中国细胞生物学学报 Chinese Journal of Cell Biology 2026, 48(7): 1764–1775
DOI: 10.11844/cjcb.2026.07.0002
CSTR: 32200.14.cjcb.2026.07.0002

· 实验室介绍 ·



代海强, 中国科学院分子细胞科学卓越创新中心研究员, 课题组长。实验室主要围绕发育与基因调控开展研究, 重点关注淋巴细胞发育分化和早期胚胎发育过程中基因表达程序的建立、维持与异常调控机制。研究内容包括: 以小鼠遗传动物模型为研究体系, 以原代免疫细胞、胚胎干细胞、人源细胞系等为实验材料, 采用遗传学、细胞生物学、分子生物学等多学科相关理论, 结合表观基因组学、三维基因组学、高通量测序等技术手段, 以黏连蛋白介导的染色质环挤压及其调控机制为主要切入点, 系统研究染色质远距离相互作用、增强子–启动子互作、抗原受体基因重组、姐妹染色单体黏连建立以及发育相关基因表达调控等过程的分子机制, 以期阐明基因组空间结构动态变化在细胞命运决定、免疫系统发育和疾病发生中的作用。

染色质环挤压调控抗原受体多样化的机制研究进展

焦芳太　罗睿　丁姁姁　杨定鹏　代海强*

(中国科学院分子细胞科学卓越创新中心/生物化学与细胞生物学研究所,
表观遗传调控与干预全国重点实验室, 中国科学院大学, 上海 200031)

摘要　抗原受体多样化是适应性免疫系统的核心特征, 主要通过V(D)J重排在B细胞和T细胞发育过程中产生。近年来, 染色质环挤压(chromatin loop extrusion)被认为是调控抗原受体基因座三维结构及重排效率的关键机制。该文总结了黏连蛋白(cohesin)介导的环挤压在调控B细胞和T细胞抗原受体V(D)J重排中的研究进展, 讨论了其在骨髓和胸腺淋巴细胞发育中的作用, 并重点分析了小鼠免疫球蛋白重链(immunoglobulin heavy chain, *Igh*)基因座重排的时序与空间调控机制。此外, 该文还探讨了转录因子与表观遗传修饰对环挤压的调控机制, 并总结了环挤压异常与免疫缺陷及淋巴瘤发生的潜在关系, 最后对该领域的未来研究方向进行了展望。深入理解染色质环挤压调控抗原受体多样化的分子机制, 有助于揭示三维基因组结构与免疫功能之间的内在联系, 并为免疫缺陷及淋巴系统肿瘤的机制研究和干预提供理论依据。

关键词　染色质环挤压; V(D)J重排; 抗原受体多样化; 黏连蛋白; B细胞发育; T细胞发育

Advances in the Mechanistic Understanding of Chromatin Loop Extrusion in Antigen Receptor Diversification

收稿日期: 2026-04-21　　接受日期: 2026-06-18
国家重点研发计划(批准号: 2023YFA1800201)、上海市“科技创新行动计划”启明星项目(批准号: 23YF1452700)和上海市基础研究计划“自然科学基金”青年项目(批准号: 25ZR1402524)资助的课题
*通信作者。Tel: 021-54921137, E-mail: haiqiang.dai@sibcb.ac.cn
Received: April 21, 2026　　Accepted: June 18, 2026
This work was supported by the National Key Research and Development Program of China (Grant No.2023YFA1800201), the Shanghai Rising-Star Program (Grant No.23YF1452700), and the Natural Science Foundation of Shanghai (Grant No.25ZR1402524)
*Corresponding author. Tel: +86-21-54921137, E-mail: haiqiang.dai@sibcb.ac.cn

JIAO Fangtai, LUO Rui, DING Xuxu, YANG Dingpeng, DAI Hai-Qiang*

(*State Key Laboratory of Epigenetic Regulation and Intervention, Shanghai Institute of Biochemistry and Cell Biology, Center for Excellence in Molecular Cell Science, University of Chinese Academy of Sciences, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200031, China*)

Abstract Antigen receptor diversification is a central feature of the adaptive immune system and is primarily generated through V(D)J recombination during B- and T-cell development. In recent years, chromatin loop extrusion has emerged as a key mechanism regulating the three-dimensional organization of antigen receptor loci and the efficiency of recombination. This review summarizes recent advances in understanding how cohesin-mediated loop extrusion regulates V(D)J recombination in B and T cells. They discuss its roles during lymphocyte development in the bone marrow and thymus, with a particular focus on the temporal and spatial regulation of V(D)J recombination at the mouse *Igh* (immunoglobulin heavy chain) locus. In addition, they review how transcription factors and epigenetic modifications modulate loop extrusion dynamics, and they examine the potential links between dysregulated loop extrusion, immunodeficiency, and lymphoid malignancies. Finally, they highlight key unresolved questions and future directions in this rapidly evolving field. A deeper understanding of the molecular mechanisms by which chromatin loop extrusion governs antigen receptor diversification will provide insights into the relationship between three-dimensional genome organization and immune function, and may inform new strategies for the treatment of immunodeficiency and lymphoid malignancies.

Keywords chromatin loop extrusion; V(D)J recombination; antigen receptor diversification; cohesin; B-cell development; T-cell development

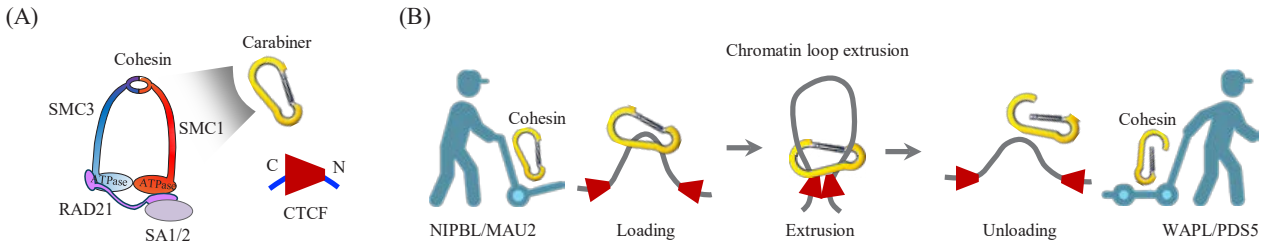
适应性免疫系统通过B细胞和T细胞产生多样化的抗原受体, 以实现对复杂病原体的特异性识别。这一过程依赖V(D)J重排, 将分散于大尺度基因组区域中的V(variable)、D(diversity)和J(joining)基因片段在严格的发育时序控制下进行有效配对与重排[1-3]。抗原受体基因座通常跨度可达数百万碱基对(megabase, Mb), 并包含大量V基因片段。例如小鼠免疫球蛋白重链(immunoglobulin heavy chain, *Igh*)基因座约2.8 Mb, 免疫球蛋白κ轻链(immunoglobulin kappa chain, *Igκ*)基因座约3.2 Mb, T细胞受体β(T cell receptor β, TCRβ)的编码基因座*Tcrb*约667 Kb。因此, 如何在如此大的基因组距离范围内实现远距离重排信号序列(recombination signal sequences, RSSs)的有效配对, 并确保重排的时序性和多样性, 是该领域长期关注的核心问题。

近年来, 三维基因组研究的发展为理解这一问题提供了重要的理论框架。特别是染色质环挤压模型, 为抗原受体基因座的空间组织及其动态重塑提供了分子机制解释[4]。在此基础上, 染色质空间结构调控研究逐渐成为理解淋巴细胞发育及抗原受体多样化形成的重要视角。本文将围绕染色质环挤压在抗原受体基因座调控中的作用, 系统梳理其在B细胞和T细胞发育中的研究进展, 并探讨相关分子机制及其在免疫相关疾病中的潜在意义。

1 染色质环挤压模型的分子基础

黏连蛋白复合物(cohesin complex)由SMC1(structural maintenance of chromosomes 1)、SMC3(structural maintenance of chromosomes 3)、RAD21(RAD21 cohesin complex component)和STAG1或STAG2(stromal antigen 1/2, 亦称SA1/2)组成(图1A)。其中, SMC1和SMC3通过铰链区形成异源二聚体, 在另一端, 二者的ATP酶头部结构域由RAD21连接, 从而形成环状复合物[5]。cohesin介导的染色质环挤压是当前解释真核生物基因组三维结构组织的重要机制模型[6-7]。该模型认为, cohesin在染色质上加载后, 可将两侧染色质逐步“挤压”形成动态环结构, 从而促进远距离DNA序列顺式相互作用的形成(图1B)。

在这一过程中, 装载(loading)复合物NIPBL(Nipped-B-like protein)/MAU2(MAU2 sister chromatid cohesion factor)不仅负责将cohesin加载到染色



A: 黏连蛋白复合物结构示意图。黏连蛋白形成环状结构, 形似“登山扣”; CTCF蛋白以方向依赖性方式结合DNA, 其N-端可以阻滞黏连蛋白沿染色质的转位, 从而形成环挤压边界。B: 装载复合物NIPBL/MAU2和卸载复合物WAPL/PDS5介导的黏连蛋白在染色质上的动态调控过程。

A: structure of the cohesin complex. Cohesin forms a ring-shaped structure resembling a carabiner. CTCF binds DNA in an orientation-dependent manner, and its N-terminal domain can impede cohesin translocation along chromatin, thereby establishing loop extrusion boundaries. B: schematic illustration of the dynamic behavior of cohesin on chromatin mediated by the loading (NIPBL/MAU2) and unloading (WAPL/PDS5) complexes.

图1 黏连蛋白复合物的结构及其动态调控

Fig.1 Structure and dynamic regulation of the cohesin complex

质上, 还通过激活cohesin的ATPase活性驱动环挤压的发生与持续推进[8-10]; 相对地, 卸载(unloading)因子WAPL(Wings apart-like protein)/PDS5(precocious dissociation of sisters 5)促进cohesin从染色质上卸载, 从而限制其停留时间并调控环挤压的有效范围[11]。染色质架构蛋白CTCF则作为关键边界因子, 通过结合于拓扑关联结构域(topologically associating domain, TAD)边界的CTCF结合元件(CTCF binding element, CBE), 以方向依赖方式阻滞cohesin转位, 从而界定染色质环的范围[12-15]。实验研究表明, 降解cohesin核心亚基RAD21可导致染色质环和TAD结构消失[16], 而WAPL缺失则显著促进环挤压并扩大染色质环[11,17]。这些结果说明, cohesin的加载、转位及释放过程构成了染色质环挤压的基本动力学框架, 并决定了基因组三维结构的尺度与稳定性。

2 骨髓B细胞发育中的染色质环挤压调控

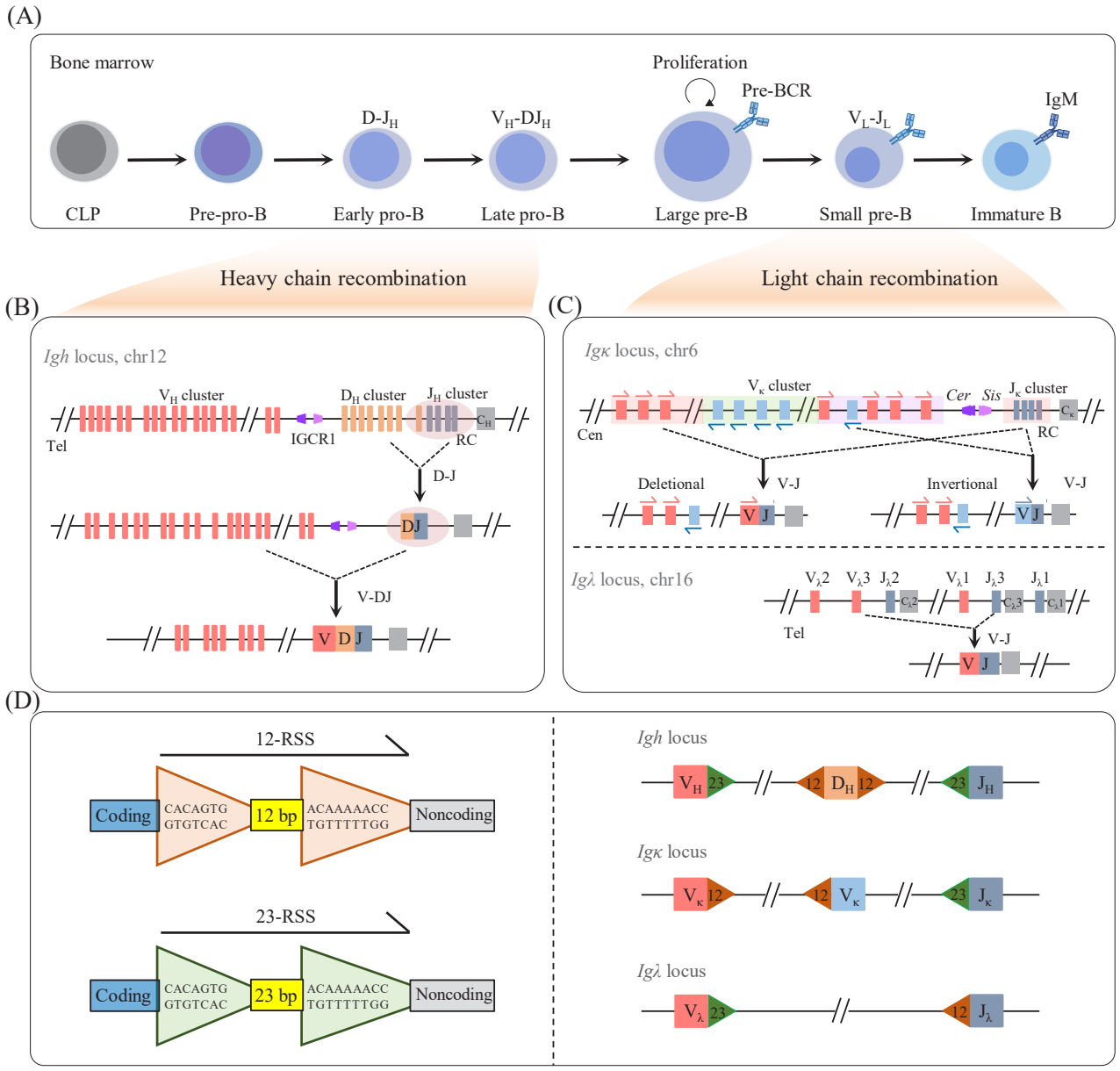
2.1 B细胞早期发育与V(D)J重排

B淋巴细胞来源于骨髓中的共同淋巴祖细胞(common lymphoid progenitor cell, CLP), 是适应性免疫的重要组成部分, 其发育伴随着抗原受体基因的阶段性重排, 并遵循严格的发育时序[18](图2A~图2C)。B细胞受体(B cell receptor, BCR)本质上为膜结合形式的免疫球蛋白, 其分泌形式即为抗体。BCR由配对的免疫球蛋白重链和轻链组成, 二者均具有可变区和恒定区, 其中可变区通过RAG1(recombination activating gene 1)-RAG2内切酶复合物介导的V(D)J重排产生[19-20]。重链和轻链分别在祖B(pro-B)和前B(pre-B)细胞阶段完成重排(图2A~图2C)。

以小鼠抗体重链基因*Igh*为例, 整个*Igh*位点跨越Mb, 由109个功能性V_HS、9~14个Ds、4个J_HS基因元件以及众多调控序列组成, 其中J_HS、内部增强子元件iEμ(intronic enhancer μ)和近端1个D元件共同组成了V(D)J重排中心(recombination centre, RC)[1-2,21](图2B)。RC通过招募RAG并调控局部染色质构象, 为重排反应提供结构和功能基础。RSS是RAG酶识别的核心元件, 规范型(bona fide) RSS由保守的七聚体(heptamer)、12/23 bp间隔(spacer)和保守的九聚体(nonamer)组成[4](图2D)。其中七聚体中的“CAC”序列, 即隐蔽型(cryptic) RSS, 可以介导基因组内低水平的RAG脱靶切割[19,22]。RSS分布于V_H基因片段的3′端、D片段的两侧和J_H片段的5′端, RAG酶的催化切割发生在一对匹配的RSS之间, 并遵循“12/23规则”[4,20](图2D)。在pro-B细胞发育过程中, RAG通过识别与切割V_H、D和J_H片段两侧的12/23-RSS来启动*Igh*基因座V(D)J重排反应, 依次进行D-to-J_H和V_H-to-DJ_H的连接, 最终形成一段完整的*Igh*可变区编码基因V_H-DJ_H(图2B)。V(D)J重排反应是构成抗体多样化的重要分子基础之一。

2.2 RAG线性扫描与染色质环挤压

在V(D)J重排过程中, RAG酶如何靶向识别和切割100多个功能性V_H基因元件从而生成多样化的抗体库, 一直是该领域关注的核心问题。早期研究认为, V(D)J重排可能依赖随机扩散机制[1-2](图3A), 使不同V基因片段靠近RC发生空间碰撞并完成配对。然而, 该模型难以解释重排过程中的方向性、时序性及其对远端V_H片段的有效利用。随后, 基于3D基因组学分析、单分子成像和基因扰动等研究方法, 研究人员提出V(D)J重排反应很有可能是

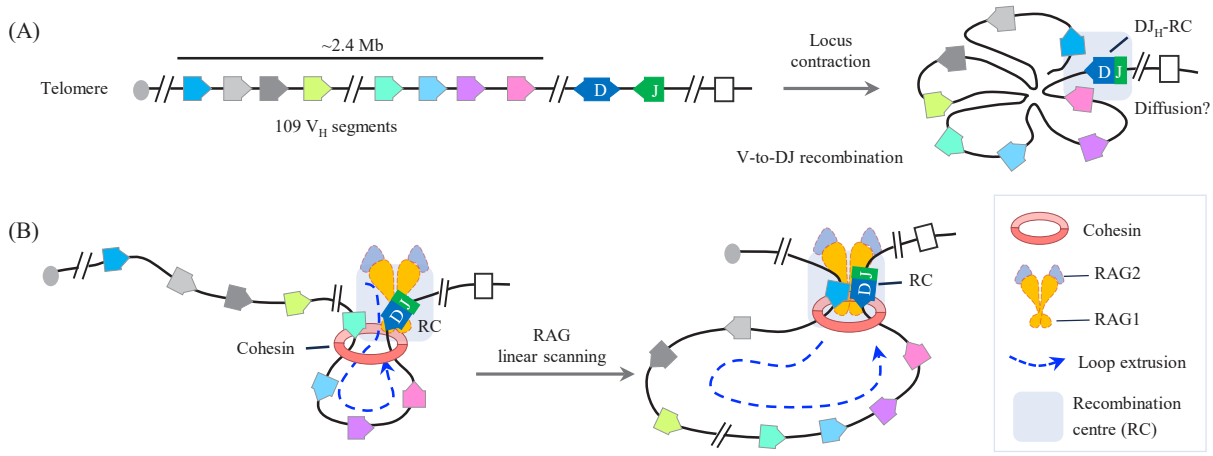


A: 骨髓B细胞发育示意图。 骨髓中B细胞依次经历共同淋巴祖细胞(CLP)、前祖B、早期祖B、晚期祖B、大前B、小前B和未成熟B细胞阶段。在此过程中, 依次发生重链与轻链重排, 最终形成表面表达IgM的未成熟B细胞。B: 抗体重链基因重排。*Igh*基因座首先发生D-J$_H$重排, 随后发生V$_H$-DJ$_H$重排, 形成完整的重链可变区。C: 抗体轻链基因重排。在轻链位点, *Igκ*和*Igλ*基因座通过V-J重排组装轻链可变区, 其中*Igκ*可发生删除型或翻转型重排。D: 重排信号序列(RSS)。RAG酶按照“12/23法则”识别RSS, 介导V、D和J片段的正确连接, 从而驱动多样化BCR库的形成。基因间调控区1(IGCR1)、*Cer*和*Sis*均包含方向相反的CTCF结合元件(CBEs), 分别在*Igh*和*Igκ*基因座中限制RAG线性扫描范围并维持重排时序。

A: in the bone marrow, B cells sequentially progress through the CLP (common lymphoid progenitor), pre-pro-B, early pro-B, late pro-B, large pre-B, small pre-B, and immature B cell stages. During this process, heavy-chain recombination occurs first, followed by light-chain recombination, ultimately giving rise to immature B cells expressing surface IgM. B: immunoglobulin heavy-chain recombination. The *Igh* locus first undergoes D-J$_H$ recombination, followed by V$_H$-DJ$_H$ recombination, generating a complete heavy-chain variable region. C: immunoglobulin light-chain recombination. At the light-chain loci, the *Igκ* and *Igλ* loci undergo V-J recombination to assemble the light-chain variable region, and *Igκ* can undergo either deletional or inversional rearrangement. D: RSS (recombination signal sequence). The RAG recombinase recognizes RSSs according to the “12/23 rule” and mediates the proper joining of V, D, and J segments, thereby driving the formation of a diverse BCR repertoire. IGCR1 (intergenic control region 1), *Cer*, and *Sis* each contains oppositely oriented CBEs (CTCF-binding elements) and functions to restrict the range of RAG linear scanning and maintaining the proper timing of recombination at the *Igh* and the *Igκ* loci.

图2 骨髓B细胞发育过程及不同BCR基因座重排示意图

Fig.2 Schematic diagram of bone marrow B cell development and BCR rearrangement at different loci



A: 随机扩散模型。在线性状态下, 抗体重链基因*Igh*首先进行位点压缩, 使得数目众多的V_H元件足够靠近重排中心RC, 从而通过自由扩散的方式接近RAG并被切割, 完成V_H-to-DJ_H重排。B: 染色质环挤压模型。黏连蛋白cohesin介导的环挤压驱动染色质向重排中心移动, RAG酶在重排中心形成后, 可沿染色质进行线性扫描, 依次识别并切割远端V_H基因片段, 从而实现多样化的V(D)J重排。

A: diffusion-based model. The *Igh* locus undergoes locus contraction, bringing numerous V_H gene segments into spatial proximity to the RC, where they can stochastically encounter the RAG complex through random diffusion and undergo V_H-to-DJ_H recombination. B: loop extrusion model. Cohesin-mediated chromatin loop extrusion drives the movement of chromatin toward the RC. Once assembled at the RC, the RAG complex performs directional linear scanning along chromatin, sequentially recognizing and cleaving distal V_H gene segments to enable diversified V(D)J recombination.

图3　小鼠*Igh*基因座V(D)J重排的机制模型

Fig.3　Mechanistic models of V(D)J recombination at the mouse *Igh* locus

由RAG线性扫描(RAG linear scanning)的方式执行的[23-24]; 随后, 研究人员通过Hi-C、ChIP-seq及3C-HTGTS等实验进一步验证了cohesin介导的染色质环挤压在*Igh*基因座V(D)J重排中的作用。通过在*v-Abl*(abelson murine leukemia virus)转化的小鼠的pro-B细胞中引入一个外源重排中心, 研究人员发现RAG具有线性化“追踪”(tracking)和切割具有特定方向的“CAC”序列的活性, 并且该活性范围与会聚型(convergent) CTCF结合位点形成的基因组环状结构一致[22-23], 这种现象与染色质环挤压模型高度吻合(图1B)。需要指出的是, 线性扫描模型并不完全排斥扩散机制。更合理的理解是, 环挤压可在大尺度上为RAG线性扫描提供方向性和空间约束, 而在局部尺度上, RAG-RSS之间仍可能通过受限扩散完成最终配对和切割。因此, 随机扩散和线性扫描可能在不同基因座、不同发育阶段和不同空间尺度上协同发挥作用。

2.3　染色质环挤压驱动RAG线性扫描介导抗体多样化

围绕RAG如何在大尺度*Igh*基因座上实现高效识别远端V_H基因片段这一科学问题, 领域内逐步迭代优化了基于染色质环挤压的RAG线性扫描模型[23-24]。早期研究利用小鼠*v-Abl*细胞模型模拟V(D)J重排过程, 并通过遗传扰动、HTGTS以及3C-HTGTS等方法, 发现RAG结合于*Igh* RC后, D片段和近端V_H基因片段并非完全依赖随机扩散接近RC, 而是依赖以RC为起点的染色质环挤压, 沿染色质进行线性扫描, 从而实现对D和近端V_H基因片段有序选择[25]。在这一过程中, 位于*Igh*基因座内的CBE通过界定染色质拓扑关联结构域, 限制环挤压的范围, 从而影响RAG线性扫描的边界和方向性。该机制不仅能够解释近端V_H-to-DJ_H重排的偏好性, 也可用于解释D-to-J_H删除型重排, 提示染色质环挤压在不同阶段的*Igh*重排过程中均发挥重要作用。进一步研究表明, cohesin介导的染色质环挤压可驱动*Igh*基因座发生长距离相互作用, 从而为RAG线性扫描提供连续的染色质底物, 并在CTCF边界的限制下调控远端V_H基因片段的利用[23,26]。

然而, 在生理条件下, 小鼠原代pro-B细胞约2.4 Mb V_H区域如何发生位点压缩(locus contraction), 以及远端100多个功能性V_H基因片段是如何与DJ_H进行重排的, 长期以来尚不完全清楚(图3A)。研究表明, 与小鼠*v-Abl*细胞模型中WAPL高表达状态不同, 骨髓原代pro-B细胞通过下调WAPL表达, 延长cohesin在染色质上的驻留时间(residence time), 从而增强染色质环挤压的持续性(processivity), 促进*Igh*基因座的空

间压缩, 使远端V_H基因片段能够进入重排中心附近并参与重排, 进而有效地生成多样化的抗体库[27-28]。此外, 隐蔽的RSS在基因组中广泛分布, 且没有方向性, 仅需要简单的“CAC”序列就可以介导RAG脱靶切割[22]。研究表明, 当*Igh*基因座发生翻转并导致RSS方向性异常时, 环挤压可驱动RAG进行超长距离扫描, 甚至突破原有结构域边界, 导致异常的脱靶切割及染色体易位[28]。总之, 染色质环挤压通过驱动RAG线性扫描并调控其空间范围, 在大尺度基因组背景下实现V(D)J重排的方向性、时序性及多样性, 从而为抗体库的形成提供结构基础(图3B)。

2.4 *Igκ*基因座的环挤压–扩散协同重排机制

与*Igh*基因座主要依赖长距离RAG线性扫描不同, *Igκ*基因座重组呈现出更为复杂的空间结构与重组模式, 其可发生初级重排和次级重排, 同时该位点包含正向和反向两种方向的$V_κ$片段, 从而支持删除型(deletional)与翻转型(inversional)两种重组方式[29-30](图2C)。在初级重排过程中, *Igκ*基因座并不完全依靠覆盖整个$V_κ$区域的长距离线性扫描, 而是依托染色质环挤压与局部短距离扩散的协同作用, 完成$V_κ$与$J_κ$片段的重组配对。具体而言, 染色质环挤压可能通过塑造局部染色质构象并提高不同$V_κ$片段与重排中心的接触概率, 使RAG酶能够在受限空间内通过局部扩散或碰撞捕获相应的$V_κ$-RSS, 从而共同促进$V_κ$-to-$J_κ$连接[29]。因此, 环挤压和扩散不应被理解为严格先后发生的两个独立过程, 而更可能是在同一局部染色质环境中协同发生。短距离扩散主要指RAG-RSS在数百纳米至数微米范围内的碰撞和捕获, 而环挤压则可在基因组尺度上跨越数百Kb至数Mb, 两者可能在不同空间尺度上共同调控抗原受体基因座重排。在次级重排过程中, 染色质构象可发生重塑, 由原有的局部多环结构转变为更有利于RAG线性扫描的状态, 从而启动新一轮的$V_κ$-to-$J_κ$重排[30]。

2.5 发育阶段特异性调控

*Igκ*基因座重排具有明显的发育阶段特异性, 其染色质构象与*Igh*基因座并不相同[27-29,31]。研究表明, pre-B细胞中WAPL蛋白水平较pro-B细胞升高约2倍[5], 这一变化与pre-B细胞中染色质环挤压范围相对受限、*Igκ*基因座形成较局部的环状构象等特征相一致, 提示WAPL表达水平变化可能参与调控*Igκ*基因座的空间组织, 并影响$V_κ$与$J_κ$片段的接触机会及重排过程。此外, 在pre-B细胞阶段, pre-BCR信号可抑制进一步的*Igh*重排, 并伴随RAG活性、*Igh*基因座可及性和三维构象的改变, 从而促进*Igk*重排。因此, pre-B细胞中特异性的染色质构象可能与转录调控和pre-BCR信号共同作用, 限制*Igh*基因座在*Igκ*重组阶段继续发生重排, 从而有助于维持重链等位基因排斥。由此可见, *Igκ*基因座重排依赖于pre-B细胞阶段特异性的局部染色质构象, 这既有利于轻链重排的有序进行, 也与重链基因座的阶段性沉默相协调。

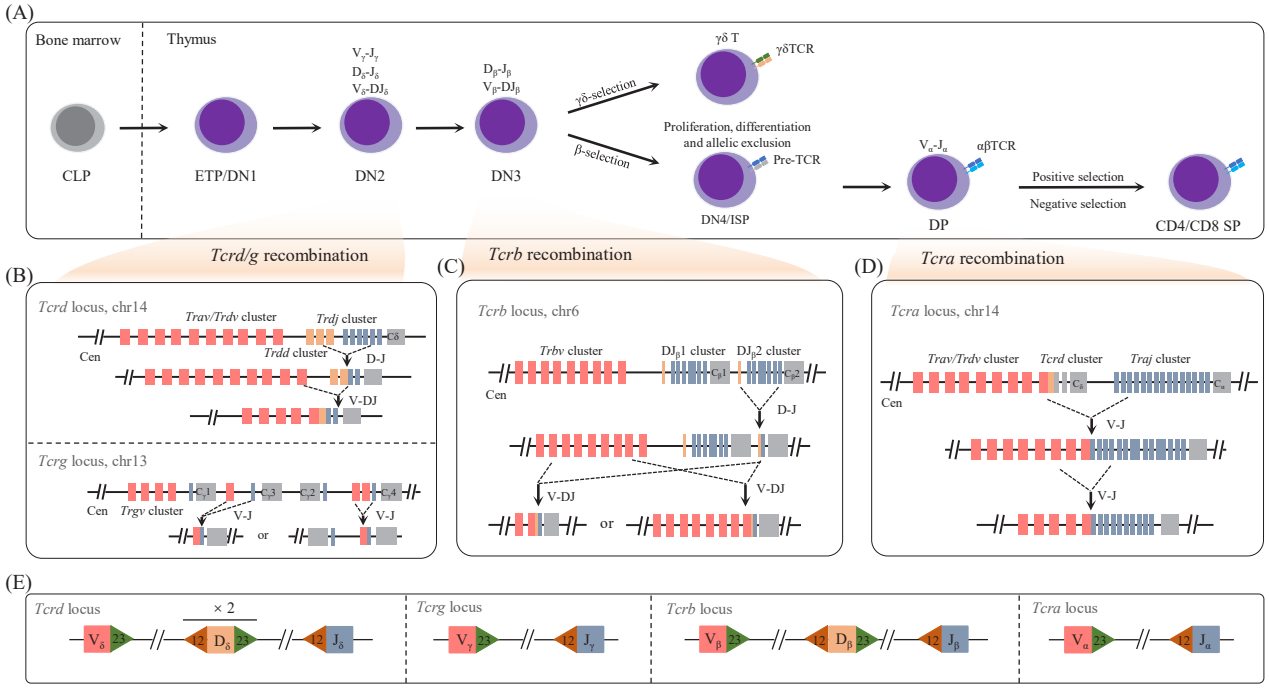
除染色质结构外, *Igκ*基因座重排还依赖阶段特异性的基因表达调控。在pro-B和大前B(large pre-B)细胞阶段, 替代轻链基因*Igll1*和*Vpreb1*被激活, 从而支持pre-BCR组装; 进入小前B(small pre-B)细胞阶段后, 其表达受到抑制, 推动细胞由pre-BCR依赖状态转入轻链重排阶段[32-35]。因此, *Igκ*基因座重排不仅依赖pre-B细胞阶段特异性的局部染色质结构, 也依赖相应的转录程序重塑, 二者协同保障了轻链重排的时序性。

相比之下, *Igλ*基因座结构相对简单[36](图2C), 目前针对其重排调控机制的研究仍较为有限, 尤其是在染色质环挤压及三维基因组调控方面仍有待进一步系统性阐明。

3 胸腺T细胞发育中的染色质环挤压

3.1 染色质环挤压在T细胞发育中的潜在作用

在胸腺T细胞发育分化过程中(图4A), 染色质区室、TAD及结构域内相互作用均发生系统性变化, 这种染色质三维构象的大规模重塑与T细胞谱系决定及阶段特异性基因表达程序的建立密切相关[37-38]。T细胞发育中的三维基因组重塑是一个多层级的调控过程, 包括CTCF/cohesin相关的染色质环、TAD边界及部分长距离相互作用的建立, 同时也包括非编码转录、转录因子依赖的增强子网络和染色质组织因子对局部染色质构象的调控。近年来的研究表明, 在T细胞早期发育阶段, T细胞因子-1(T cell factor-1, TCF-1)不仅可作为关键转录因子调控T细胞命运, 还可与CTCF共同参与三维基因组重塑。TCF-1依赖的长距离染色质相互作用与活性增强子区域NIPBL和cohesin的富集相关, 提示TCF-1可能通过促进NIPBL/cohesin相关的染色质环形成和增强子间相互作用, 建立新的发育相关接触网络, 从而为T细胞程序性发育提供空间结构基础[39-40]。此外, 非编码RNA ThymoD(thymocyte differentiation factor)的



A: T细胞发育示意图。骨髓来源的共同淋巴祖细胞迁移至胸腺, 依次经历早期T细胞祖细胞(ETP)/双阴性1(DN1)、DN2、DN3、DN4/未成熟单阳性(ISP)、双阳性(DP)及CD4或CD8单阳性(SP)发育阶段。在DN2~DN3阶段, 胸腺细胞可分化进入γδ T细胞或αβ T细胞发育通路。B~D: 小鼠T细胞不同发育阶段TCR基因座重排过程示意图。*Tcrd*、*Tcrg*和*Tcrb*在DN阶段重排, 而*Tcra*在DP阶段重排。其中*Tcrd*、*Tcrb*先发生D-J重排, 再发生V-DJ重排; *Tcrg*、*Tcra*仅发生V-J重排。E: 不同TCR RSSs组成特征示意图。

A: overview of T cell development. Common lymphoid progenitors migrate from the bone marrow to the thymus, and progress through the ETP (early T cell progenitor)/DN1 (double-negative 1), DN2, DN3, DN4, ISP (immature single-positive), DP (double-positive), and CD4 or CD8 SP (single-positive) stages. Thymocytes commit to the γδ T or the αβ T cell lineage at the DN2-DN3 stage. B-D: schematic diagrams illustrating the organization of TCR loci and their rearrangement at distinct developmental stages in mice. *Tcrd*, *Tcrg* and *Tcrb* recombination are initiated during the DN stage, whereas *Tcra* recombination is initiated during the DP stage. *Tcrd* and *Tcrb* undergo D-J recombination before V-DJ recombination, whereas *Tcrg* and *Tcra* undergo V-J recombination only. E: schematic illustration of the organization of different TCR RSSs.

图4　胸腺T细胞发育过程及不同TCR基因座重排示意图

Fig.4　Schematic diagram of thymocyte development and TCR rearrangement at different loci

转录可促进其转录区域内CTCF结合位点去甲基化, 促进cohesin依赖的染色质环形成, 使*Bcl11b*增强子从核纤层区重定位至核内部, 得以与*Bcl11b*启动子建立相互作用, 从而参与*Bcl11b*基因激活与T细胞谱系决定[41]。除位点特异性机制外, SATB1(special AT-rich sequence binding protein 1)可通过调控超级增强子活性及超级增强子与启动子相互作用, 影响关键转录调控因子及TCR基因座相关基因的表达[42-44]。因此, 染色质环挤压是解释T细胞发育过程中部分基因组高级结构形成的重要机制之一, 这种T细胞发育中三维基因组的重塑同时也由转录因子结合、增强子活性、染色质可及性和核内定位等因素共同调控。这些机制相互协同, 为阶段特异性转录程序的建立提供了三维结构基础。

3.2　TCR的结构特征及重排时序

T细胞受体(TCR)基因座包括TCRβ(*Tcrb*)、TCRγ(*Tcrg*)、TCRδ(*Tcrd*)和TCRα(*Tcra*)(图4B~图4E)。*Tcrb*基因座跨度约667 Kb, 包含约35个V_β片段、2个D_β片段和12个J_β片段, 其中D_β和J_β分别组成$DJC_\beta1$和$DJC_\beta2$两个基因簇。*Tcra*/*Tcrd*位于14号染色体的同一复合基因座内(约1.8 Mb), 其中*Tcrd*片段嵌插在*Tcra*的V和J片段之间, 因此其重排与后续*Tcra*重排在空间结构和时序调控上高度耦联[3,45]。

TCR基因座的重排遵循严格的发育时序。在$CD4^-CD8^-$双阴性(double-negative, DN)阶段, *Tcrb*、*Tcrd*和*Tcrg*发生重排, 其中功能性*Tcrg*/*Tcrd*重排通常伴随γδ T细胞谱系分化, 而功能性*Tcrb*重排则通过pre-TCR介导β选择(β-selection), 促进αβ T细胞谱系发育。随后在$CD4^+CD8^+$双阳性(double-positive, DP)阶段, *Tcra*启动重排, 并可在等位基因间发生初级重排及多轮次级重排, 直至产生功能性TCR[46-47]。与*Tcra*可持续进行多轮重排不同, *Tcrb*重排过程通常受

到严格的等位基因排斥限制[48]。这一时序过程由发育阶段特异性的转录因子网络、增强子活化、染色质可及性和三维基因组构象重塑协同调控[49-51]。

总体而言, 不同TCR基因座在线性组成、片段排列方式、重排时序及三维空间组织方面均存在显著差异, 从而导致其重排方式和调控策略的差异。其中, *Tcrg*基因座重排多发生于局部Vγ-Jγ片段组合之间, 表现出较强的位置偏倚和发育阶段特异性, 其对大范围染色质构象重塑的依赖可能弱于*Tcrb*和*Tcra*/*Tcrd*[52]。因此, 关于环挤压在TCR重排中的作用, 目前更多证据主要集中于后两类基因座。

3.3 *Tcrb*基因座重排中的潜在环挤压机制

3C及3D-FISH实验表明, *Tcrb*基因座在DN阶段重排时伴随染色质区域收缩和远距离互作增加[53], 该构象变化为其V(D)J重组提供了空间基础(图4A和图4B)。 RAG被招募到重排中心, 由近端向远端扫描, 将远端的V_β片段带入重排中心, 从而发生重排[54-55]。分布于*Tcrb*基因座内部的部分CBE及其结合的CTCF也参与调控长距离相互作用和局部环挤压过程, 从而影响特定V_β片段与重排中心之间的接触频率和重排效率[53,56-57]。研究表明, 远端V_β片段启动子可能通过招募NIPBL将cohesin加载至片段上, 从而启动环挤压, 这为环挤压参与TCRβ重排提供了重要证据[58]。该过程可能部分类似于B细胞*Igκ*轻链重排的机制, 暗示TCRβ可能由重排中心和V_β片段处启动双向环挤压, 但目前仍缺乏直接的功能性证据。然而, 在敲除关键增强子TCRβ增强子(TCRβ enhancer, E_β)后, 尽管重排中心可及性显著下降, TCRβ重排无法启动, 但V_β片段与重排中心之间的三维结构并未消失。这一结果表明, *Tcrb*基因座的部分三维构象可能在重排启动之前即已建立, 并不完全依赖E_β介导的重排中心激活。

3.4 *Tcra/Tcrd*基因座复杂重排中的染色质环挤压调控

*Tcrd*位于*Tcra*基因座内部, 其调控较*Tcrb*更为复杂, 并依赖CTCF对拓扑关联结构域和DNA重排的精细调控。*Tcrd*和*Tcra*共用部分V基因片段, 因此DN阶段的*Tcrd*重排可影响后续DP阶段*Tcra*重排的多样性[59-60]。在DN阶段, *Tcrd*上游CTCF结合元件INT1/2(intergenic CTCF-binding element 1/2)与下游TEA(early-α promoter)之间形成的环结构限制RAG线性扫描范围; INT1/2缺失可导致RAG酶扫描向上游扩展并改变不同V_δ使用频率, 提示RAG线性扫描过程在*Tcrd*重排调控中的重要作用。尽管TCRα增强子(TCRα enhancer, E_α)主要在*Tcra*重排时发挥功能, 其下游CBE位点不仅参与DP阶段*Tcra*/*Tcrd*基因座区域边界的建立, 也在DN阶段直接影响*Tcrd*重排及后续*Tcra*组库组成, 表明该复合基因座的顺式调控元件在不同发育阶段具有时序衔接且相互关联的功能[61-63]。

在DP胸腺细胞中, E_α、TEA及多个J_α相关启动子在CTCF和cohesin参与下形成发育阶段特异性的染色质相互作用网络, 从而支持重组中心建立并促进V_α-J_α重排[64-66]。在DP细胞中敲除*Rad21*可导致*Tcra*基因座H3K4me3水平下降、RAG酶招募受损, 同时E_α与TEA启动子之间的长距离相互作用减弱, 进而影响*Tcra*的次级重排[67]。此外, cohesin卸载因子WAPL在DP阶段的缺失同样显著改变了*Tcra*次级重排模式, 进一步提示cohesin介导的环挤压在该过程中的重要作用[68]。综上, *Tcra*/*Tcrd*基因座的调控并非依赖单一增强子或绝缘子, 而是建立在CTCF边界、染色质环挤压以及发育阶段特异性顺式元件协同作用的基础之上。

4 转录因子与表观遗传对环挤压的调控

4.1 PAX5/EBF1-WAPL轴的调控

PAX5(paired box protein 5)和EBF1(early B-cell factor 1)是早期B细胞发育的关键转录因子, 也是调控*Igh*基因座长距离环挤压的重要上游因子。研究表明, PAX5可特异性地抑制pro-B和pre-B细胞中WAPL的表达。ChIP-seq和基因敲除等实验证明, PAX5通过结合*Wapl*启动子附近特定序列招募PRC2复合物, 在该区域建立二价染色质状态, 从而抑制*Wapl*转录, 为长距离染色质环挤压提供保障[27]。最新研究通过快速降解EBF1蛋白[32], 表明EBF1同样可抑制*Wapl*表达, 从而促进*Igh*位点的长距离环挤压。由此可见, PAX5和EBF1不仅通过调控B细胞特异性基因表达决定细胞命运, 还可通过协同调节WAPL/cohesin轴直接参与*Igh*基因座三维构象的重塑。综上, PAX5/EBF1/WAPL轴是连接转录调控、表观遗传修饰与环挤压的重要机制基础。

4.2 DNA甲基化调控CTCF结合与环挤压边界

CTCF是一种序列特异性DNA结合蛋白, 其在CBE上的结合可受到DNA甲基化的抑制[69]。在天然

状态下, *Igh*近端V_H基因片段V_H5-1邻近的CBE序列含有CpG位点, 因此易受到DNA甲基化修饰。当该位点发生甲基化后, CTCF与DNA的结合能力下降, 从而削弱该区域对环挤压过程的阻滞作用, 使RAG酶扫描的停滞时间缩短, 最终降低该V_H片段的使用频率[23]。该研究提示, DNA甲基化可能通过动态调控CTCF与CBE的结合效率, 影响抗原受体基因中不同V基因片段的重排选择倾向, 为理解抗体多样性的表观遗传调控机制提供了重要依据。

4.3 衰老相关染色质结构变化与环挤压功能失调

衰老可显著重塑骨髓中pro-B细胞的染色质三维结构, 其特征包括TAD边界绝缘性减弱, 以及染色质区室之间异常长距离相互作用增加[70]。这种结构的稳定状态被破坏会直接影响*Ebf1*等B细胞发育关键基因的正常表达, 表现为其转录下调。同时, 衰老相关的染色质折叠异常会影响*Igh*基因的收缩状态, 降低环挤压介导的远端V_H基因片段的使用频率, 从而导致V(D)J重排偏倚并减少B细胞抗体库的多样性[70]。因此, 衰老相关的染色质结构重塑通过影响环挤压介导的长距离相互作用, 进而影响B细胞发育及免疫功能。

5 环挤压异常与疾病

5.1 黏连蛋白相关缺陷与免疫异常

德朗热综合征(Cornelia de Lange syndrome, CdLS)是一类典型的黏连蛋白病(cohesinopathy), 其发生通常与*SMC1*、*SMC3*、*RAD21*以及*NIPBL*和*HDAC8*等cohesin亚基及其调控因子的突变相关, 其中以*NIPBL*突变最为常见[71-74]。已有临床研究显示, CdLS患者的V_H基因片段呈现明显的近端使用偏倚, 而远端V_H重排频率下降, 提示其抗体多样性受损[75]。由于NIPBL是调控cohesin装载及环挤压推进的重要因子, 其剂量降低可能限制染色质相互作用的有效范围, 从而影响远端V_H基因片段的使用。然而, NIPBL剂量变化如何在分子层面重塑抗原受体库, 其与染色质环挤压动力学及三维基因组结构之间是否存在直接因果关系仍有待进一步系统性研究。

5.2 环挤压异常、基因组不稳定性与淋巴瘤发生

cohesin介导的染色质环挤压不仅调控三维基因组结构和转录稳态, 还参与DNA损伤应答(DNA damage response, DDR)。环挤压异常或TAD边界受损, 可能扰乱DNA双链断裂(double-strand breakage, DSB)周围损伤信号的空间约束及修复中心的形成[76], 从而增加错误修复和染色体易位的发生风险。染色体易位是淋巴瘤的典型基因组特征[77]。另外, 环挤压异常还可能通过增加RAG酶介导的脱靶切割、促进DSB末端易错连接, 以及削弱TAD边界绝缘导致跨结构域异常重组等机制, 进一步促进染色体易位的形成[28]。因此, 环挤压异常可能通过转录失衡与DNA修复异常双重机制加剧基因组不稳定性, 从而推动淋巴系统肿瘤的发生发展。

6 展望与挑战

近年来染色质环挤压在抗原受体多样化中的作用已取得重要进展, 但其分子机制和生理意义仍存在若干关键问题值得进一步深入研究。

6.1 单细胞尺度上的动态异质性

尽管Hi-C、Micro-C及相关3C衍生技术为解析抗原受体基因座空间构象提供了重要工具, 但这些方法主要反映群体细胞在固定时间点的平均接触信号, 难以直接揭示单细胞中环挤压的持续时间、停滞位点和动态变化。Droplet Hi-C、sci-Hi-C、single-cell Micro-C等方法已可用于描绘单细胞间染色质构象异质性[78-79], 并结合细胞状态信息分析不同发育阶段的三维基因组差异。不同细胞间环挤压范围及RAG线性扫描路径是否存在显著的异质性, 以及这些差异如何转化为V基因片段选择偏好和最终抗原受体库组成, 是未来研究的重要问题。

6.2 物种间保守性与特异性

当前对抗原受体重排中环挤压调控机制的认识主要来自小鼠模型。然而, 人和鼠在抗原受体基因座长度、V基因片段数量以及调控元件分布等方面存在明显差异。因此, 环挤压在调控抗原受体重排过程中是否遵循跨物种保守的基本原则, 或是否存在物种特异性的调控模式, 仍有待在人源系统中进一步验证。

6.3 细胞内环挤压动态观测

尽管染色质环挤压模型已得到多种实验结果支持, 但目前多数研究主要依赖Hi-C、HiChIP、ChIP-seq、CUT&Tag以及关键因子敲除/降解实验来推断cohesin相关结构变化, 这些方法多数仍基于静态接触, 通常难以区分cohesin介导的主动环挤压过程。此外, cohesin降解、RAD21缺失或NIPBL/WAPL扰

动也可能同时引起转录改变、染色质可及性变化和DNA损伤应答等效应, 因此相关表型未必完全来源于环挤压异常本身。近年来, 部分研究通过染色质动力学和活细胞成像手段直接追踪cohesin相关环挤压行为, 为研究环挤压动力学提供了更直接的证据[80-81]。尽管已有研究获得了环挤压过程的直接动力学证据, 但该类观测体系尚难以适配功能性研究, 无法实现淋巴细胞发育阶段内染色质环挤压行为的活体实时可视化观察。未来需要结合活细胞成像、急性蛋白降解和位点特异性扰动等多种策略, 进一步解析环挤压在抗原受体多样化中的直接作用。

6.4 面向干预的潜在转化方向

随着对NIPBL、WAPL、CTCF等环挤压调控因子的认识不断加深, 如何在其广泛参与基因组三维结构调控的背景下, 寻找细胞类型、发育阶段或基因座特异性的干预窗口, 并将其转化为可操作的干预策略, 已成为值得关注的方向。例如, 是否能够通过调节环挤压调控因子的表达或稳定性, 在体外有效塑造特定抗体库生成, 或在病理状态下降低异常重排和基因组不稳定性风险, 仍有待探索。

7 总结

染色质环挤压为理解抗原受体多样化提供了一个动态且具有整合性的结构机制框架。其核心作用并不只是促进局部染色质环的形成, 而在于通过调控染色质相互作用范围和RAG酶扫描距离, 决定抗原受体基因座的重排策略与V基因片段利用模式。不同抗原受体基因座采用差异化的环挤压机制: *Igh*基因座依赖长距离环挤压实现远端V_H片段的募集, *Igκ*基因座通过局部环挤压与扩散捕获协同完成重排, 而*Tcrb*基因座则依赖对环挤压范围的调控实现发育阶段特异性的重排程序。对于*Igλ*、*Tcra*等其他抗原受体基因座, 其环挤压调控重排的机制仍有待进一步研究。这些差异表明, 染色质环挤压作为可调控的三维基因组组织机制, 能够在不同基因座结构背景下实现功能适配。

从分子机制上看, cohesin/CTCF/WAPL/NIPBL构成调控环挤压的核心网络: cohesin执行环挤压, CTCF设定边界, WAPL限制作用范围, NIPBL促进其持续推进。转录因子和表观遗传修饰进一步通过调节这一网络, 赋予环挤压以发育阶段特异性和基因座特异性。因而, 抗原受体多样化不仅依赖于RAG酶对DNA序列的识别, 还得益于三维基因组的动态重塑。

染色质环挤压异常可导致V(D)J重排范围失衡、V基因片段利用偏倚及基因组不稳定性增加, 与免疫缺陷及淋巴瘤发生密切相关。未来, 结合单细胞动态分析、人源模型及定量三维基因组学, 将有助于进一步揭示环挤压如何被精确调控, 并为免疫相关疾病干预提供新的理论基础。

致谢

感谢本实验室王超、王美晨及其他成员在本文写作过程中提出的宝贵意见和建议。

参考文献 (References)

[1] Proudhon C, Hao B, Raviram R, et al. Long-range regulation of V(D)J recombination [M]//Advances in Immunology: Vol.128. Amsterdam: Elsevier, 2015: 123-182.

[2] Ebert A, Hill L, Busslinger M. Spatial regulation of V-(D)J recombination at antigen receptor loci [M]//Advances in Immunology: Vol.128. Amsterdam: Elsevier, 2015: 93-121.

[3] Carico Z, Krangel M S. Chromatin dynamics and the development of the TCRα and TCRδ repertoires [M]//Advances in Immunology: Vol.128. Amsterdam: Elsevier, 2015: 307-361.

[4] Zhang Y, Zhang X F, Dai H-Q, et al. The role of chromatin loop extrusion in antibody diversification [J]. Nature Reviews Immunology, 2022, 22(9): 550-566.

[5] Davidson I F, Peters J M. Genome folding through loop extrusion by SMC complexes [J]. Nature Reviews Molecular Cell Biology, 2021, 22(7): 445-464.

[6] Fudenberg G, Imakaev M, Lu C, et al. Formation of chromosomal domains by loop extrusion [J]. Cell Reports, 2016, 15(9): 2038-2049.

[7] Sanborn A L, Rao S S P, Huang S C, et al. Chromatin extrusion explains key features of loop and domain formation in wild-type and engineered genomes [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2015, 112(47): E6456-65.

[8] Davidson I F, Bauer B, Goetz D, et al. DNA loop extrusion by human cohesin [J]. Science, 2019, 366(6471): 1338-1345.

[9] Kim Y, Shi Z B, Zhang H S, et al. Human cohesin compacts DNA by loop extrusion [J]. Science, 2019, 366(6471): 1345-1349.

[10] Alonso-Gil D, Losada A. NIPBL and cohesin: new take on a classic tale [J]. Trends in Cell Biology, 2023, 33(10): 860-871.

[11] Haarhuis J H I, van der Weide R H, Blomen V A, et al. The cohesin release factor WAPL restricts chromatin loop extension [J]. Cell, 2017, 169(4): 693-707.e14.

[12] Davidson I F, Barth R, Zaczek M, et al. CTCF is a DNA-tension-dependent barrier to cohesin-mediated loop extrusion [J]. Nature, 2023, 616(7958): 822-827.

[13] Yatskevich S, Rhodes J, Nasmyth K. Organization of chromosomal DNA by SMC complexes [J]. Annual Review of Genetics, 2019, 53(1): 445-482.

[14] Nora E P, Goloborodko A, Valton A L, et al. Targeted degrada-

tion of CTCF decouples local insulation of chromosome domains from genomic compartmentalization [J]. Cell, 2017, 169(5): 930-944.e22.

[15] Rao S S P, Huntley M H, Durand N C, et al. A 3D map of the human genome at kilobase resolution reveals principles of chromatin looping [J]. Cell, 2014, 159(7): 1665-1680.

[16] Rao S S P, Huang S C, Glenn St Hilaire B, et al. Cohesin loss eliminates all loop domains [J]. Cell, 2017, 171(2): 305-320.e24.

[17] Busslinger G A, Stocsits R R, Van Der Lelij P, et al. Cohesin is positioned in mammalian genomes by transcription, CTCF and Wapl [J]. Nature, 2017, 544(7651): 503-507.

[18] Bassing C H, Swat W, Alt F W. The mechanism and regulation of chromosomal V(D)J recombination [J]. Cell, 2002, 109(2): S45-S55.

[19] Teng G, Schatz D G. Regulation and evolution of the RAG recombinase [M]//Advances in Immunology: v.128. Elsevier, 2015: 1-39.

[20] Schatz D G, Swanson P C. V(D)J recombination: mechanisms of initiation [J]. Annual Review of Genetics, 2011, 45(1): 167-202.

[21] Schatz D G, Ji Y. Recombination centres and the orchestration of V(D)J recombination [J]. Nature Reviews Immunology, 2011, 11(4): 251-263.

[22] Hu J Z, Zhang Y, Zhao L J, et al. Chromosomal loop domains direct the recombination of antigen receptor genes [J]. Cell, 2015, 163(4): 947-959.

[23] Jain S, Ba Z Q, Zhang Y, et al. CTCF-binding elements mediate accessibility of RAG substrates during chromatin scanning [J]. Cell, 2018, 174(1): 102-116.e14.

[24] Lin S G, Ba Z, Alt F W, et al. RAG chromatin scanning during V(D)J recombination and chromatin loop extrusion are related processes [M]//Advances in Immunology: v.139. Elsevier, 2018: 93-135.

[25] Zhang Y, Zhang X F, Ba Z Q, et al. The fundamental role of chromatin loop extrusion in physiological V(D)J recombination [J]. Nature, 2019, 573(7775): 600-604.

[26] Ba Z, Lou J, Ye A Y, et al. CTCF orchestrates long-range cohesin-driven V(D)J recombinational scanning [J]. Nature, 2020, 586(7828): 305-310.

[27] Hill L, Ebert A, Jaritz M, et al. Wapl repression by Pax5 promotes V gene recombination by Igh loop extrusion [J]. Nature, 2020, 584(7819): 142-147.

[28] Dai H-Q, Hu H, Lou J, et al. Loop extrusion mediates physiological Igh locus contraction for RAG scanning [J]. Nature, 2021, 590(7845): 338-343.

[29] Zhang Y W, Li X, Ba Z Q, et al. Molecular basis for differential Igk versus Igh V(D)J joining mechanisms [J]. Nature, 2024, 630(8015): 189-197.

[30] Li X, Hu H L, Zhang Y W, et al. Linear RAG scanning mediates editing of Igκ variable region repertoires [J]. Nature, 2026, 653(8115): 870-878.

[31] Hill L, Wutz G, Jaritz M, et al. Igh and Igk loci use different folding principles for V gene recombination due to distinct chromosomal architectures of pro-B and pre-B cells [J]. Nature Communications, 2023, 14(1): 2316.

[32] Fedl A S, Tagoh H, Gruenbacher S, et al. Transcriptional function of E2A, Ebf1, Pax5, Ikaros and Aiolos analyzed by *in vivo* acute protein degradation in early B cell development [J]. Nature Immunology, 2024, 25(9): 1663-1677.

[33] Mandal M, Okoreeh M K, Kennedy D E, et al. CXCR4 signaling directs Igk recombination and the molecular mechanisms of late B lymphopoiesis [J]. Nature Immunology, 2019, 20(10): 1393-1403.

[34] Thompson E C, Cobb B S, Sabbattini P, et al. Ikaros DNA-binding proteins as integral components of B cell developmental-stage-specific regulatory circuits [J]. Immunity, 2007, 26(3): 335-344.

[35] Parker M J, Licence S, Erlandsson L, et al. The pre-B-cell receptor induces silencing of VpreB and λ5 transcription [J]. The EMBO Journal, 2005, 24(22): 3895-3905.

[36] Zou X, Piper T A, Smith J A, et al. Block in development at the pre-B-II to immature B cell stage in mice without Igκ and Igλ light chain [J]. The Journal of Immunology, 2003, 170(3): 1354-1361.

[37] Hu G Q, Cui K R, Fang D F, et al. Transformation of accessible chromatin and 3D nucleome underlies lineage commitment of early T cells [J]. Immunity, 2018, 48(2): 227-242.e8.

[38] Jay A, Pondevida C M, Vahedi G. The epigenetic landscape of fate decisions in T cells [J]. Nature Immunology, 2025, 26(4): 544-556.

[39] Wang W, Chandra A, Goldman N, et al. TCF-1 promotes chromatin interactions across topologically associating domains in T cell progenitors [J]. Nature Immunology, 2022, 23(7): 1052-1062.

[40] Johnson J L, Georgakilas G, Petrovic J, et al. Lineage-determining transcription factor TCF-1 initiates the epigenetic identity of T cells [J]. Immunity, 2018, 48(2): 243-257.e10.

[41] Isoda T, Moore A J, He Z, et al. Non-coding transcription instructs chromatin folding and compartmentalization to dictate enhancer-promoter communication and T cell fate [J]. Cell, 2017, 171(1): 103-119.e18.

[42] Zelenka T, Klonizakis A, Tsoukatou D, et al. The 3D enhancer network of the developing T cell genome is shaped by SATB1[J]. Nature Communications, 2022, 13(1): 6954.

[43] Feng D L, Chen Y H, Dai R R, et al. Chromatin organizer SATB1 controls the cell identity of $CD4^+$ $CD8^+$ double-positive thymocytes by regulating the activity of super-enhancers [J]. Nature Communications, 2022, 13(1): 5554.

[44] Wang B, Ji L Z, Bian Q. SATB1 regulates 3D genome architecture in T cells by constraining chromatin interactions surrounding CTCF-binding sites [J]. Cell Reports, 2023, 42(4): 112323.

[45] Shih H-Y, Verma-Gaur J, Torkamani A, et al. *Tcra* gene recombination is supported by a *Tcra* enhancer- and CTCF-dependent chromatin hub [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2012, 109(50): E3493-502.

[46] Petrie H T, Livak F, Schatz D G, et al. Multiple rearrangements in T cell receptor alpha chain genes maximize the production of useful thymocytes [J]. The Journal of Experimental Medicine, 1993, 178(2): 615-622.

[47] Hawwari A, Bock C, Krangel M S. Regulation of T cell receptor α gene assembly by a complex hierarchy of germline Jα promoters [J]. Nature Immunology, 2005, 6(5): 481-489.

[48] Dutta A, Zhao B, Love P E. New insights into TCR β-selection [J]. Trends in Immunology, 2021, 42(8): 735-750.

[49] Krangel M S. Mechanics of T cell receptor gene rearrangement [J]. Current Opinion in Immunology, 2009, 21(2): 133-139.

[50] Gopalakrishnan S, Majumder K, Predeus A, et al. Unifying model for molecular determinants of the preselection Vβ repertoire [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2013, 110(34): E3206-15.

[51] Zhao J, Osipovich O, Koues O I, et al. Activation of mouse *Tcrb*: uncoupling RUNX1 function from its cooperative binding with ETS1 [J]. The Journal of Immunology, 2017, 199(3): 1131-1141.

[52] Xiong N, Zhang L, Kang C, et al. Gene placement and competition control T cell receptor gamma variable region gene rearrangement [J]. Journal of Experimental Medicine, 2008, 205(4): 929-938.

[53] Majumder K, Koues O I, Chan E A W, et al. Lineage-specific compaction of *Tcrb* requires a chromatin barrier to protect the function of a long-range tethering element [J]. Journal of Experimental Medicine, 2015, 212(1): 107-120.

[54] Allyn B M, Hayer K E, Oyeniran C, et al. Locus folding mechanisms determine modes of antigen receptor gene assembly [J]. Journal of Experimental Medicine, 2024, 221(2): e20230985.

[55] Skok J A, Gisler R, Novatchkova M, et al. Reversible contraction by looping of the *Tcra* and *Tcrb* loci in rearranging thymocytes [J]. Nature Immunology, 2007, 8(4): 378-387.

[56] Chen S, Krangel M S. Diversification of the TCRβ locus Vβ repertoire by CTCF [J]. ImmunoHorizons, 2018, 2(11): 377-383.

[57] Yadav M, Sharma S, Rajalekshmi S R, et al. Site specific and orientation dependent CTCF Binding determines VDJ recombination at murine *Tcrb* locus [J]. Molecular and Cellular Biology, 2025, 45(11): 530-546.

[58] Allyn B M, Hayer K E, Oyeniran C, et al. Promoter- and enhancer-dependent cohesin loading initiates chromosome looping to fold *Tcrb* loci for long-range recombination [J]. Cell Reports, 2025, 44(8): 116133.

[59] Carico Z M, Roy Choudhury K, Zhang B, et al. Tcrd rearrangement redirects a processive *Tcra* recombination program to expand the Tcra repertoire [J]. Cell Reports, 2017, 19(10): 2157-2173.

[60] Dauphars D J, Mihai A, Wang L, et al. Trav15-dv6 family *Tcrd* rearrangements diversify the *Tcra* repertoire [J]. Journal of Experimental Medicine, 2022, 219(2): e20211581.

[61] Chen L, Carico Z, Shih H-Y, et al. A discrete chromatin loop in the mouse *Tcra-Tcrd* locus shapes the TCRδ and TCRα repertoires [J]. Nature Immunology, 2015, 16(10): 1085-1093.

[62] Zhao L, Frock R L, Du Z, et al. Orientation-specific RAG activity in chromosomal loop domains contributes to *Tcrd* V(D)J recombination during T cell development [J]. Journal of Experimental Medicine, 2016, 213(9): 1921-1936.

[63] Zhu Y C, Dai R R, Zhao H, et al. The insulator EACBE regulates V(D)J recombination of tcrd gene by modulating chromatin organization [J]. Frontiers in Immunology, 2025, 16: 1613621.

[64] Shih H-Y, Krangel M S. Chromatin architecture, CCCTC-binding factor, and V(D)J recombination: managing long-distance relationships at antigen receptor loci [J]. Journal of Immunology, 2013, 190(10): 4915-4921.

[65] Zhao H, Li Z Q, Zhu Y C, et al. A role of the CTCF binding site at enhancer Eα in the dynamic chromatin organization of the *Tcra-Tcrd* locus [J]. Nucleic Acids Research, 2020, 48(17): 9621-9636.

[66] Dai R R, Zhu Y C, Li Z Q, et al. Three-way contact analysis characterizes the higher order organization of the *Tcra* locus [J]. Nucleic Acids Research, 2023, 51(17): 8987-9000.

[67] Seitan V C, Hao B, Tachibana-Konwalski K, et al. A role for cohesin in T-cell-receptor rearrangement and thymocyte differentiation [J]. Nature, 2011, 476(7361): 467-471.

[68] Luo R, Song Y W, Wang M C, et al. HTGTS-TCR-Seq for profiling of mouse and human T-cell receptor α and β gene rearrangements and diversity [J]. Advanced Science, 2026, 13(4): e09497.

[69] Monteagudo-Sánchez A, Noordermeer D, Greenberg M V C. The impact of DNA methylation on CTCF-mediated 3D genome organization [J]. Nature Structural & Molecular Biology, 2024, 31(3): 404-412.

[70] Ma F, Cao Y Q, Du H S, et al. Three-dimensional chromatin reorganization regulates B cell development during ageing [J]. Nature Cell Biology, 2024, 26(6): 991-1002.

[71] Krantz I D, McCallum J, DeScipio C, et al. Cornelia de Lange syndrome is caused by mutations in NIPBL, the human homolog of *Drosophila melanogaster* Nipped-B [J]. Nature Genetics, 2004, 36(6): 631-635.

[72] Deardorff M A, Bando M, Nakato R, et al. HDAC8 mutations in Cornelia de Lange syndrome affect the cohesin acetylation cycle [J]. Nature, 2012, 489(7415): 313-317.

[73] Deardorff M A, Wilde J J, Albrecht M, et al. RAD21 mutations cause a human cohesinopathy [J]. The American Journal of Human Genetics, 2012, 90(6): 1014-1027.

[74] Solé-Ferran M, Losada A. Cohesin in 3D: development, differentiation, and disease [J]. Genes & Development, 2025, 39(11/12): 679-696.

[75] Björkman A, Du L, Van Der Burg M, et al. Reduced immunoglobulin gene diversity in patients with Cornelia de Lange syndrome [J]. Journal of Allergy and Clinical Immunology, 2018, 141(1): 408-411.e8.

[76] Arnould C, Rocher V, Finoux A L, et al. Loop extrusion as a mechanism for formation of DNA damage repair foci [J]. Nature, 2021, 590(7847): 660-665.

[77] Alt F W, Zhang Y, Meng F L, et al. Mechanisms of programmed DNA lesions and genomic instability in the immune system [J]. Cell, 2013, 152(3): 417-429.

[78] Chang L, Xie Y, Taylor B, et al. Droplet Hi-C enables scalable, single-cell profiling of chromatin architecture in heterogeneous tissues [J]. Nature Biotechnology, 2025, 43(10): 1694-1707.

[79] Wu H G, Zhang J K, Tan L Z, et al. Single-cell Micro-C profiles 3D genome structures at high resolution and characterizes multi-enhancer hubs [J]. Nature Genetics, 2025, 57(7): 1777-1786.

[80] Guo Y, Al-Jibury E, Garcia-Millan R, et al. Chromatin jets define the properties of cohesin-driven *in vivo* loop extrusion [J]. Molecular Cell, 2022, 82(20): 3769-3780.e5.

[81] Sabaté T, Lelandais B, Robert M C, et al. Uniform dynamics of cohesin-mediated loop extrusion in living human cells [J]. Nature Genetics, 2025, 57(12): 3152-3164.