研究揭示小鼠耳蜗中三个Atoh1增强子协同调控听觉毛细胞发育

作者：writer 来源：中国科学院

本文原地址：https://www.iikx.com/news/progress/19500.html

本文仅供学习交流之用，版权归原作者所有，请勿用于商业用途！

8月5日，《美国国家科学院院刊》（*PNAS*）在线发表了题为《三个不同的Atoh1增强子协同调控声音受体毛细胞发育》的研究论文。该研究由中国科学院脑科学与智能技术卓越创新中心（神经科学研究所）、神经科学国家重点实验室、上海脑科学与类脑研究中心刘志勇研究组与中科院遗传与发育生物学研究所陆发隆研究组合作完成。该研究解析了新生小鼠耳蜗毛细胞的全基因组开放染色质图谱，发现和验证了两个之前未知的*Atoh1*增强子。研究利用CRISPR/Cas9技术敲除单个或同时敲除多个*Atoh1*增强子，揭示了*Atoh1*的三个增强子以剂量依赖性协同调控毛细胞发育。该工作为Atoh1表达的精准表观遗传学调控机制提供了更深入的理论依据，并为耳蜗毛细胞再生提供了新的潜在靶点。

耳蜗毛细胞是声音的感受器，转录因子*Atoh1*突变小鼠完全丧失毛细胞，相反，过表达Atoh1能够额外产生更多的毛细胞。Atoh1的重要生物学功能使之成为毛细胞发育再生领域的一个重要靶点。因此，探索Atoh1表达的调控机制具有重要的科学意义。Atoh1在毛细胞发育过程中高度动态变化，但其精准调控机制知之甚少。过去20年，*Atoh1*增强子1（Eh1）被认为对*Atoh1*的表达至关重要。然而，这一假说一直未得到体内实验的证实，且毛细胞中是否存在尚未发现的其他*Atoh1*增强子也未知。

研究利用CRISPR/Cas9基因编辑技术敲除Eh1，Eh1 -/- 小鼠耳蜗毛细胞发育完全正常，这表明Eh1对于毛细胞的发育不是必需的。该结果和预期完全相反，提示毛细胞存在尚未发现的其他*Atoh1*增强子。研究流式分选获得新生小鼠耳蜗毛细胞（图1A），并利用染色质开放性测序技术（ATAC-seq），建立了毛细胞的全基因组染色质开放图谱，发现了两个位于*Atoh1*远端的新增强子（Eh2和Eh3）。Eh2和Eh3只在毛细胞中开放，而在对照组（小脑颗粒细胞前体细胞，同样表达Atoh1）中处于关闭状态，提示Eh2和Eh3是毛细胞特异的调控元件（图1B）。科研人员构建了转基因小鼠，验证了Eh2和Eh3是特异在毛细胞中活跃的增强子（图1C）。为了进一步探究Eh2和Eh3在毛细胞发育中的功能，研究在小鼠中分别敲除Eh2和Eh3，毛细胞发育完全

正常或者仅有弱的发育异常。而同时敲除Eh2和Eh3，毛细胞数量明显减少；进一步发现，同时敲除三个*Atoh1*
增
强子
使毛细胞
数量进一步下降到
最低点。正常的耳蜗毛细胞数量约2800
个（图1D），敲除*Atoh1*
的三个增强子后，
毛细胞数量急剧减少到约86个（图1E
），上述实验结果表明*Atoh1*的三个增强子协同调控毛细胞的形成。

研究人员利用CUTRUN技术，揭示了Atoh1蛋白在耳蜗毛细胞中的全基因组结合位点，发现Atoh1可以直接结合到Eh1、Eh2和Eh3这三个增强子上，从而调控Atoh1自身的表达（图2）。该结果提供*Atoh1*
的三个增强子被敲除后，Atoh1表达水平显著下降，引起毛细胞数量急剧减少的分子机制。该研究为在成年耳蜗支持细胞内如何重新启动Atoh1的表达提供了理论指导，有助于促进未来成年耳蜗毛细胞再生恢复研究。

研究工作得到科技部、中科院、国家自然科学基金和上海市的支持，并获得脑智卓越中心分子细胞技术平台、光学成像平台以及实验动物平台（实验鼠房）的支持。

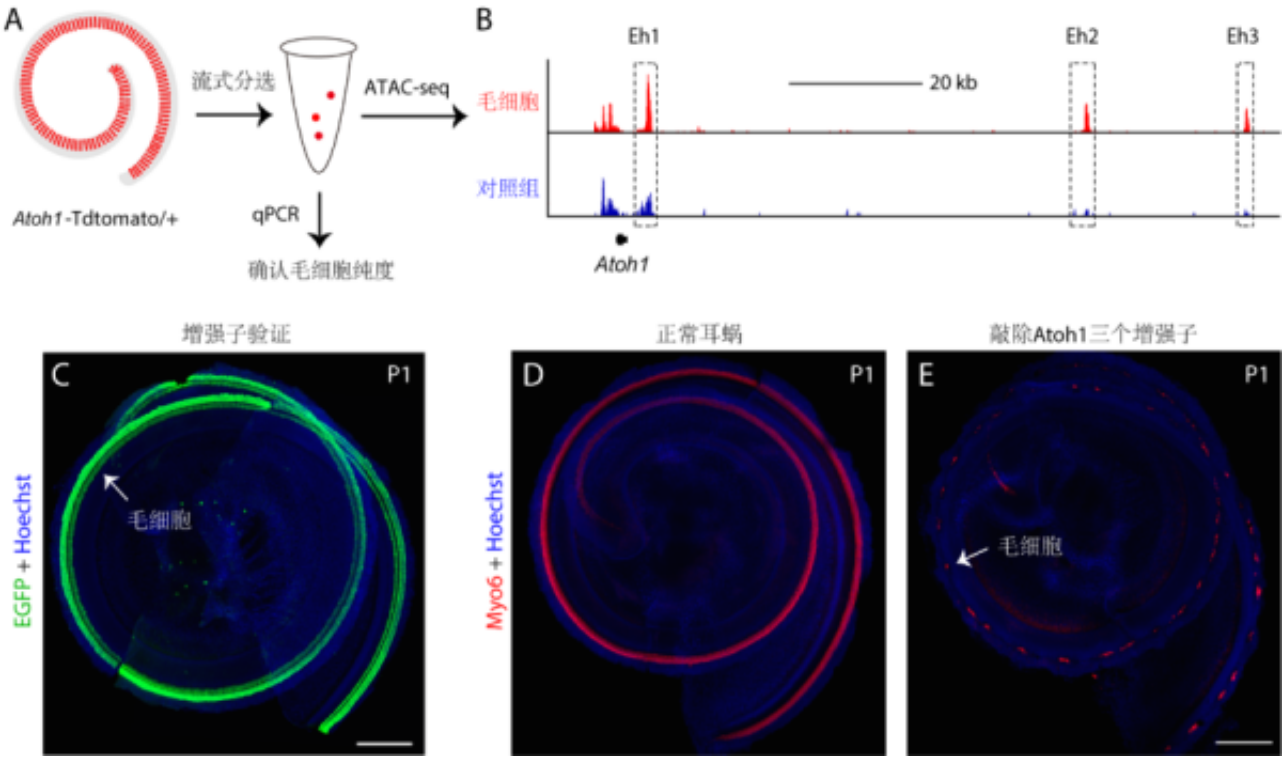


图1.耳蜗毛细胞ATAC-seq，增强子验证和功能分析。A、耳蜗毛细胞流式分选和ATAC-seq示意图；B、Eh2和Eh3在毛细胞中保持开放，而在对照组中处于关闭状态；C、转基因小鼠耳蜗染色分

*Atoh1*的三个增强子引起毛细胞数量急剧减少。

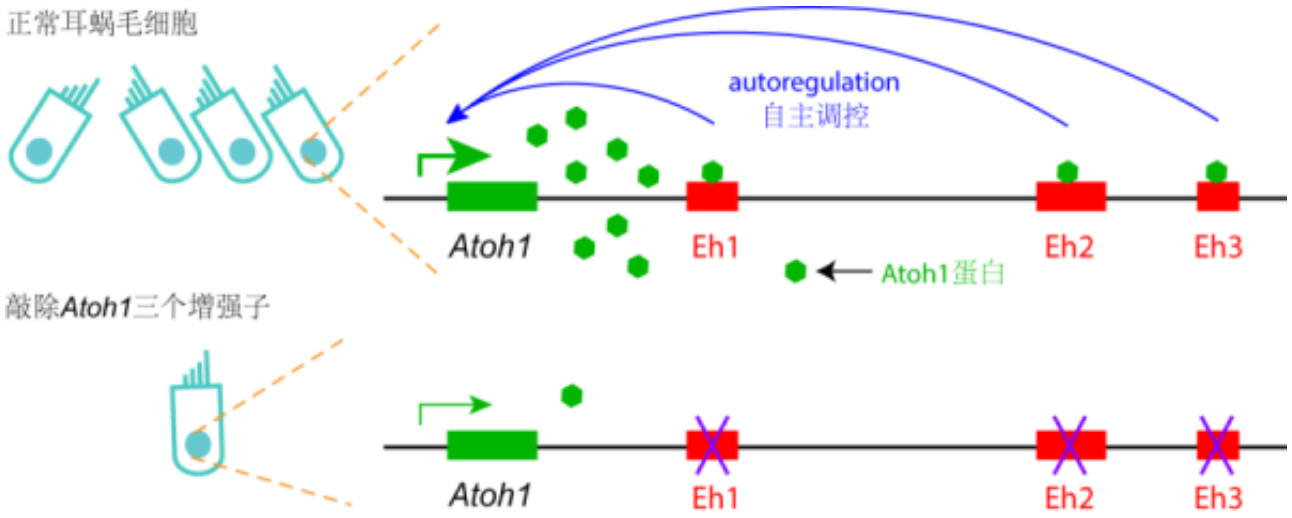


图2.*Atoh1*
和三个增强子的调控示意图。在正常毛细胞中，Atoh1蛋白可以直接结合到三个增强子（Eh1、Eh2和Eh3）上，促进Atoh1自身的表达。三个增强子被同时敲除，失去了自主调控作用，引起Atoh1表达下降，毛细胞数量减少。

研究团队单位：脑科学与智能技术卓越创新中心

更多 科学进展 请访问 https://www.iikx.com/news/progress/

本文版权归原作者所有，请勿用于商业用途，爱科学iikx.com转发