

# ATAC-seq 在复杂疾病研究中的应用进展

陈敏<sup>1</sup>, 张峥<sup>2</sup>, 孟紫媛<sup>1</sup>, 张学军<sup>1</sup>

1. 安徽医科大学第一附属医院皮肤性病科, 合肥 230022

2. 复旦大学附属华山医院皮肤性病科, 上海 201100

**摘要:** 染色质转座酶可及性测序(assay for transposase-accessible chromatin with high-throughput sequencing, ATAC-seq)是利用 Tn5 转座酶研究染色质可及性的高通量测序技术。ATAC-seq 可以在全基因组范围内绘制染色质可及性图谱, 揭示转录因子结合位点以及核小体的位置。在医学领域, ATAC-seq 技术是研究重大疾病发病机制、药物作用机制、新药研发和生物标志物功能等的新一代有力工具。本文对 ATAC-seq 技术的优势及其在复杂疾病研究中的应用和前景进行了综述, 以期对人类复杂疾病基因表达调控机制等相关研究的开展提供借鉴与参考。

**关键词:** ATAC-seq; 染色质可及性; Tn5 转座酶; 转录调控水平

## ATAC-seq and its applications in complex disease

Min Chen<sup>1</sup>, Zheng Zhang<sup>2</sup>, Ziyuan Meng<sup>1</sup>, Xuejun Zhang<sup>1</sup>

1. Department of Dermatology and Venerology, the First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230022, China

2. Department of Dermatology and Venerology, Huashan Hospital Affiliated to Fudan University, Shanghai 201100, China

**Abstract:** ATAC-seq is a high-throughput technology that defines and quantifies chromatin accessibility by analyzing Tn5 transposase enzymes. ATAC-seq is used to map chromatin accessibility genome-wide and to identify regions of transcription-factor binding and nucleosome position. As such, ATAC-seq is a new generation tool used in biomedical research to measure and articulate the pathogenesis of major diseases, to demonstrate the pharmacology of current drugs, and to guide the development of new drugs and the function of biomarkers. In this review, we summarize the current applications and advantages of ATAC-seq, and define its prospective contributions related to the regulatory mechanism of gene expression to identify and manage complex disease while elucidating and guiding future research references and strategies.

**Keywords:** ATAC-seq; chromatin accessibility; Tn5 transposase; transcriptional level

收稿日期: 2019-12-10; 修回日期: 2020-02-16

基金项目: 国际(地区)合作与交流项目(编号: 81320108016)资助[Supported by the International (Regional) Cooperation and Exchange Programs (No. 81320108016)]

作者简介: 陈敏, 硕士研究生, 专业方向: 皮肤遗传。E-mail: 626074054@qq.com

通讯作者: 张学军, 教授, 博士生导师, 研究方向: 皮肤遗传。E-mail: ayzxj@vip.sina.com

DOI: 10.16288/j.yczz.19-282

网络出版时间: 2020/2/24 17:16:57

URI: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.1913.R.20200224.1602.002.html>

表观遗传学在许多重要的细胞调控过程中发挥关键的作用,表观遗传学水平的失调可能是导致严重疾病的根源。控制特定基因表达谱和表型的所有启动子和增强子的全基因组特性是理解生物体内调控过程的关键。传统的技术手段分析表观基因组需要大量的细胞,而在临床稀缺样本中很难满足这一要求。近年来,随着高通量测序法的快速发展,尤其是染色质转座酶可及性测序法(assay for transposase-accessible chromatin with high-throughput sequencing, ATAC-seq)仅利用少量细胞就可以识别基因组中所有调控序列,极大增加了人们对基因表达调控机制的理解。本文对 ATAC-seq 技术及其在复杂疾病中的应用进展进行了综述,为促进复杂疾病的基因表观遗传学发病机制、药物靶标搜寻、新药开发等领域的研究提供参考。

## 1 ATAC-seq 原理及优势

ATAC-seq 是 2013 年由 Buenrostro 等<sup>[1]</sup>研发的一

种全新的方法,主要原理是使用一种超高活性 Tn5 转座酶,将测序接头(adapters)插入基因组的开放区域,同时进行 DNA 片段化和标记,纯化标记后的 DNA 片段,再通过 PCR 扩增并测序。Tn5 是一种原核生物转座酶,通过“剪切和粘贴”机制发挥内源性作用,可以在剪切 DNA 的同时将一段特定的序列加到剪切掉的 DNA 两端<sup>[1,2]</sup>(图 1)。与传统的测序方法相比,ATAC-seq 有着明显的优势,主要包括以下 3 点: (1)样品需求量小。ATAC-seq 在微量建库时所需最少细胞量仅为 200<sup>[3]</sup>,最佳细胞量大约为 25,000~75,000<sup>[2]</sup>,而 DNase-seq、MNase-seq 和 FAIRE-seq 都需要数千万到数亿个细胞作为输入材料,从而才能平均出细胞的群体特征。在许多情况下,罕见和重要的细胞亚型不能获得足够的细胞数量进行全基因组染色质分析,而 ATAC-seq 技术的开发,使得对临床样本研究的难度大大降低; (2)实验操作简单,耗时较短。ATAC-seq 只需要简单的 3 个步骤,即细胞裂解、Tn5 转座酶转位和 PCR 扩增,就可以构建出实验所需要的文库,整个实验操作流

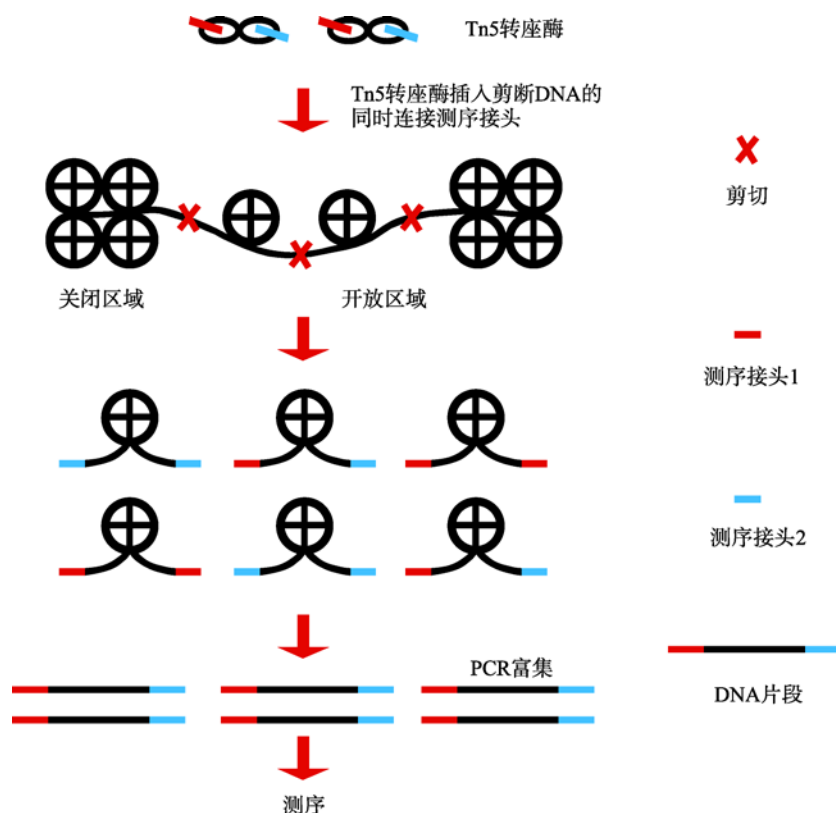


图 1 ATAC-seq 检测开放染色质位点的技术方法流程图

Fig. 1 Workflows of ATAC-seq for open-chromatin identification

程不到 3 h<sup>[1,2,4,5]</sup>; (3)检测灵敏度高,实验重复性好。ATAC-seq 用 50,000 个细胞获得的测序结果与 DNase-seq 具有很高的-致性,同时与 FAIRE-seq 相比具有更高信噪比,而后两种方法所需要的细胞量是 ATAC-seq 的 3~5 个数量级<sup>[1]</sup>。ATAC-seq 还有着非常好的可重复性( $R=0.98$ ),并与 DNase-seq 数据间也有着较好的一致性( $R>0.79$ )<sup>[1,6]</sup>。ATAC-seq 除了可以绘制全基因组染色质可及性图谱,预测转录因子结合位点,测定核小体的位置,还可被用于测定单个细胞中染色质的可及性,从而揭示细胞群体内的异质性<sup>[4,7]</sup>。目前 ATAC-seq 已经成为研究染色质开放性的首选技术方法。

## 2 ATAC-seq 在复杂疾病研究领域的应用进展

目前,ATAC-seq 技术在人类疾病方面的研究应用相对较少,仅涉及少数几种类型的疾病。下面通过对人类肿瘤、自身免疫性疾病、代谢性疾病、退行性疾病等复杂疾病染色质开放区域研究结果的分析,进一步阐述 ATAC-seq 在复杂疾病的发病机制、诊断、预后以及药物的作用机制等方面研究取得的进展及其应用价值。

### 2.1 ATAC-seq 在肿瘤研究中的应用

皮肤 T 细胞淋巴瘤(cutaneous T cell lymphoma, CTCL)是一种主要累及皮肤的异质性 T 细胞肿瘤,主要起源于亲皮肤性成熟 CD4<sup>+</sup> T 细胞<sup>[8]</sup>。组蛋白脱乙酰化酶抑制剂<sup>[9]</sup>(histone deacetylase inhibitors, HDACi)是第一个由美国食品和药物管理局(FDA)批准用于治疗 CTCL 的针对表观基因组的药物。Qu 等<sup>[10]</sup>利用 ATAC-seq 对 CTCL 中活性调控 DNA 的分布和动态以及 HDACi 治疗 CTCL 表观基因组的调控动力学进行研究后发现,正常 CD4<sup>+</sup> T 细胞中 ETS、RUNX、GATA 和 STAT 的转录因子结合序列的 DNA 通路高度表达,但在白血病细胞和宿主非白血病 CD4<sup>+</sup> T 细胞中均缺失。在 CTCL 中特异性激活的基序主要有 CTCF、Jun-AP1、NF- $\kappa$ B 和 BATF。*FOXP3* 是 Treg 细胞发育和功能调控通路的主调控因子,且 *FOXP3* 可能是药物反应中关键的调控因子。在

CTCL 中 *FAS*、*MYC*、*NFKB2*、*STAT5B* 和 *TP53* 等基因反复发生变异。CTCF 的存在和 Jun-AP1 的缺失都是 HDACi 临床反应的预测指标。在个体基因水平上, *FAS* 编码细胞表面死亡受体,其表达可以解释表观遗传学治疗 CTCL 的疗效,但仍不足以用来预测 HDACi 的临床反应<sup>[10,11]</sup>。实验已经证实 HDACi 确实可以增加人类 CTCL 中 *FAS* 启动子的染色质可及性,在 *FAS* 启动子染色质可及性增加的 CTCL 患者中,HDACi 发挥了临床效应<sup>[10]</sup>。在 CTCL 中,基因调控网络被 NF- $\kappa$ B 通路激活所改变,加上 3 组相互排斥的 DNA 结合因子 Jun-AP1、CTCF 和一组转录因子 MYC。针对这些因素或其上游调节因子的抑制剂已经被开发出来,如 JNK 抑制剂<sup>[12]</sup>,或用于使 MYC 失活的 BRD4 抑制剂<sup>[13]</sup>。Satpathy 等<sup>[14]</sup>在单细胞水平上将编码 T 细胞受体的基因测序与 ATAC-seq 分析相结合,获得关于单个 T 细胞的 T 细胞受体特异性和表观基因组信息,为 T 细胞恶性肿瘤的研究以及免疫治疗奠定了基础。利用 ATAC-seq 技术寻找 CTCL 发生、发展中关键的调控因子,药物临床反应中的关键调控因子,为建立有效的诊断生物标志物,研发新的治疗方案,预测或监测针对表观基因组的药物治疗疗效提供了重要的科学依据。

慢性淋巴细胞白血病(chronic lymphocytic leukaemia, CLL)具有显著的临床异质性。根据免疫球蛋白重链可变区(immunoglobulin heavy chain variable region, IGHV)突变状态可区分为带有 IGHV 基因突变的低侵袭性的 CLL (mCLL)和不带有 IGHV 基因突变的侵袭性的 CLL (uCLL)。Rendeiro 等<sup>[15]</sup>通过 ATAC-seq 对大量 CLL 原始样本进行测序分析,绘制了 CLL 染色质可及性的详细图谱。通过将染色质图谱与已知的基因调控网络结合分析后发现,转录因子 ZNF354C 和 ELF5、金属肽酶 ADAM29 以及膜蛋白 CD22 与 mCLL 高度关联。然而,富含半胱氨酸型运动神经元蛋白 1 (CRIM1)、转录因子 MECOM 和 PAX9、成纤维细胞生长因子受体 FGFR1 和膜蛋白 CD9 则与 uCLL 关联更为紧密,且 *ZAP70* 基因的高表达似乎与 uCLL 关联更大<sup>[16]</sup>。在这两种亚型中,联系程度较高的基因在相应亚型的样本中,其调控元件 H3K4me1 和 H3K27ac 的表达水平也较高。NOTCH 信号通路和干扰素信号通路,在更具侵袭性的亚型(uCLL)中更容易被观察到,而 CTLA4 抑制信

号通路则在 mCLL 中更容易被发现。Ott 等<sup>[17]</sup>利用染色质可及性数据和功能筛选后发现 BET 溴域抑制剂可能是通过破坏 CLL 核心调控回路而发挥强大的抗肿瘤活性。通过结合染色质可及性数据和全基因组数据可以在表观基因组水平明确 CLL 的临床亚型,提高诊断的准确性,发现新的药物靶结构,为实现精准治疗,探索新的治疗方案提供了重要的科学依据。

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是人类最常见和最具侵袭性的癌症之一。Dechassa 等<sup>[18]</sup>绘制了非酒精脂肪性肝细胞癌染色质可及性图谱,定位了 1677 个肿瘤特异性染色质可及性敏感位点。结合 ATAC-seq 和全基因组表达数据,识别出 199 个差异性表达基因,其中有 139 个上调基因和 60 个下调基因,在 139 个上调基因中有 15 个敏感位点位于转录起始位点附近不超过 5 kb 的范围内,包括 *Apoa4*、*Anxa2*、*Serpine1*、*Igfbp1* 和 *Tubb2a*, 这些基因与非酒精脂肪性肝细胞癌和 HCC 的发生密切相关。同时证明了这些基因上调的机制与转录因子,尤其是 NFATC2、组蛋白 H3K4me1 和 H3K27ac 基因转录激活与染色质可及性区域有关。从上述研究中可以发现染色质可及性干扰在非酒精脂肪性肝细胞癌相关 HCC 中重塑染色质结构的重要作用。食管癌是最常见的癌症之一,发病率逐渐增高,但生存率却很低。Britton 等<sup>[19]</sup>利用 ATAC-seq 技术绘制食管癌染色质可及性图谱,发现了 ETS 和 AP1 转录因子在食管癌细胞中驱动基因表达变化的重要作用。Wang 等<sup>[20]</sup>利用 ATAC-seq 技术揭示了非小细胞肺癌染色质开放区域的特点,发现患者间染色质开放程度与一些临床参数相关,而且肺腺癌和肺鳞癌间也显示出明显不同的染色质开放状态。癌细胞表现出其染色质环境的重编程,从而导致其转录谱的改变。利用染色质可及性图谱识别出嵌入在活性调控元件中的特定转录因子的足迹,对于疾病的早期诊断、临床分型、靶向药物治疗、改善预后具有重要价值。

## 2.2 ATAC-seq 在狼疮研究中的应用

系统性红斑狼疮(systemic lupus erythematosus, SLE)是一种慢性全身性自身免疫性疾病,以 B 细胞过度活跃和自身抗体的形成为特征<sup>[21]</sup>。SLE 具有遗

传倾向性,表观遗传因素对疾病的病因学有着重要的影响,许多易感基因,包括致病基因,都发生在 B 细胞信号通路中,并常常映射到非编码区域<sup>[22,23]</sup>。Scharer 等<sup>[24]</sup>将 ATAC-seq 应用于检测 SLE 患者原始 B 细胞的染色质可及性,发现了 SLE 患者和健康对照之间不同的染色质可及性区域。SLE 患者 B 细胞染色质可及性的增加与白细胞分化、细胞活化和 B 细胞活化相关,而健康人群 B 细胞染色质可及性位点主要与参与转录调控的基因相关。健康人群 B 细胞中染色质可及性增加的位点包含 *NRF1*、*CTCF* 和 *STAT5*,而 SLE 特异性可及性位点则表现为参与 B 细胞活化的转录因子如 NFkB、AP-1、BATF,以及 B 细胞分化因子 IRF4、PRDM1。STAT4 启动子在 SLE B 细胞中的可及性增加更加显著。STAT4 启动子可及性的改变可能是由于 IFN- $\alpha$  信号通路在 SLE 患者中高表达或提示 SLE B 细胞对 STAT4 通路的激活具有表观遗传易感性<sup>[25]</sup>。Gensterblum 等<sup>[26]</sup>发现 CD4<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup>KIR<sup>+</sup>CD11a<sup>hi</sup>T 细胞集在狼疮中具有促进炎症发生的表观遗传及转录调控的特征,消除这些细胞或阻断其促炎特性可能为狼疮的治疗提供一种新方法。染色质开放区域的研究为 SLE 表观遗传程序编码的改变提供了科学依据,并确定了可能影响疾病发生及进展的基因位点和转录因子,进而为疾病的治疗提供了新的思路。

## 2.3 ATAC-seq 在 2 型糖尿病研究中的应用

2 型糖尿病(type 2 diabetes, T2D)的发病主要与遗传、表观遗传以及环境因素有关<sup>[27]</sup>。全基因组关联研究(genome-wide association studies, GWAS)已经确定了 100 余个调节 T2D 风险和相关特征的独立单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)位点<sup>[28]</sup>。然而,大多数 SNP 的致病机制仍不清楚。近期 Bysani 等<sup>[29]</sup>绘制出第一张人类胰岛细胞染色质可及性图谱,对糖尿病及非糖尿病胰岛细胞的染色质开放区域分析后发现,许多与 T2D 相关的 SNP 位于转录起始位点附近以及增强子区域和胰岛转录因子特异性结合区域。PDX-1 是一种调节  $\beta$  细胞发育和成熟  $\beta$  细胞中胰岛素表达的转录因子,FRA1 参与 MAPK 信号通路和氧化应激通路,这两种转录因子在 T2D 中表达明显增加。这些转录因子对于胰岛的



发育和功能以及胰岛素的正常表达均有重要作用。Varshney 等<sup>[28]</sup>整合了基因组、表观基因组和转录组变异,提出了 RFX 依赖转录反应受损与 T2D 的遗传易感性有关的观点。T2D 的发病主要与胰岛  $\beta$  细胞相关,而胰岛  $\beta$  细胞占内分泌细胞的 28%~54%,Ackermann 等<sup>[30]</sup>基于染色质可及性和转录调控水平,绘制了人类胰岛  $\alpha$  细胞和胰岛  $\beta$  细胞的遗传图谱,为检测以前未被发现在胰岛中表达的胰岛  $\alpha$  细胞和胰岛  $\beta$  细胞特征基因提供了可能。Greenwald 等<sup>[31]</sup>利用 ATAC-seq 技术证实了 *IGF2BP2* 同源基因 *Imp2* 在小鼠胰岛中活性降低导致葡萄糖刺激的胰岛素分泌缺陷。这些研究结果将 T2D 风险与表观基因组调控联系起来,可以看出高分辨率染色质可及性图谱在揭示复杂疾病潜在遗传风险的基因调控网络中的重要作用。结合人类胰岛细胞的基因组、表观基因组和转录组谱,了解染色质结构改变和基因表达之间的联系,高效精准定位染色质开放区,为精准治疗奠定了理论基础。

## 2.4 ATAC-seq 在骨关节炎研究中的应用

骨关节炎(osteoarthritis, OA)是一种以关节软骨退行性变为特征的慢性疾病<sup>[32]</sup>。Liu 等<sup>[33]</sup>绘制了 OA 染色质可及性图谱,在关节软骨中定位了 109,215 个可接近的染色质区域,其中 71%被标注为增强子,确定了潜在的与 OA 相关的增强子及其可能的靶基因。在 ATAC-seq 和 RNA-seq 的数据整合分析中,发现骨形态发生蛋白受体 1B 型(BMPRI1B)以及参与促进成骨细胞分化的成骨细胞标记基因 *MSX2* 上调,这表明在 OA 中成骨细胞分化可能被激活。Baird 等<sup>[34]</sup>利用 ATAC-seq 确定了 8 个与臀部形状相关的独立的 SNP,这些发现增加了对髋关节形状的遗传研究,有助于理解与髋关节骨关节炎和髋关节骨折相关的潜在致病途径。传统的方法由于需要大量的细胞,应用于临床组织的研究是不可行的,特别是软骨组织,有限的组织样本大小和细胞外基质使得收集足够的细胞变得困难。ATAC-seq 使得直接对临床样本进行开放染色质的分析成为可能。将临床相关的表观基因组数据与遗传和转录组数据相结合,为一些可能在 OA 发病机制中起关键作用的候选基因和通路提供了多行证据,可以用于临床诊断或作

为治疗靶点。

## 3 结语与展望

目前,ATAC-seq 还被应用于绘制人类原发性肿瘤<sup>[35]</sup>、急性髓系白血病<sup>[36]</sup>、黄斑病<sup>[37]</sup>等疾病的染色质可及性图谱。这些研究探索了基因调控的相互作用,揭示了驱动疾病发生和发展的调控突变,推动了复杂疾病在表观遗传水平的研究。ATAC-seq 可以获得细胞在某特定时空下全基因组水平上染色质开放区域的信息,用于检测所有在该条件下发生转录的基因及其顺式作用元件<sup>[38]</sup>,RNA-seq 可以获得细胞在该特定时空下所有转录信息<sup>[39]</sup>,两者数据整合,可以推断相关基因上游顺式调控序列,宏观分析细胞在该特定时空下整个基因组的调控网络<sup>[40]</sup>。ATAC-seq 技术的开发与应用,对于揭示个体间遗传水平上的主要差异和相似性以及复杂疾病的病因、临床分型、个体化医疗、预后、预测或监测药物疗效具有重要的意义。希望本文的叙述可以为人类复杂疾病中相关研究的开展起到一定的推动作用。

## 参考文献(References):

- [1] Buenrostro JD, Giresi PG, Zaba LC, Chang HY, Greenleaf WJ. Transposition of native chromatin for fast and sensitive epigenomic profiling of open chromatin, DNA-binding proteins and nucleosome position. *Nat Methods*, 2013, 10(12): 1213–1218. [DOI]
- [2] Buenrostro JD, Wu B, Chang HY, Greenleaf WJ. ATAC-seq: A method for assaying chromatin accessibility genome-wide. *Curr Protoc Mol Biol*, 2015, 109: 21.29.1–21.29.9. [DOI]
- [3] Dirks RA, Stunnenberg HG, Marks H. Genome-wide epigenomic profiling for biomarker discovery. *Clin Epigenetics*, 2016, 8: 122. [DOI]
- [4] Doganli C, Sandoval M, Thomas S, Hart D. Assay for Transposase-accessible chromatin with high-throughput sequencing (ATAC-Seq) protocol for zebrafish embryos. *Methods Mol Biol*, 2017, 1507: 59–66. [DOI]
- [5] Song LY, Crawford GE. DNase-seq: a high-resolution technique for mapping active gene regulatory elements across the genome from mammalian cells. *Cold Spring Harb Protoc*, 2010, 2010(2): pdb prot5384. [DOI]

- [6] Han JL, Li ZJ, Wang K. Progress on genome-wide identification and analysis of transcriptional regulatory elements based on open-chromatin signatures. *J Fujian Agric Fore Uni (Nat Sci Edi)*, 2017, 46(1): 1–8.  
韩金磊, 李占杰, 王凯. 基于开放染色质的全基因组水平转录调控元素的研究方法与进展. 福建农林大学学报: 自然科学版, 2017, 46(1): 1–8. [DOI]
- [7] Grbesa I, Tannenbaum M, Sarusi-Portuguez A, Schwartz M, Hakim O. Mapping genome-wide accessible chromatin in primary Human T Lymphocytes by ATAC-Seq. *J Vis Exp*, 2017, (129): doi: 10.3791/56313. [DOI]
- [8] Willemze R, Cerroni L, Kempf W, Berti E, Facchetti F, Swerdlow SH, Jaffe ES. The 2018 update of the WHO-EORTC classification for primary cutaneous lymphomas. *Blood*, 2019, 133(16): 1703–1714. [DOI]
- [9] New M, Olzscha H, La Thangue NB. HDAC inhibitor-based therapies: Can we interpret the code? *Mol Oncol*, 2012, 6(6): 637–656. [DOI]
- [10] Qu K, Zaba LC, Satpathy AT, Giresi PG, Li R, Jin YH, Armstrong R, Jin C, Schmitt N, Rahbar Z, Ueno H, Greenleaf WJ, Kim YH, Chang HY. Chromatin accessibility landscape of cutaneous T cell lymphoma and dynamic response to HDAC inhibitors. *Cancer Cell*, 2017, 32(1): 27–41.e4. [DOI]
- [11] Wu J, Wood GS. Reduction of Fas/CD95 promoter methylation, upregulation of Fas protein, and enhancement of sensitivity to apoptosis in cutaneous T-cell lymphoma. *Arch. Dermatol*, 2011, 147(4): 443–449. [DOI]
- [12] Zhang TH, Inesta-Vaquera F, Niepel M, Zhang JM, Ficarro SB, Machleidt T, Xie T, Marto JA, Kim N, Sim T, Laughlin JD, Park H, LoGrasso PV, Patricelli M, Nomanbhoy TK, Sorger PK, Alessi DR, Gray NS. Discovery of potent and selective covalent inhibitors of JNK. *Chem Biol*, 2012, 19(1): 140–154. [DOI]
- [13] Filippakopoulos P, Qi J, Picaud S, Shen Y, Smith WB, Fedorov O, Morse EM, Keates T, Hickman TT, Felletar I, Philpott M, Munro S, McKeown MR, Wang Y, Christie AL, West N, Cameron MJ, Schwartz B, Heightman TD, La Thangue N, French CA, Wiest O, Kung AL, Knapp S, Bradner JE. Selective inhibition of BET bromodomains. *Nature*, 2010, 468(7327): 1067–1073. [DOI]
- [14] Satpathy AT, Saligrama N, Buenrostro JD, Wei Y, Wu B, Rubin AJ, Granja JM, Lareau CA, Li R, Qi Y, Parker KR, Mumbach MR, Serratelli WS, Gennert DG, Schep AN, Corces MR, Khodadoust MS, Kim YH, Khavari PA, Greenleaf WJ, Davis MM, Chang HY. Transcript-indexed ATAC-seq for precision immune profiling. *Nat Med*, 2018, 24(5): 580–590. [DOI]
- [15] Rendeiro AF, Schmidl C, Strefford JC, Walewska R, Davis Z, Farlik M, Oscier D, Bock C. Chromatin accessibility maps of chronic lymphocytic leukaemia identify subtype-specific epigenome signatures and transcription regulatory networks. *Nat Commun*, 2016, 7: 11938. [DOI]
- [16] Crespo M, Bosch F, Villamor N, Bellosillo B, Colomer D, Rozman M, Marcé S, López-Guillermo A, Campo E, Montserrat E. ZAP-70 Expression as a surrogate for immunoglobulin-variable-region mutations in chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med*, 2003, 348(18): 1764–1775. [DOI]
- [17] Ott CJ, Federation AJ, Schwartz LS, Kasar S, Klitgaard JL, Lenci R, Li Q, Lawlor M, Fernandes SM, Souza A, Polaski D, Gadi D, Freedman ML, Brown JR, Bradner JE. Enhancer architecture and essential core regulatory circuitry of chronic lymphocytic leukemia. *Cancer Cell*, 2018, 34(6): 982–995. [DOI]
- [18] Dechassa ML, Tryndyak V, de Conti A, Xiao W, Beland FA, Pogribny IP. Identification of chromatin-accessible domains in non-alcoholic steatohepatitis-derived hepatocellular carcinoma. *Mol Carcinog*, 2018, 57(8): 978–987. [DOI]
- [19] Britton E, Rogerson C, Mehta S, Li Y, Li X, Fitzgerald RC, Ang YS, Sharrocks AD. Open chromatin profiling identifies AP1 as a transcriptional regulator in oesophageal adenocarcinoma. *PLoS Genetics*, 2017, 13(8): e1006879. [DOI]
- [20] Wang ZF, Tu KL, Xia L, Luo K, Luo WX, Tang J, Lu KY, Hu XL, He YJ, Qiao WL, Zhou YZ, Zhang J, Cao F, Dai SP, Tian PW, Wang Y, Liu LX, Che GW, Zhou QH, Xie D, Li WM. The open chromatin landscape of non-small cell lung carcinoma. *Cancer Res*, 2019, 79(19): 4840–4854. [DOI]
- [21] Zhu L, Yin ZJ, Ju BM, Zhang J, Wang YH, Lv XH, Hao ZM, He L. Altered frequencies of memory B cells in new-onset systemic lupus erythematosus patients. *Clin Rheumatol*, 2018, 37(1): 205–212. [DOI]
- [22] Vaughn SE, Kottyan LC, Munroe ME, Harley JB. Genetic susceptibility to lupus: the biological basis of genetic risk found in B cell signaling pathways. *J Leukoc Biol*, 2012, 92(3): 577–591. [DOI]
- [23] Farh KK, Marson A, Zhu J, Kleinewietfeld M, Housley WJ, Beik S, Shores N, Whitton H, Ryan RJ, Shishkin AA, Hatan M, Carrasco-Alfonso MJ, Mayer D, Luckey CJ, Patsopoulos NA, De Jager PL, Kuchroo VK, Epstein CB, Daly MJ, Hafler DA, Bernstein BE. Genetic and epigenetic fine mapping of causal autoimmune disease variants. *Nature*, 2015, 518(7539): 337–343. [DOI]
- [24] Scharer CD, Blalock EL, Barwick BG, Haines RR, Wei C,

- Sanz I, Boss JM. ATAC-seq on biobanked specimens defines a unique chromatin accessibility structure in naïve SLE B cells. *Sci Rep*, 2016, 6(1): 27030. [DOI]
- [25] Kariuki SN, Kirou KA, MacDermott EJ, Barillas-Arias L, Crow MK, Niewold TB. Cutting edge: autoimmune disease risk variant of STAT4 confers increased sensitivity to IFN- $\alpha$  in lupus patients *in vivo*. *J Immunol*, 2009, 182(1): 34–38. [DOI]
- [26] Gensterblum E, Renauer P, Coit P, Strickland FM, Kilian NC, Miller S, Ognenovski M, Wren JD, Tsou PS, Lewis EE, Maksimowicz-McKinnon K, McCune WJ, Richardson BC, Sawalha AH. CD4+CD28+KIR+CD11a<sup>hi</sup> T cells correlate with disease activity and are characterized by a pro-inflammatory epigenetic and transcriptional profile in lupus patients. *J Autoimmun*, 2018, 86: 19–28. [DOI]
- [27] Bacos K, Gillberg L, Volkov P, Olsson AH, Hansen T, Pedersen O, Gjesing AP, Eiberg H, Tuomi T, Almgren P, Groop L, Eliasson L, Vaag A, Dayeh T, Ling C. Blood-based biomarkers of age-associated epigenetic changes in human islets associate with insulin secretion and diabetes. *Nat Commun*, 2016, 7: 11089. [DOI]
- [28] Varshney A, Scott LJ, Welch RP, Erdos MR, Chines PS, Narisu N, Albanus RD, Orchard P, Wolford BN, Kursawe R, Vadlamudi S, Cannon ME, Didion JP, Hensley J, Kirilusha A, NISC Comparative Sequencing Program, Bonnycastle LL, Taylor DL, Watanabe R, Mohlke KL, Boehnke M, Collins FS, Parker SC, Stitzel ML. Genetic regulatory signatures underlying islet gene expression and type 2 diabetes. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2017, 114(9): 2301–2306. [DOI]
- [29] Bysani M, Agren R, Davegårdh C, Volkov P, Rönn T, Unneberg P, Bacos K, Ling C. ATAC-seq reveals alterations in open chromatin in pancreatic islets from subjects with type 2 diabetes. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 7785. [DOI]
- [30] Ackermann AM, Wang Z, Schug J, Naji A, Kaestner KH. Integration of ATAC-seq and RNA-seq identifies human alpha cell and beta cell signature genes. *Mol Metab*, 2016, 5(3): 233–244. [DOI]
- [31] Greenwald WW, Chiou J, Yan J, Qiu Y, Dai N, Wang A, Nariai N, Aylward A, Han JY, Kadakia N, Regue L, Okino ML, Drees F, Kramer D, Vinckier N, Minichiello L, Gorkin D, Avruch J, Frazer KA, Sander M, Ren B, Gaulton KJ. Pancreatic islet chromatin accessibility and conformation reveals distal enhancer networks of type 2 diabetes risk. *Nat Commun*, 2019, 10(1): 2078. [DOI]
- [32] Findlay DM, Kuliwaba JS. Bone–cartilage crosstalk: a conversation for understanding osteoarthritis. *Bone Res*, 2016, 4: 16028. [DOI]
- [33] Liu Y, Chang JC, Hon CC, Fukui N, Tanaka N, Zhang Z, Lee MTM, Minoda A. Chromatin accessibility landscape of articular knee cartilage reveals aberrant enhancer regulation in osteoarthritis. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 15499. [DOI]
- [34] Baird DA, Evans DS, Kamanu FK, Gregory JS, Saunders FR, Giuraniuc CV, Barr RJ, Aspden RM, Jenkins D, Kiel DP, Orwoll ES, Cummings SR, Lane NE, Mullin BH, Williams FM, Richards JB, Wilson SG, Spector TD, Faber BG, Lawlor DA, Grundberg E, Ohlsson C, Pettersson-Kymmer U, Capellini TD, Richard D, Beck TJ, Evans DM, Paternoster L, Karasik D, Tobias JH. Identification of novel loci associated with hip shape: a meta-analysis of genome-wide association studies. *J Bone Miner Res*, 2019, 34(2): 241–251. [DOI]
- [35] Corces MR, Granja JM, Shams S, Louie BH, Seoane JA, Zhou W, Silva TC, Groeneveld C, Wong CK, Cho SW, Satpathy AT, Mumbach MR, Hoadley KA, Robertson AG, Sheffield NC, Felau I, Castro MAA, Berman BP, Staudt LM, Zenklusen JC, Laird PW, Curtis C, Greenleaf WJ, Chang HY. The chromatin accessibility landscape of primary human cancers. *Science*, 2018, 362(6413). [DOI]
- [36] Tak YG, Farnham PJ. Making sense of GWAS: using epigenomics and genome engineering to understand the functional relevance of SNPs in non-coding regions of the human genome. *Epigenetics Chromatin*, 2015, 8(1): 57. [DOI]
- [37] Wang J, Zibetti C, Shang P, Sripathi SR, Zhang PW, Cano M, Hoang T, Xia SL, Ji HK, Merbs SL, Zack DJ, Handa JT, Sinha D, Blackshaw S, Qian J. ATAC-Seq analysis reveals a widespread decrease of chromatin accessibility in age-related macular degeneration. *Nat Commun*, 2018, 9(1): 1364. [DOI]
- [38] Sun YY, Miao N, Sun T. Detect accessible chromatin using ATAC-sequencing, from principle to applications. *Hereditas*, 2019, 156: 29. [DOI]
- [39] Shen S, Qu YC, Zhang J. The application of next generation sequencing on epigenetic study. *Hereditas (Beijing)*, 2014, 36(3): 256–275.
- 沈圣, 屈彦纯, 张军. 下一代测序技术在表观遗传学研究中的重要应用及进展. *遗传*, 2014, 36(3): 256–275. [DOI]
- [40] Hendrickson DG, Soifer I, Wranik BJ, Botstein D, Scott McIsaac R. Simultaneous profiling of DNA accessibility and gene expression dynamics with ATAC-Seq and RNA-Seq. *Methods Mol Biol*, 2018, 1819: 317–333. [DOI]