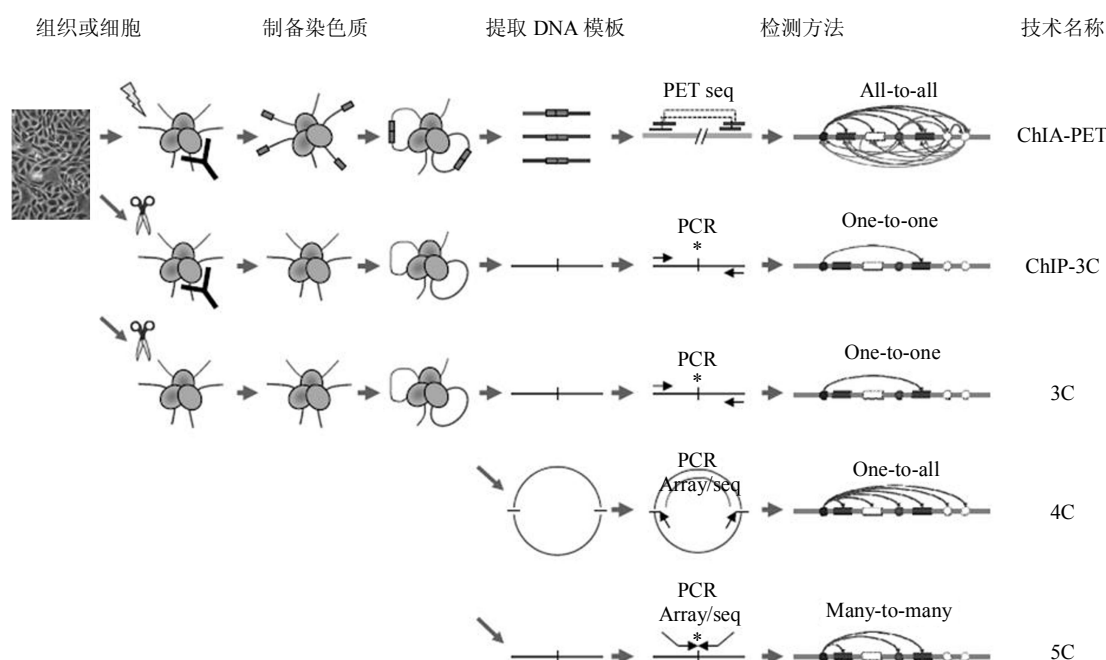


Fig. 1 Schematic representation of ChIP-PET, ChIP-3C, 3C, 4C or 5C methods^[2]

图 1 ChIP-PET、ChIP-3C、3C、4C 和 5C 技术原理简图^[2]

2 染色质构象捕获及其衍生技术的应用及局限性

高等真核生物基因调控是通过众多顺式作用元件和反式作用因子共同作用完成的. 但是, 许多参与基因表达调控的顺式作用元件距离所调控的基因较远, 调控元件与目的染色质片段发生环化, 同时与蛋白质因子组装, 募集转录机制成分, 促进转录起始. 但线性距离如此之远的不同染色质片段, 它们之间的调控机制一直是个未解之谜. 理论上, 若存在由蛋白质因子介导的染色质相互作用, 那么它们的空间距离应该相对较近. 迅速固定活细胞中的蛋白质, 酶切连接, 相互作用的染色质之间的连接效率也应较高, 这正是染色质构象捕获及其衍生技术的基本思想.

3C 技术日渐成为研究细胞核内转录因子介导染色质互作的常规研究方法. 增强子与其靶基因的作用就是一个例子. 研究者利用 3C 技术, 探明了基因座控制区 (locus control region) 可以调控下游 40~60 kb 的 β 球蛋白基因簇表达^[20], 这种空间上的定向调控需要转录因子 GATA-1 和其辅因子 FOG-1 相互作用^[21-22]. 在气味受体的相关研究中, 确定了位于 14 号染色体的增强子 H 与位于不同染色体的气味受体基因相互作用, 并通过荧光原位杂交技术得到了验证^[23]. 全基因组关联分析结果提示, 位于人染色体 8q24 的 rs6983267 单核苷酸多态与结直肠癌的发生相关^[24], rs6983267 位于增强子区域^[25], 其 G 等位基因显著增强启动子的活性; 应用 3C 技术的研究还发现, 此区域可影响其下游约 330 kb 的 MYC 基因的表达^[26]. 不仅是增强子与

目的染色质片段可以发生环化,在基因内部,启动子、外显子、内含子、终止区域也可发生环化并与蛋白质因子相互作用^[27].例如,利用3C技术阐明了长约85 kb的抑癌基因*BRCA1*,在雌激素刺激下其启动子和终止区域发生不同的环状构象变化来调控*BRCA1*的表达^[28].酿酒酵母中的*FMP27*和*SEN1*基因也存在启动子与终止子的环化情况来应对外界刺激^[5].5C技术是3C技术的改良,可以在一次实验中使用成千上万对引物研究染色质的相互作用,提高检测通量.5C的引物设计是5C实验成功与否的关键,因为这些引物直接决定了检测的准确性和灵敏度^[13].ChIP-loop实验通常是ChIP技术与3C、4C等技术的结合,作为一种辅助手段研究特定蛋白质因子(bait)与未知染色质间的互作关系.

在许多情况下,染色质间发生相互作用的几率很低(同一时刻只有不到10%的细胞能观察到该现象),这是因为细胞中染色质构象是动态变化的.因此,目前广泛使用的刚性成环模型来描述这种染色质间的关联可能是不正确的.尽管这些方法看起来似乎没有问题,但该模型不能反映染色体远距离互作的高度瞬时性.3C技术的关键步骤是福尔马林瞬间固定活细胞内的染色质结构,酶切时需要较高的酶切效率,一般应达到80%以上,连接酶连接时应保证较低的基因组浓度和较高的连接酶浓度,尽量减少非特异性的酶连^[29].由于最终作用片段的确定是依据定量PCR的实验结果,因此,对每一步3C实验,对照的设计需要十分谨慎,以确定每步的效率^[14,30],这主要包括:确定PCR的扩增效率、确定随机连接的本底连接、尽量保持处理水平的一致,减少系统误差等^[7].

采用4C技术通常是对目标片段进行全基因组扫描.对于著名的基因印记区域H19-Igf2的研究,采用4C技术可以构建出全基因组内与H19互作的表观遗传调节网络,共有114个DNA区域与H19相互作用^[10].通过4C技术,探明核内不同基因座似乎存在其特有的活性和非活性染色体域^[9].细胞核内核小体修饰、结合反式作用因子而不是与RNAP II结合对转录过程中环的形成更为重要^[11].利用4C技术发现T细胞产生的急性淋巴细胞白血病(T cell-derived acute lymphocytic leukemia, T-ALL)细胞中,LMO3可能是T细胞受体 β 基因座的易位因子,并可通过4C技术对T-ALL基因组中的有害重排进行扫描,可以迅速确定染色质片段的易位

和倒位,也可从数量极少的亚群细胞中得知是否已经转化为T-ALL^[32].4C技术虽然在理论上可以做到实验设计的无偏估计,但也存在不足之处.例如,实验中为了确定一些微小片段互作情况,一般使用4碱基酶进行酶切(理论上256 bp存在一个酶切位点).但4碱基酶切产物片段较小,可能存在酶连环化产物捕获不只一个作用片段的情况,这种情况下,酶连成环较大,使后续的反向PCR无法进行线性扩增,造成结果偏倚.由于每个实验的对象不同,目前也出现了几种4C技术的改良方法,例如:可以使用两次酶切进行环化^[4],即首先使用6碱基限制性内切酶进行酶切(理论上约4 kb存在一个酶切位点),然后连接酶进行产物连接,再用4碱基酶进行酶切,产物连接后进行反向PCR.4碱基酶切连接时,由于没有福尔马林固定的蛋白质因子的存在,连接效率会高很多.

基因组中染色质的相互作用可以分为两种:特异蛋白介导的功能性染色质相互作用和不依赖于特异蛋白的染色质相互作用^[10].《自然》(Nature)于2010年初评出了2009年最值得期待的八大技术,其中之一就是“确定基因组的三维结构”^[33].对基因组三维结构的研究提高了我们对基因远程调控机制的认识,由此衍生的ChIA-PET和Hi-C等技术将在各种染色质三维结构研究中具有更为广泛的应用.ChIA-PET技术为转录过程中不同的调控因子作用的染色质及其构象变化提供了有效的研究平台,Fullwood等^[21]以人雌激素受体 α 为例,研究了在雌激素刺激下,与雌激素受体 α 互作的染色质组(chromatin interactome),进而找出与其作用的基因,研究转录机理.Lieberman-Aiden等^[3]利用Hi-C技术以Mb分辨率对整个核基因组的折叠做了系统研究,发现细胞中的染色质不是紧密折叠的球状,而是以不平衡的球状存在,活性与非活性染色质分别位于不同的空间区室,染色质的折叠存在领域性,同一条染色质上线形距离较近的区域在三维空间的距离不一定较近等.了解活细胞中染色质的三维结构,可以有效地帮助我们认识染色质关联影响基因表达调控的机理.但也必须认识到,现有技术还存在许多问题.最大的问题是如何处理实验中来自生物上和技术上的噪音.生物上的噪音主要包括活细胞中染色质的相互作用是动态的,因此,酶切连接所得的片段不一定能反映细胞当时真正的状态,技术上的噪音主要包括怎样提高酶切片段的正确的连接效率,例如,实验中,形成非特异连接

的比率高达 39%以上。对于 Hi-C 技术, 应用的难点在如何解析海量的测序数据, 因为染色质本身就是聚合物, 背景很难达到均一。另外, 现有的算法也存在问题, 其他技术目前很难对 Hi-C 的数据进行验证。

3 展 望

活细胞内互作染色质组的功能研究一直是基因功能研究的重点, 染色质构象捕获技术及其衍生技术为研究细胞内与目的 DNA 片段作用的染色质、染色质组, 与特定蛋白质因子作用的染色质、染色质组 and 全基因组范围内染色质组的互作提供了有效的技术平台, 为研究细胞生长、分化、凋亡、疾病进程等方面提供了新思路。虽然这些技术都存在各自的缺点, 但随着科技的不断进步, 染色质构象捕获及其衍生技术定会日益完善, 必将在基因组染色质三维结构、转录因子作用机制、构建越来越详细的基因表达调控网络等领域发挥更加重要的作用。

参 考 文 献

- [1] Dekker J, Rippe K, Dekker M, *et al.* Capturing chromosome conformation. *Science*, 2002, **295**(5558): 1306–1311
- [2] Fullwood M J, Liu M H, Pan Y F, *et al.* An oestrogen-receptor-alpha-bound human chromatin interactome. *Nature*, 2009, **462**(7269): 58–64
- [3] Lieberman-Aiden E, van Berkum N L, Williams L, *et al.* Comprehensive mapping of long-range interactions reveals folding principles of the human genome. *Science*, 2009, **326**(5950): 289–293
- [4] Simonis M, Kooren J, de Laat W. An evaluation of 3C-based methods to capture DNA interactions. *Nat Methods*, 2007, **4**(11): 895–901
- [5] O'Sullivan J M, Tan-Wong S M, Morillon A, *et al.* Gene loops juxtapose promoters and terminators in yeast. *Nat Genet*, 2004, **36**(9): 1014–1018
- [6] Skok J A, Gislser R, Novatchkova M, *et al.* Reversible contraction by looping of the Tcr α and Tcr β loci in rearranging thymocytes. *Nat Immunol*, 2007, **8**(4): 378–387
- [7] Dekker J. The three 'C' s of chromosome conformation capture: controls, controls, controls. *Nat Methods*, 2006, **3**(1): 17–21
- [8] Hagege H, Klous P, Braem C, *et al.* Quantitative analysis of chromosome conformation capture assays (3C-qPCR). *Nat Protoc*, 2007, **2**(7): 1722–1733
- [9] 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): 1348–1354
- [10] Zhao Z, Tavoosidana 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): 1341–1347
- [11] Gondor A, Rougier C, Ohlsson R. High-resolution circular chromosome conformation capture assay. *Nat Protoc*, 2008, **3**(2): 303–313
- [12] Dostie J, Dekker J. Mapping networks of physical interactions between genomic elements using 5C technology. *Nat Protoc*, 2007, **2**(4): 988–1002
- [13] van Berkum N L, Dekker J. Determining spatial chromatin organization of large genomic regions using 5C technology. *Methods Mol Biol*, 2009, **567**: 189–213
- [14] Lajoie B R, van Berkum N L, Sanyal A, *et al.* My5C: web tools for chromosome conformation capture studies. *Nat Methods*, 2009, **6**(10): 690–691
- [15] Gavrilov A, Eivazova E, Pirozhkova I, *et al.* Chromosome conformation capture (from 3C to 5C) and its ChIP-based modification. *Methods Mol Biol*, 2009, **567**: 171–188
- [16] Fullwood M J, Ruan Y. ChIP-based methods for the identification of long-range chromatin interactions. *J Cell Biochem*, 2009, **107**(1): 30–39
- [17] Splinter E, Heath H, Kooren J, *et al.* CTCF mediates long-range chromatin looping and local histone modification in the beta-globin locus. *Genes Dev*, 2006, **20**(17): 2349–2354
- [18] Fullwood M J, Wei C L, Liu E T, *et al.* Next-generation DNA sequencing of paired-end tags (PET) for transcriptome and genome analyses. *Genome Res*, 2009, **19**(4): 521–532
- [19] Rusk N. When ChIA PETs meet Hi-C. *Nat Methods*, 2009, **6**(12): 863
- [20] Tolhuis B, Palstra R J, Splinter E, *et al.* Looping and interaction between hypersensitive sites in the active beta-globin locus. *Mol Cell*, 2002, **10**(6): 1453–1465
- [21] Vakoc C R, Letting D L, Gheldof N, *et al.* Proximity among distant regulatory elements at the beta-globin locus requires GATA-1 and FOG-1. *Mol Cell*, 2005, **17**(3): 453–462
- [22] Palstra R J, de Laat W, Grosveld F. Beta-globin regulation and long-range interactions. *Adv Genet*, 2008, **61**: 107–142
- [23] Lomvardas S, Barnea G, Pisapia D J, *et al.* Interchromosomal interactions and olfactory receptor choice. *Cell*, 2006, **126**(2): 403–413
- [24] Tomlinson I, Webb E, Carvajal-Carmona L, *et al.* A genome-wide association scan of tag SNPs identifies a susceptibility variant for colorectal cancer at 8q24.21. *Nat Genet*, 2007, **39**(8): 984–988
- [25] Tuupanen S, Turunen M, Lehtonen R, *et al.* The common colorectal cancer predisposition SNP rs6983267 at chromosome 8q24 confers potential to enhanced Wnt signaling. *Nat Genet*, 2009, **41**(8): 885–890
- [26] Pomerantz M M, Ahmadiyeh N, Jia L, *et al.* The 8q24 cancer risk variant rs6983267 shows long-range interaction with MYC in colorectal cancer. *Nat Genet*, 2009, **41**(8): 882–884
- [27] Theo Sijtsma Palstra R J. Close encounters of the 3C kind: long-range chromatin interactions and transcriptional regulation. *Brief Funct Genomic Proteomic*, 2009, **8**(4): 297–309

- [28] Tan-Wong S M, French J D, Proudfoot N J, *et al.* Dynamic interactions between the promoter and terminator regions of the mammalian BRCA1 gene. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, **105**(13): 5160–5165
- [29] Singh B N, Ansari A, Hampsey M. Detection of gene loops by 3C in yeast. *Methods*, 2009, **48**(4): 361–367
- [30] Cope N F, Fraser P. Chromosome conformation capture [M/OL]. *Cold Spring Harb: Protoc*, 2009 [2009-05-28]. <http://cshprotocols.cshlp.org/cgi/content/full/2009/pdb.prot5137> (DOI: 10.1101/pdb.prot5137)
- [31] Palstra R J, Simonis M, Klous P, *et al.* Maintenance of long-range DNA interactions after inhibition of ongoing RNA polymerase II transcription. *PLoS One*, 2008, **3**(2): e1661
- [32] Simonis M, Klous P, Homminga I, *et al.* High-resolution identification of balanced and complex chromosomal rearrangements by 4C technology. *Nat Methods*, 2009, **6**(11): 837–842
- [33] Rusk N. Mapping genomes in 3D. *Nat Methods*, 2010, **7**(1): 35

Chromosome Conformation Capture (3C) and 3C-based Methods

ZHAI Kan¹⁾, WU Zhi-Yin²⁾, YU Dian-Ke^{1)*}

⁽¹⁾ Department of Etiology & Carcinogenesis, Cancer Institute and Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 100021, China;

⁽²⁾ China National Center for Biotechnology Development, Beijing 100036, China)

Abstract Chromosome conformation is thought to play an important role in gene expression regulation. Chromosome conformation capture (3C), circular chromosome conformation capture (4C), 3C-carbon copy (5C), ChIP-loop assay, ChIA-PET and Hi-C method were developed to study spatial organization of long genomic regions in living cells. All steps of 3C, those 3C-based methods and key procedures in experiment were also discussed. The aim of this paper is to introduce some new methods to study gene regulation in 3D.

Key words chromosome conformation, chromosome conformation capture, gene regulation, chromatin interaction

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2010.00158

*Corresponding author.

Tel: 86-10-87788715, E-mail: yudianking@gmail.com

Received: March 29, 2010 Accepted: June 7, 2010