

Cell

Resource

In Situ Capture of Chromatin Interactions by Biotinylated dCas9

通过生物素化dCas9原位捕获染色质相互作用

X. Liu,¹ Y. Zhang,¹ Y. Chen,¹ M. Li,¹ F. Zhou,^{1*} and J. Xu*
Cell, 170 (2017), 1028-43

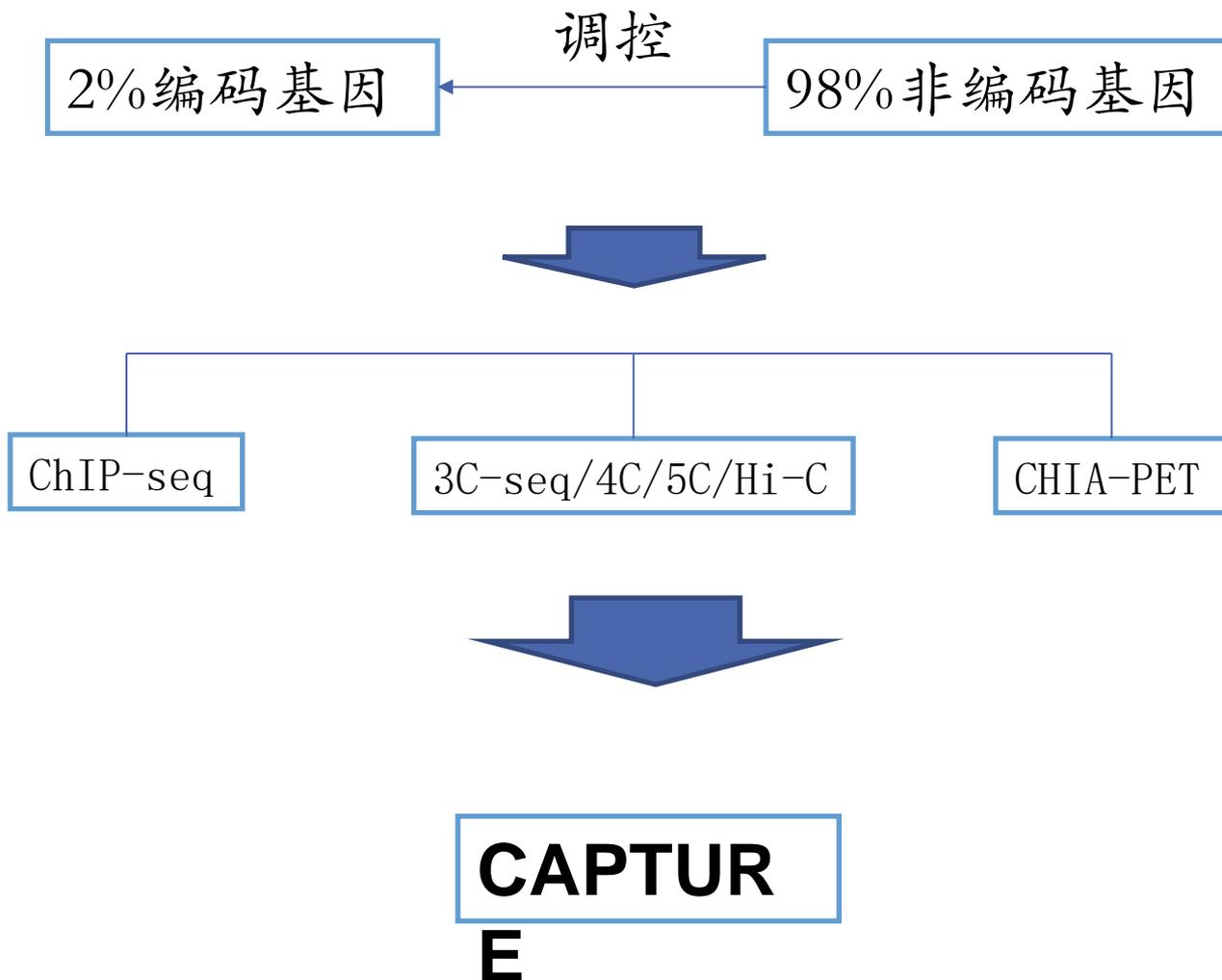
汇报人：王旭婷

导 师：马彬广

日 期：2017.10.25

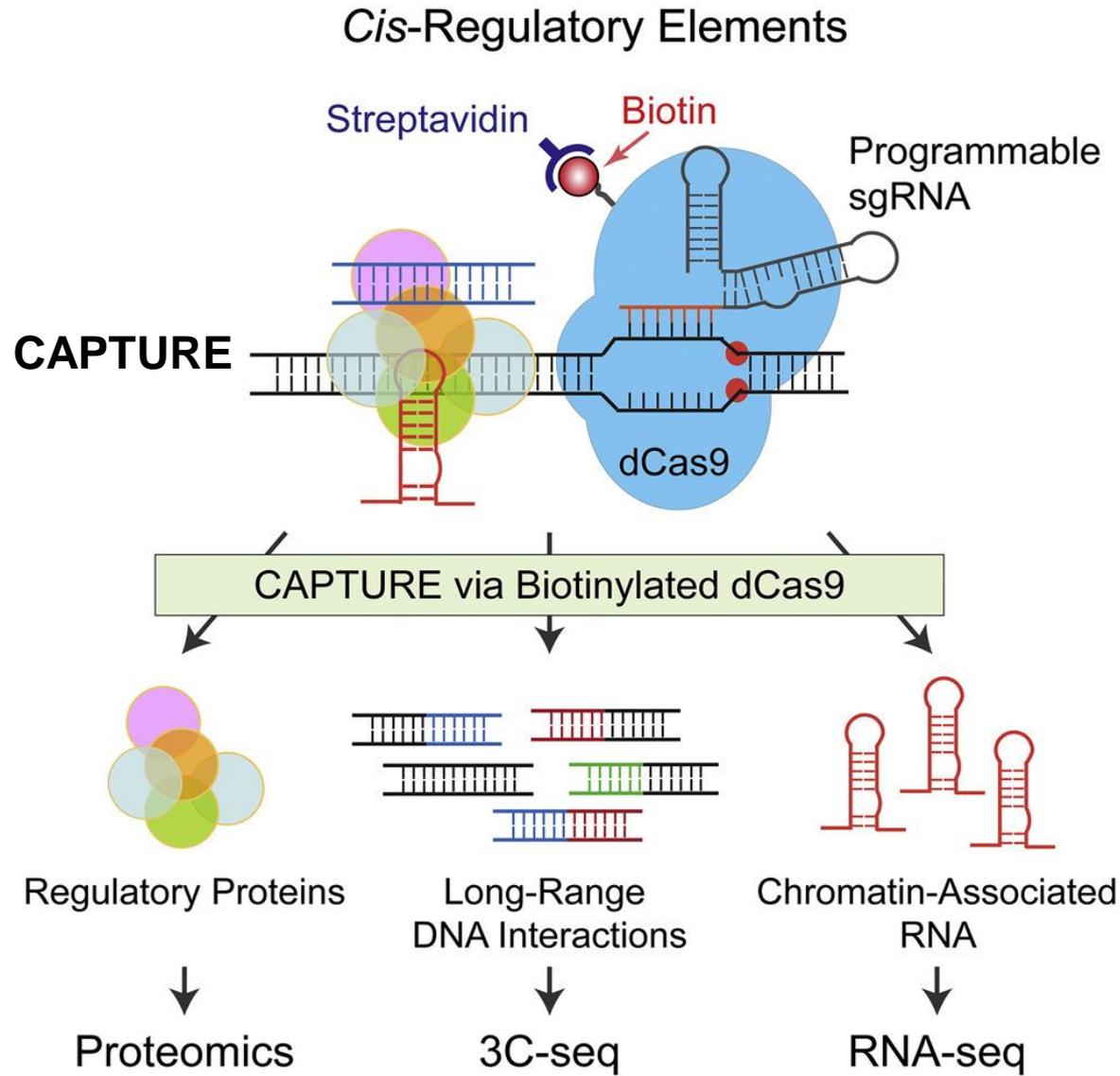


背景



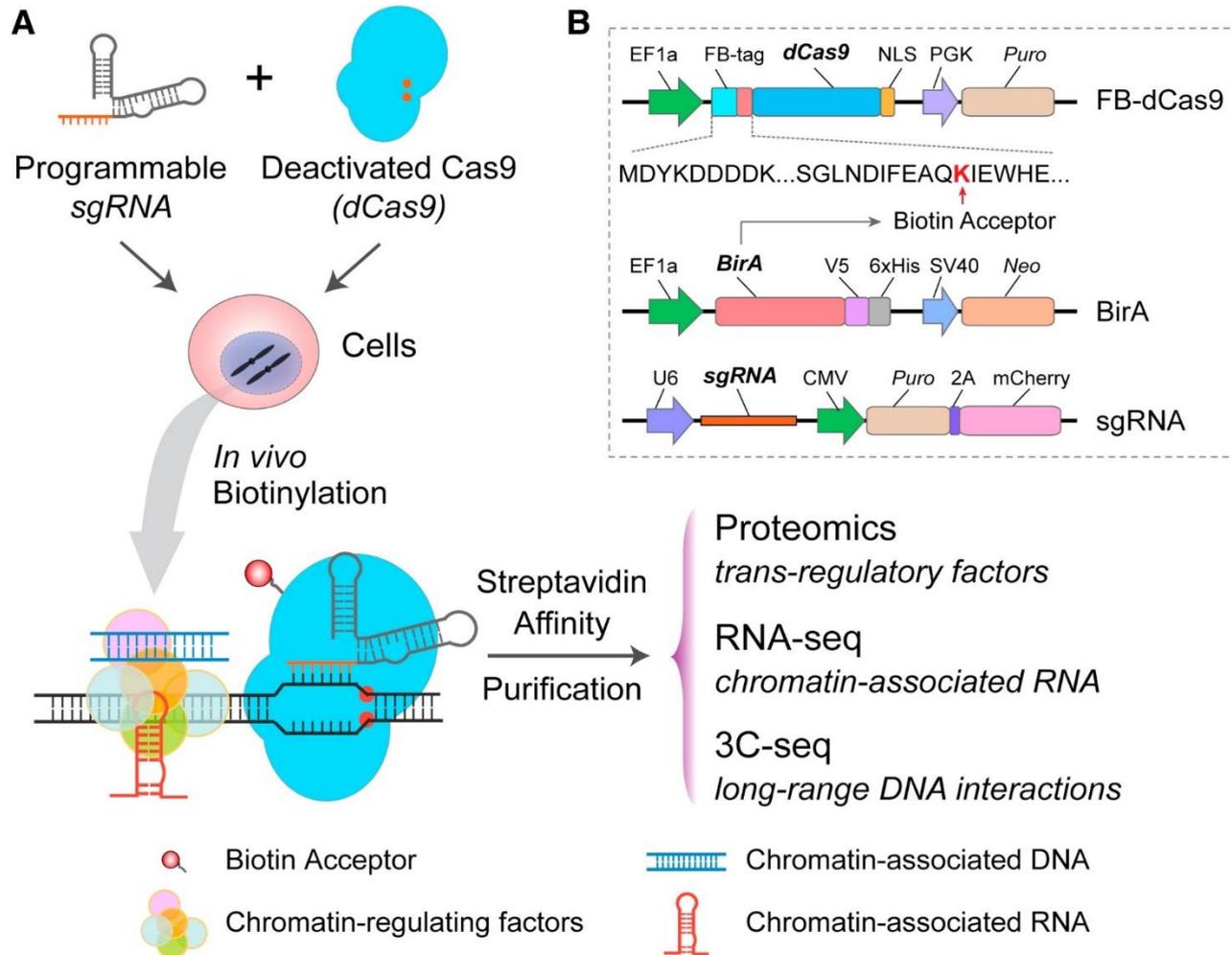
Abstract

t



CAPTUR

E



CAPTURE技术有以下优点:

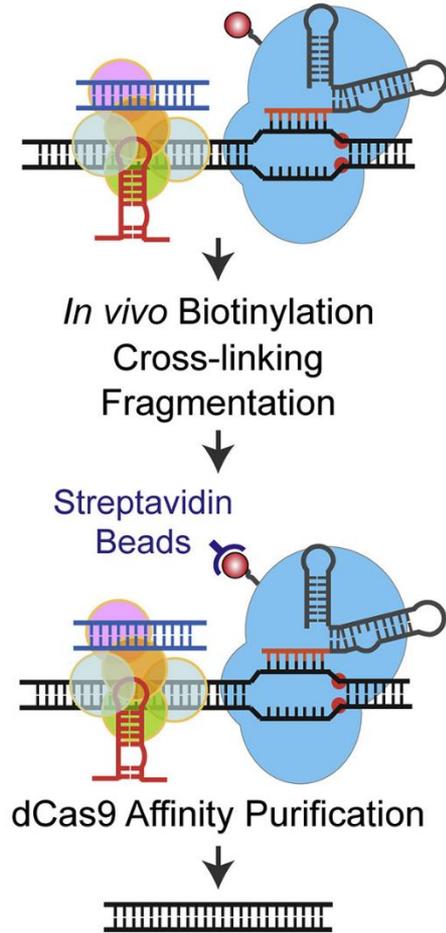
- (1) **灵敏度高**。生物素和链酶亲和素的亲和力 (affinity) 达到 $K_d = 10^{-14}$ mol/L, 是抗体介导的相互作用的1000倍以上, 这样就可以更高效和更稳定地捕获蛋白—DNA复合物。
- (2) **特异性高**。这个方法没有使用抗体, 能显著减少非特异性结合, 此外, 生物素—链霉亲和素出众的稳定性, 利于进行严格的纯化过程, 减少蛋白污染。
- (3) **适用于多种方法**。可以改变sgRNA序列或组合来操纵 dCas9 /sgRNA系统, 那就可以作为研究染色质相互作用的高通量测序分析媒介。



CAPTURE-ChIP-seq

seq

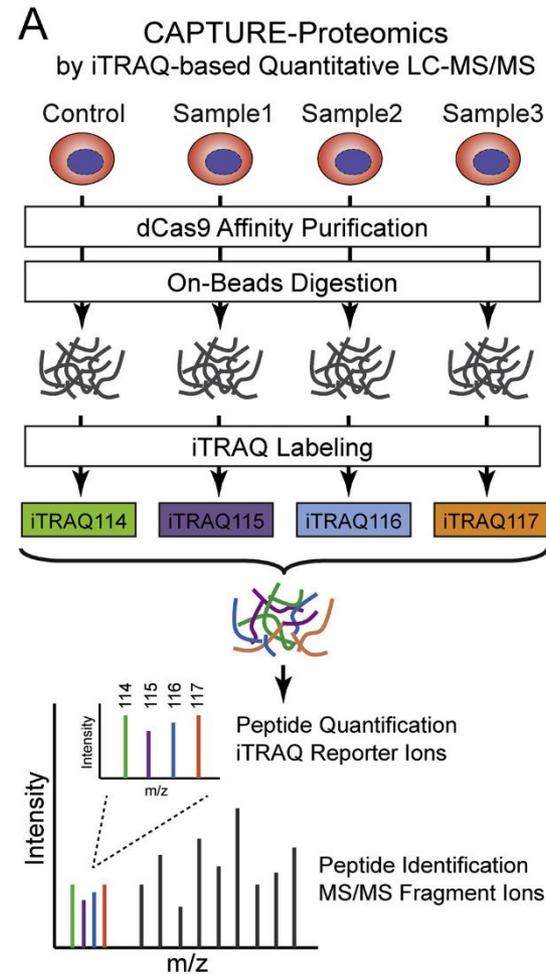
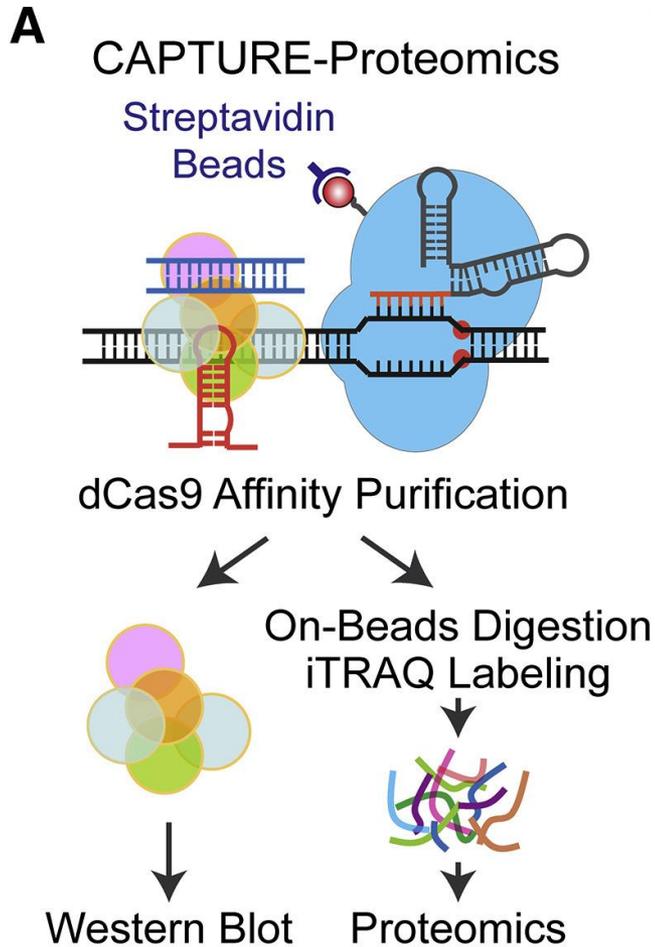
A CAPTURE-ChIP-seq



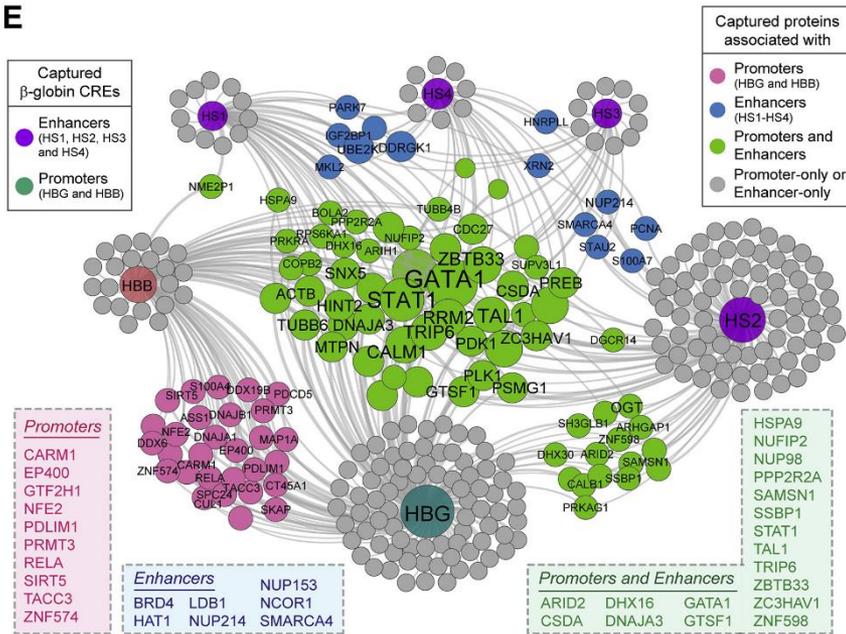
- CAPTURE系统可以适应独立CRE的多重分析。
- CAPTURE方法允许通过改进的目标浓缩和消除潜在的目标，更有效地纯化目标染色质。
- CAPTURE系统对目标基因座具有高度的特异性，可用于分离基因座特异性调控组分。



CAPTURE-Proteomics



E



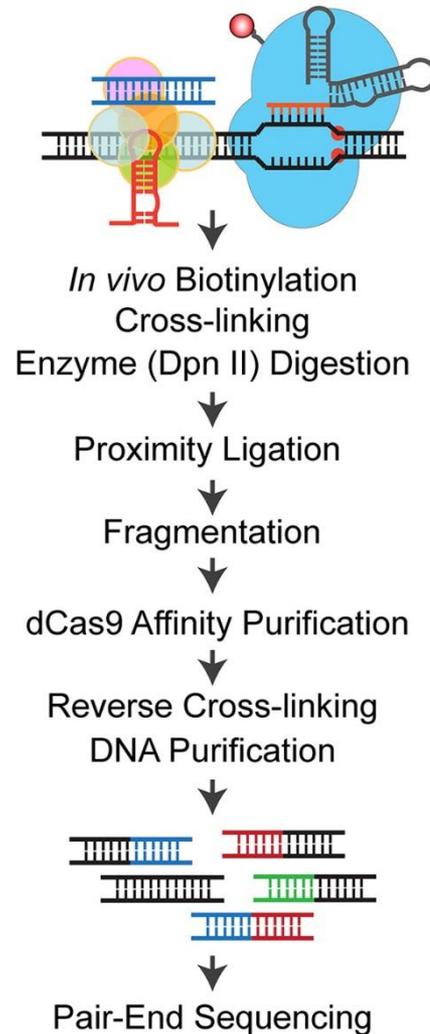
- 在 β 球蛋白CRE上鉴定得许多已知因子
- 通过位点特异性蛋白质组学，确定了新的 β 珠蛋白CRE相关复合物，包括核心蛋白（NUP98，NUP153和NUP214），LCR增强子上的大多蛋白核孔复合物（NPC）的组分。
- CAPTURE蛋白质组学鉴定的蛋白质与 β 珠蛋白CRE融合的连接网络分析为 β -球蛋白CRE的基于组合的分层结构提供了初步证据。

CAPTURE蛋白质组学鉴定的蛋白质与 β 珠蛋白CRE融合的连接网络

CAPTURE-3C-seq

- 增强子可以通过远程DNA相互作用，调控远距离的特定的启动子。
- 3C技术和衍生的技术4C、5C和Hi-C，以及FISH来检测远程的染色质相互作用。不能获得功能上的具体信息。
- 对于远距离的染色质相互作用从头分析，可以使用ChIA-PET（配对末端标签测序分析染色质相互作用），依赖于特异的靶蛋白和抗体，所以不能应用于研究单一的基因位点。

A CAPTURE-3C-seq



应用验证

- 通过原位CAPTURE对 β 球蛋白簇的基因座特异性相互作用的深入分析不仅揭示了谱系特异性增强子簇的基于组合的分层控制的新空间特征，而且建立了用于分子解剖的新方法的疾病相关CRE。
- 为了证明CAPTURE可以跨细胞模型运用，研究者分析了小鼠胚胎干细胞ESC分化过程中品系特异的超级增强子。研究表明，CAPTURE方法在人类细胞和转基因小鼠胚胎干细胞中有效地工作，提高了使用生物素化dCas9在原位和体内发育中的组织中纯化CRE相关染色质相互作用的前景。
- 总之，CAPTURE技术可以在人类细胞和转基因小鼠ESC细胞中高效应用。



- 亮点：高灵敏性，高特异性以及适用于高通量分析，使得鉴定和描述整个基因组中的调节区域和与这些调节区域结合的蛋白成为可能。
- 不足：CAPTURE作为一项新技术，仍存在一些不足，比如需要的细胞样本量较大，每次实验需 $0.25 \sim 1 \times 10^9$ 个细胞。
- 启发：技术不只是独立存在的， $1+1 \geq 2$ 。



Thanks for your attention!

