

论 著

CDP 参与凋亡过程中远程调控元件 mbr
对于凋亡相关基因的转录调控作用蒋葭葭^{1,2}, 杨 音^{1,2}, 孙玉洁^{1,2}

(南京医科大学, 1. 江苏省人类功能基因组学重点实验室; 2. 细胞生物学系, 江苏 南京, 210029)

摘 要: 目的 研究凋亡过程中 SATB1 降解后, CDP 能否代替 SATB1 参与 BCL2 和 NOXA 的转录。方法 在 Jurkat 细胞中过表达 CDP, Real-time PCR 检测 BCL2 和 NOXA 的转录。EMSA 检测 mbr 元件和 NOXA-SBS1 上蛋白复合物的变化。结果 在 Jurkat 细胞中, mbr 元件和 NOXA-SBS1 上均存在 SATB1 蛋白, 当 SATB1 和 CDP 比例改变后, mbr 元件上 SATB1 蛋白复合物消失, 取而代之的是 CDP 蛋白复合物。CDP 可以促进 NOXA 的转录, 抑制 BCL2 的转录。结论 SATB1 与其同源异型蛋白 CDP 的比例变化可直接改变 mbr 增强子上蛋白复合物的组成。

关键词: 远程调控元件 mbr; BCL2; NOXA; CDP

中图分类号: R 329.2 文献标志码: A 文章编号: 1672-2353(2017)09-001-05 DOI: 10.7619/jcmp.201709001

Role of long-range regulatory element mbr in
transcriptional regulation of apoptosis-related
genes in apoptosis process participated with CDPJIANG Jiajia^{1,2}, YANG Yin^{1,2}, SUN Yujie^{1,2}(1. Key Laboratory of Functional Genomics of Jiangsu Province; 2. Department of Cell Biology,
Nanjing Medical University, Nanjing, Jiangsu, 210029)

ABSTRACT: Objective To investigate whether CDP can replace SATB1 in BCL2 and NOXA transcription after SATB1 degradation during apoptosis. **Methods** CDP was over-expressed in Jurkat cells, and the transcription levels of BCL2 gene and NOXA gene were determined by real-time PCR. EMSA assay was used to detect the protein complex change in mbr and NOXA promoter. **Results** In the Jurkat cells, the SATB1 protein was present on the mbr element and NOXA-SBS1. When the SATB1 and CDP ratio changed, the SATB1 protein complex disappeared and replaced with the CDP protein complex on mbr element. CDP was able to promote the transcription of NOXA and inhibit the transcription of BCL2. **Conclusion** The ratio of SATB1 protein to its homologous protein CDP is critical for synergistic expression of BCL2 and NOXA genes mediated by the mbr long distance regulation.

KEY WORDS: long-range regulatory element mbr; BCL2; NOXA; CDP

细胞凋亡是一种受基因调控的生物学过程, 可以由促凋亡和抗凋亡蛋白的比例来调节^[1]。BCL2 家族成员包含抗凋亡和促凋亡两类功能相反的蛋白质, 是细胞中一组重要的凋亡调节蛋白, BCL2 家族蛋白表达水平与比例是决定细胞命运

的极为重要的因素, BCL2 家族蛋白比例的改变也是决定肿瘤对凋亡刺激反应的关键因素^[2]。作者的前期研究结果发现, 位于 BCL2 基因 3'非翻译区(3'-UTR)的主要断裂点区(mbr)是一个正向调控元件, 能够显著增强上游200 kb处 BCL2

收稿日期: 2016-11-13

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30772490)

通信作者: 孙玉洁 E-mail: yujiesun@njmu.edu.cn

基因启动子的转录活性^[3]。mbr 对 BCL2 基因的远程调控功能依赖于 SATB1 蛋白介导的 mbr-BCL2 启动子相互作用(BCL2 染色质环)以及 mbr 上 SATB1 蛋白复合物的组成。核基质附着蛋白 SATB1 是一个具有蛋白平台功能的转录因子, SATB1 是细胞在凋亡反应中调节 BCL2 染色质环高级结构的动态变化的关键因素^[4]。因此,细胞内 SATB1 蛋白水平的变化有可能是改变同一远程调控元件与不同靶基因启动子相互作用的重要因素^[5]。SATB1 介导的 BCL2 染色质环动态变化是细胞在早期凋亡反应中调节 BCL2 基因转录活性的关键环节。

作者还发现位于 BCL2 基因下游 3.4Mb 的 NOXA 促凋亡基因启动子区有 SATB1 结合序列。NOXA 基因是 mbr 的另一靶基因,在人 T 细胞性白血病细胞(Jurkat)早期凋亡反应中, SATB1 蛋白降解后从 mbr、BCL2 启动子区和 NOXA 启动子区上脱落,同时 mbr 与 BCL2 基因启动子相互作用显著减弱和 BCL2 基因转录活性的下调, mbr 元件与 NOXA 基因启动子的相互作用显著增强并且 NOXA 基因转录活性大幅上调^[6]。上述结果表明, mbr 元件可选择性地调节 BCL2 和 NOXA 这两个功能相拮抗的靶基因的转录,协调两者的表达水平, mbr 元件的这一功能依赖于 mbr-BCL2 和 mbr-NOXA 染色质环动态转换。

1 材料与方法

1.1 材料

anti-SATB1 抗体(由美国 City of Hope 医学中心馈赠), anti-CDP 抗体(Santa Cruz Biotechnology 公司,美国), anti- β -Actin 抗体(Sigma Chemical 公司,美国), HRP 标记的抗羊、抗兔、抗小鼠 IgG(北京中杉,中国), Trizol(Invitrogen Life Technologies 公司,美国), 反转录试剂盒(ABI 公司,美国), SYBR Green Realtime PCR Master Mix(Toyobo 公司,日本), NE-PER[®] 细胞核和细胞浆抽提试剂盒(Pierce 公司,美国)。人白血病 T 淋巴细胞系 Jurkat 培养于含有 10% 新生牛血清、10 mmol/L HEPES、1 mmol/L 丙酮酸钠、100 U/mL 青霉素和 100 U/mL 链霉素的 RPMI-1640 培养液中,于 37℃、5% CO₂ 培养箱中培养,培养密度为 $(0.2 \sim 1.0) \times 10^6$ 个/mL。

1.2 方法

1.2.1 RNA 提取和 RT-PCR 实验:当细胞密度长

至 6×10^6 个/mL 时,吸取培养基,离心, PBS 洗细胞 1 次,每孔加入 1 mL Trizol 裂解细胞,按照 RNA 提取步骤提取细胞总 RNA。用逆转录试剂盒逆转录生成 cDNA, 再进行 real-time PCR 反应。引物如下: BCL2-RTN-FTCGCCCTGTGGATGACTGAG; BCL2-RTN-RCAGACTCTTCAGAGACAGCCAGGA。NOXA-RTN-FGCAGAGCTGGAAGTCGAGTGT; NOXA-RTN-RCTCTTTTGAAGGAGTCCCCTCAT。Actin-RTN-FTCATGAAGTGTGACGTGGACAT; Actin-RTN-RCTCAGGAGGAGCAATGATCTTG。

1.2.2 总蛋白提取及 Western Blot 分析:首先用预冷的三去污裂解液裂解细胞,用 BCA 蛋白测定试剂盒测定蛋白质浓度。制备 8% ~ 12% 的 SDS-PAGE 凝胶,加入等量的蛋白质电泳后电转至 PVDF 膜,用 5% 的脱脂奶粉室温封闭 1 h, 用 TST 缓冲液稀释一抗(CDP, 1: 10 000; SATB1, 1: 5 000; β -Actin, 1: 5 000), 于 4℃ 冰箱轻摇过夜, TST 缓冲液洗膜, 10 min $\times$ 3 次, 加入 TST 缓冲液配制的辣根过氧化物酶偶联 IgG(兔抗羊, 1: 10 000; 羊抗兔, 1: 4 000; 羊抗鼠, 1: 5 000, 根据一抗的来源而定), 室温中轻摇孵育 1 h; TST 缓冲液洗膜, 10 min $\times$ 3 次; 在暗室中配制 ECL 显色液, 混匀后滴加在放置平整的膜上, 反应 1 min, 随即将膜夹入透明膜中, 上层覆盖感光胶片, 置于暗盒中。根据荧光强度决定曝光时间, 取出胶片后显影定影、晾干保存。

1.2.3 Jurkat 细胞核抽提物提取:使用试剂盒(NE-PER)进行胞核蛋白提取, 参照说明书操作。采用试剂盒(DC Protein Assay Kit), 其原理为改良 Lowry 法, 根据说明书操作测量蛋白浓度。

1.2.4 电泳迁移率变动实验(EMSA): 合成探针。各探针序列如下: NOXA-SBS1-F: 5'-AAATT TAATAATTTATGC -3'; NOXA-SBS1-R: 5'-GCAT AAATTATTAAATTT -3'; 37mbr-F: 5'-TATGAAA GGTTCATATTGTCAAAGTGATGAATATGGA -3'; 37mbr-R: 5'-TCCATATTCATCACTTTGACAATGTA AACCTTTCATA -3'; SP1-F: 5'-ATTCGATCGGGG CGGGCGGAGC-3'; SP1-R: 5'-GCTCGCCCCGC-CCCGATCGAAT-3'。各探针上下游(F 和 R)序列产物加 TEN buffer(配方参见《分子克隆实验指南》)溶至 10 pmol/ μ L, 各取 50 μ L 分别涡旋混匀。按照一定体系将待标记探针进行标记; 使用 QIAquick Nucleotide Removal kit 纯化标记探针; 所有探针置于 95℃ 恒温金属浴, 10 min, 缓慢降

温至室温,所获得的已标记探针稀释 50 倍,随后进行结合反应。配制 6% 非变性聚丙烯酰胺凝胶,电泳缓冲液采用 0.5 × TBE (配方参见《分子克隆实验指南》)。恒压 250 V, 预电泳 10 min。将结合反应后的各样品分别加入上样孔,两侧各加入一孔 6 × DNA Loading buffer 作为指示剂。恒压 250 V, 电泳约 2 h。将非变性聚丙烯酰胺凝胶从玻璃板上剥离,用保鲜膜包裹,与胶片置于暗盒中, -80 ℃ 冰箱中放射自显影 1 ~ 2 d, 曝光。

1.2.5 小 RNA 干扰及电转: SATB1 特异性 siRNA 片段由 Invotrogen 公司合成后插入到 Gen-script 公司的 pGCsi-H1/Neo/GFP/siNEGative 载体中,干扰质粒可同时表达 GFP, 因此可以通过绿色荧光观察转染效率。干扰片段序列如下: control-shRNA: 5'-ACGTGACACGTTCCGAGAA-3'; SATB1-shRNA: 5'-GTCCACCTTGTCTTCTCTC-3'。采用电转方法将干扰质粒和对照质粒转染 Jurkat 细胞。

1.3 统计学处理

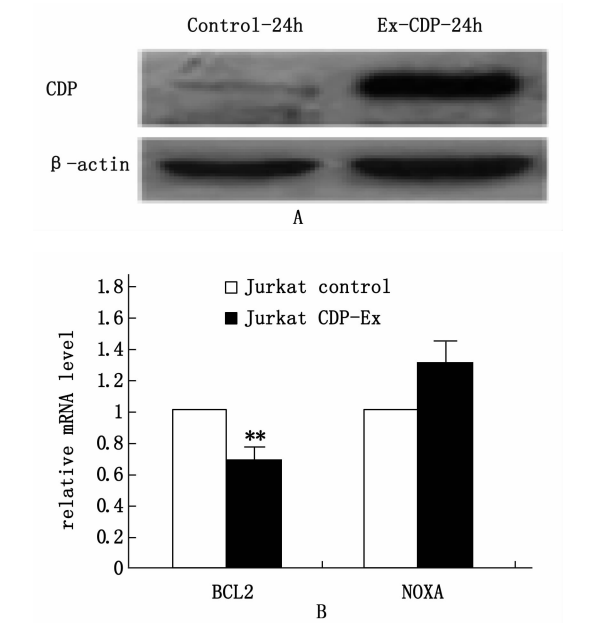
实验数据以 3 次实验的平均值 ± 标准误表示,组间差异用双尾 Student's *t* 检验,计算 *P* 值。*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 Jurkat 细胞中过表达 CDP, 抗凋亡基因 BCL2 转录水平下降,促凋亡基因 NOXA 转录水平升高

作者设想早期凋亡反应中 SATB1 从 mbr 元件上解离下来,可使其同源异型蛋白在相应位点上的结合量增加。CDP 是与 SATB1 有着高度相似 DNA 结合结构域的蛋白,具有 4 个 DNA 结合结构域,两者与特异性 DNA 序列的结合是相互竞争关系,决定了 2 个蛋白能够竞争性的结合在相应区域上, SATB1 蛋白与 CDP 蛋白的结合是相对独立的,然而他们的结合位点是重叠的^[7]。有研究显示,当细胞内 2 个蛋白的比例改变,即 SATB1 从 MAR 上脱落后, CDP 的结合量增加,反之亦然。作者利用 CDP 过表达质粒在 Jurkat 细胞中过表达 CDP, 使 Jurkat 细胞中 CDP 蛋白过量表达,见图 1。同时运用 Real-time PCR 检测 BCL2 基因和 NOXA 基因的转录, BCL2 基因显著下降, NOXA 基因的转录水平发现其转录水平有一定程度的上调。当干扰 SATB1 的表达, BCL2 基因转录水平大幅度下调, NOXA 基因的转录水

平大幅度上升一致,说明在 SATB1 降解并且从 mbr、NOXA 和 BCL2 启动子上解离后, CDP 很有可能代替 SATB1 调节两个基因 BCL2 和 NOXA 基因的转录。



A: 在 Jurkat 细胞中过表达 CDP 蛋白, Western blot 验证过表达效果; B: Real-time PCR 检测发现 BCL2 基因显著降低, NOXA 基因的转录水平有一定程度的上调。* * *P* < 0.01。

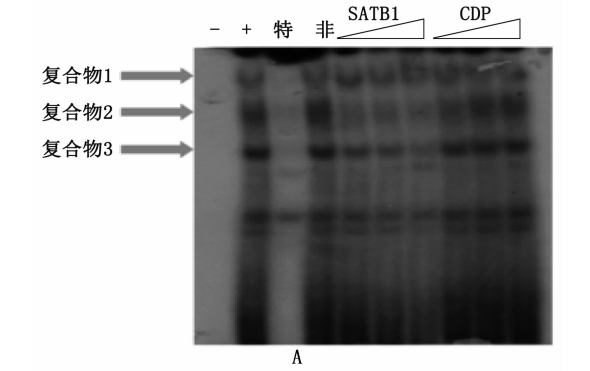
图 1 CDP 抑制 BCL2 基因的转录促进 NOXA 基因的转录

2.2 凋亡刺激之前, mbr 上和 NOXA 启动子区存在 SATB1 的结合,不存在 CDP 的结合

为了探讨细胞中 SATB1/CDP 蛋白比例是否是决定 mbr 元件选择性调节 BCL2 和 NOXA 基因转录活性的关键因素,即在早期凋亡过程中染色质构象发生改变, mbr 元件结合的蛋白复合物发生改变,是使得其与靶基因的相互作用的亲和性改变,进而协同影响靶基因的转录活性的原因。首先作者用 EMSA 实验证实,在 Jurkat 细胞中, mbr 元件和 NOXA-SBS1 上均有 SATB1 蛋白的结合,如图 2 所示, mbr 上和 NOXA 启动子区均存在 SATB1 的结合,但是并不存在 CDP 的结合。而 SATB1 能够结合在 BCL2 启动子区,发挥对 BCL2 的调节作用在前期研究结果中已经被反复的证明^[5]。

A 和 B 凝胶电泳迁移率实验结果证实, mbr 元件和 Noxa 启动子区上结合的蛋白复合物中有 SATB1 而没有 CDP。泳道 1: 无细胞裂解物的阴性参照。泳道 2: 在 37mbr 上形成的蛋白质复合物条带。泳道 3: 100 倍过量未标记 37 mbr 冷探

针特异性竞争实验,复合物条带基本消失。泳道 4: 100 倍过量未标记 SP1 结合序列冷探针非特异性竞争实验,复合物条带不消失。泳道 5、6、7: 分别在反应体系中加入 2、6 和 10 μg 抗 SATB1 抗体进行超迁移实验。泳道 8、9、10: 分别在反应体系中加入 2、6 和 10 μg 抗 CDP 抗体进行超迁移实验



验。图中箭头指示的结合在 Noxa 启动子区域的三个明显的蛋白复合中 complex 3 中有 SATB1 蛋白,而结合在 mbr 元件的三个明显的蛋白复合中 complex B 中有 SATB1 蛋白,两段区域均没有 CDP 蛋白结合。

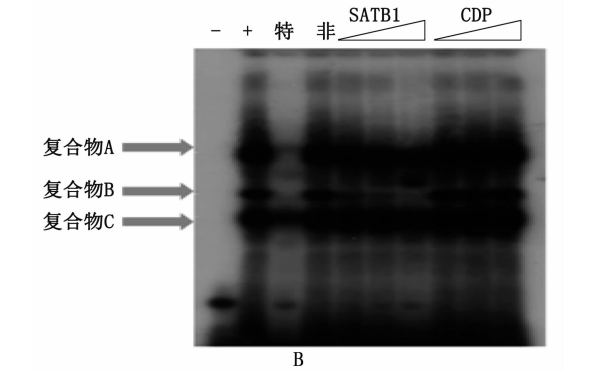


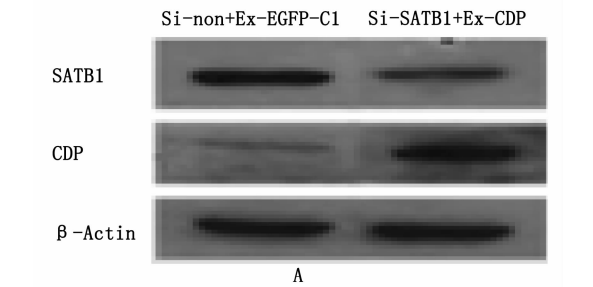
图 2 凋亡刺激之前 mbr 和 NOXA 启动子区的蛋白复合物

2.3 当 SATB1 蛋白和 CDP 的比例发生改变时, mbr 上和 NOXA 启动子区上的蛋白组分发生变化

前期的研究结果^[5]已经表明,在凋亡过程中, SATB1 蛋白降解,并且从 mbr 上解离, BCL2 启动子区的蛋白组分发生改变。为了研究凋亡过程中, SATB1 降解后,即 SATB1 蛋白和 CDP 的比例发生改变后, Mbr 和 NOXA 启动子上蛋白组分的改变,以及 CDP 能否结合上去,作者在 Jurkat 细胞中干扰 SATB1 蛋白同时过表达 CDP 蛋白之后, SATB1 的干扰效果和 CDP 的过表达效果见图 3。 mbr 元件上的 SATB1 蛋白的复合物消失而含有 CDP 蛋白的复合物结合在 mbr 上,说明 SATB1 和 CDP 确实能够在 mbr 元件上形成竞争性结合,与此同时, NOXA-SBS1 上结合的蛋白复合物也发生了相应的改变, EMSA 结果显示, NOXA-SBS1 上结合的蛋白复合物成分也由于 SATB1 和 CDP 的改变而改变,即 CDP 与 SATB1 蛋白在 mbr 和 NOXA-SBS1 上均形成竞争性结合,所以当细胞中 SATB1 蛋白与同源异型蛋白 CDP 的比例发生改变时, CDP 取代 SATB1 促使 mbr 与 NOXA 之间的相互靠近,提示 mbr 元件染色质构象的改变影响 mbr 上蛋白复合物的成分,从而调节染色质空间构象,实现对靶基因的转录调控。

A: Western blot 分析显示, SATB1-shRNA 干扰质粒可显著下调 Jurkat 细胞中 SATB1 蛋白的表达水平,而数据过表达 CDP 质粒增强 Jurkat 细

胞中 CDP 蛋白的表达水平,从而使得 Jurkat 细胞中 SATB1 与 CDP 蛋白比例发生逆转。 B 和 C: 凝胶电泳迁移率实验结果显示, Jurkat 细胞中 SATB1 与 CDP 蛋白比例发生逆转后, mbr 元件和 Noxa 启动子区上结合的蛋白复合物组分均发生了改变。泳道 1: 无细胞裂解物的阴性参照。泳道 2: 在 Noxa-SBS 上形成的蛋白质复合物条带。泳道 3: 100 倍过量未标记 Noxa-SBS 冷探针特异性竞争实验,复合物条带基本消失。泳道 4: 100 倍过量未标记 SP1 结合序列探针非特异性竞争实验,复合物条带不消失。泳道 5、6、7: 分别在反应体系中加入 2、6 和 10 μg 抗 SATB1 抗体进行超迁移实验。泳道 8、9、10: 分别在反应体系中加入 2、6 和 10 μg 抗 CDP 抗体进行超迁移实验。如图中箭头所示,只有加入抗 CDP 抗体时 SBS1-蛋白质复合物随抗体量增加而逐渐消失并向上迁移。加入抗 SATB1 抗体时,蛋白质复合物条带无明显变化。



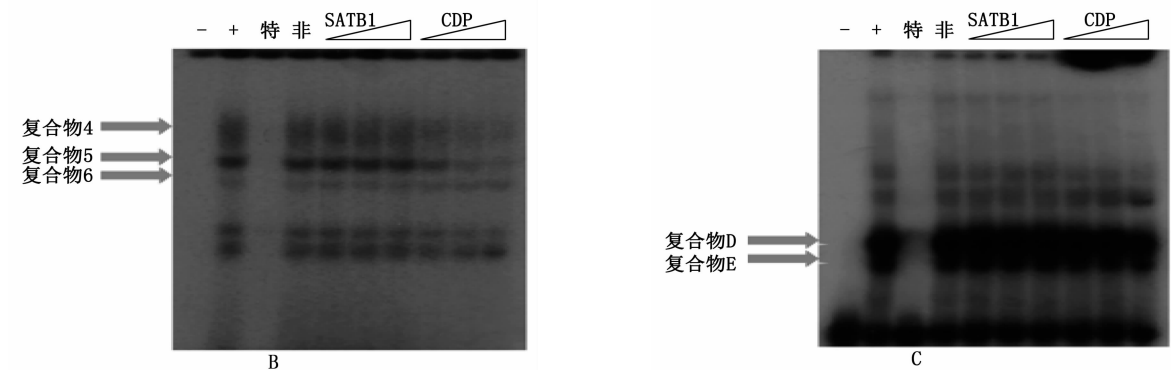


图 3 当 SATB1 蛋白和 CDP 的比例改变时 mbr 和 NOXA 启动子区的蛋白复合物

3 讨 论

本研究探讨了 Jurkat 细胞凋亡发生后, SATB1 降解并且从 mbr、BCL2 和 NOXA 启动子上解离后, CDP 取代 SATB1 促使 mbr 与 NOXA 之间的相互靠近,促进 NOXA 基因转录的升高,提示 mbr 元件染色质构象的改变影响 mbr 上蛋白复合物的成分,从而调节染色质空间构象,实现对靶基因的转录调控。

CDP 定位于 7q22.1, 该区域在几种肿瘤中均存在丢失。其基因至少有 340 kb, 并包含 33 个外显子,共有 5 个不同的转录本,包含 2 个启动子区域,2 个多腺苷酸化位点和 7 种选择性剪切位点。不同的选择性剪切方式,会产生具有不同功能的转录本。细胞中 SATB1 与 CDP 的比例也会影响 SATB1 对基因的调控^[8]。本研究已证实, SATB1 是细胞在凋亡反应中调节 BCL2 染色质环高级结构的动态变化的关键因素,细胞通过降解 SATB1 促使 BCL2 染色质环解聚,下调 BCL2 基因的转录活性。过表达抵抗 caspase-6 降解的 SATB1 突变体可逆转这一过程。可见, SATB1 与特定 DNA 序列的结合与解离,可通过改变其结合序列上蛋白复合物的组成、相应区域染色质构象以及染色质高级结构,调控不同基因的表达。过表达 CDP 后,更多的 SATB1 与 CDP 结合,从而使得 SATB1 与 DNA 的结合量减少,所以过表达 CDP 与干扰 SATB1 的效果类似,使得 BCL2 的表达量降低, NOXA 的表达量升高。有研究者^[9]同样提出 SATB1 和 CDP 都能与同一基因启动子上游的核基质结合序列结合。SATB1 和 CDP 通过各自的 DNA 结合结构域相互作用,这种相互作用削弱了它们与启动子上游核基质结合序列的结合能力,因此影响了其转录活性。

随着染色质三维构象捕获技术的不断发展与创新^[10-12], 以及 ENCOD 计划的完成^[13], 人类解析了越来越多的 DNA 序列以外的遗传信息。染色质三维构象的调节也受到了越来越多的关注, 其异常通过影响细胞生命活动的多个环节,影响疾病的发生和发展^[14-15]。本研究探讨远程调控元件 mbr 在协同调节凋亡相关基因 BCL2 和 NOXA 的转录过程中涉及到的具体分子机制, SATB1 与 CDP 的协调在凋亡过程中调控了凋亡相关基因的转录。这其中涉及到的具体分子机制要远比这些复杂,但是生物体中染色质高级结构的调控是一个复杂的网络,介导染色质高级结构的蛋白数量也很庞大,在 SATB1 降解以后, mbr 上的蛋白组分会发生改变,涉及到新的蛋白的结合,原有蛋白的解离。CDP 是其中一个,与 CDP 具有类似功能的蛋白还有 CtBP1^[16], 至于该蛋白是否参与其中或者还有其他的候选蛋白还需要后续进一步的研究证明。此外,在后续的研究过程中,作者需要结合生物信息的方法以及更高通量的研究技术对 mbr 上的蛋白复合物在应对凋亡刺激的过程中发生的改变做一个更系统的研究。

参考文献

[1] Zhou J, Zhang S, Ong C N, et al. Critical role of pro-apoptotic Bcl-2 family members in andrographolide-induced apoptosis in human cancer cells[J]. *Biochem Pharmacol*, 2006, 72(2): 132-144.

[2] Giotakis A I, Kontos C K, Manolopoulos L D, et al. High BAX/BCL2 mRNA ratio predicts favorable prognosis in laryngeal squamous cell carcinoma, particularly in patients with negative lymph nodes at the time of diagnosis[J]. *Clin Biochem*, 2016, 49(12): 890-896.

[3] Ma C, Zhang J, Durrin L K, et al. The BCL2 major breakpoint region (mbr) regulates gene expression[J]. *Oncogene*, 2007, 26(18): 2649-2657.

(下转第 15 面)

perrophic cardiomyopathy[J]. Echocardiography, 2012, 29(4): 438–444.

[9] Cincin A, Tigen K, Karaahmet T, et al. Right ventricular function in hypertrophic cardiomyopathy: A speckle tracking echocardiography study[J]. Anatol J Cardiol, 2015, 15(7): 536–541.

[10] Voilliot D, Huttin O, Hammache N, et al. Impact of Global and Segmental Hypertrophy on Two-Dimensional Strain Derived from Three-Dimensional Echocardiography in Hypertrophic Cardiomyopathy: Comparison with Healthy Subjects[J]. J Am Soc Echocardiogr, 2015, 28(9): 1093–1102.

[11] 尹丽, 郭丽苹, 薛炜. 实时三维超声心动图评价肥厚型心肌病左室同步性的研究[J]. 中外健康文摘, 2014, (12): 102–103.

[12] Iio C, Inoue K, Nishimura K, et al. Characteristics of Left Atrial Deformation Parameters and Their Prognostic Impact in Patients with Pathological Left Ventricular Hypertrophy: Analysis by Speckle Tracking Echocardiography[J]. Echocardiography, 2015, 32(12): 1821–1830.

[13] Phelan D, Thavendiranathan P, Popovic Z, et al. Application of a parametric display of two-dimensional speckle-tracking longitudinal strain to improve the etiologic diagnosis of mild to moderate left ventricular hypertrophy[J]. J Am Soc Echocardiogr, 2014, 27(8): 888–895.

[14] 赵蓓, 李娟, 朱伟红, 等. 实时三维超声评价肥厚型心肌病舒张失同步性及舒张功能[J]. 南方医科大学学报, 2013, 33(1): 8–12.

[15] 於晓平, 杨杨, 徐俊. 斑点追踪技术在肥厚型心肌病患者的左心室心肌扭转运动中的评价作用[J]. 实用临床医药杂志, 2013, 17(19): 14–16.

[16] 徐刚, 张笑春, 曲小龙, 等. 心脏磁共振定量评价肥厚型心肌病患者的左室舒张功能[J]. 第三军医大学学报, 2015, 37(6): 563–567.

[17] 陈玲, 金楠, 李革. 血管紧张素原基因 M235T 多态性与肥厚型心肌病关系的 Meta 分析[J]. 吉林大学学报: 医学版, 2014(1): 132–136.

[18] 陈景钗, 汪荣华, 欧阳元付. 超声心动图检查对肥厚型心肌病的临床意义[J]. 中华全科医学, 2014, 12(5): 794–795.

(上接第5面)

[4] Cai S, Han H J, Kohwi-Shigematsu T. Tissue-specific nuclear architecture and gene expression regulated by SATB1[J]. Nat Genet, 2003, 34(1): 42–51.

[5] Gong F, Sun L, Wang Z, et al. The BCL2 gene is regulated by a special AT-rich sequence binding protein 1-mediated long range chromosomal interaction between the promoter and the distal element located within the 3'-UTR[J]. Nucleic Acids Res, 2011, 39(11): 4640–4652.

[6] Yang Y, Wang Z, Sun L, et al. SATB1 Mediates Long-Range Chromatin Interactions: A Dual Regulator of Anti-Apoptotic BCL2 and Pro-Apoptotic NOXA Genes[J]. PLoS One, 2015, 10(9): e0139170.

[7] Lee J, Klase Z, Gao X, et al. Cellular homeoproteins, SATB1 and CDP, bind to the unique region between the human cytomegalovirus ULI27 and major immediate-early genes[J]. Virology, 2007, 366(1): 117–125.

[8] Liu J, Barnett A, Neufeld EJ, et al. Homeoproteins CDP and SATB1 interact: potential for tissue-specific regulation[J]. Mol Cell Biol, 1999, 19(7): 4918–4926.

[9] Yao X, Nie H, Rojas I C, et al. The I2a element is a mouse CD8 silencer that interacts with MAR-binding proteins SATB1 and CDP[J]. Mol Immunol, 2010, 48(1/2/3): 153–163.

[10] Leblanc B, Comet I, Bantignies F, et al. Chromosome Conformation Capture on Chip (4C): Data Processing[J]. Methods Mol Biol, 2016, 1480: 243–261.

[11] Deng W, Blobel G A. Detecting Long-Range Enhancer-Promoter Interactions by Quantitative Chromosome Conformation Capture[J]. Methods Mol Biol, 2017, 1468: 51–62.

[12] Sati S, Cavalli G. Chromosome conformation capture technologies and their impact in understanding genome function[J]. Chromosoma, 2016: 121–127.

[13] Consortium E P. An integrated encyclopedia of DNA elements in the human genome[J]. Nature, 2012, 489(7414): 57–74.

[14] Shi J, Zhang Y, Zheng W, et al. Fine-scale mapping of 8q24 locus identifies multiple independent risk variants for breast cancer[J]. Int J Cancer, 2016, 139(6): 1303–1317.

[15] Misteli T. Higher-order genome organization in human disease[J]. Cold Spring Harb Perspect Biol, 2010, 2(8): a000794.

[16] Purbey P K, Singh S, Notani D, et al. Acetylation-dependent interaction of SATB1 and CtBP1 mediates transcriptional repression by SATB1[J]. Mol Cell Biol, 2009, 29(5): 1321–1337.