

VILNIAUS UNIVERSITETAS

Gyvybės mokslų centras

Biomokslų institutas



Genetikos katedra

Genetikos magistro studijų programos II kurso studentas

Martynas STRAGIS

Magistro baigiamasis darbas

MuA transpozazės komplekso pritaikymas atviro chromatino analizei

Darbo vadovė:

dr. Jevgenija Jakubovska

Vilnius 2020

Martynas Stragis

MuA transpozazės komplekso pritaikymas atviro chromatino analizei

SANTRAUKA

Atviro chromatino analizei naudojami Mnase-seq, Chip-seq ir DNase-seq metodai, kurie gali nustatyti epigenetinius pakitimus ir suteikia informacijos apie transkripcijos veiksmų prisijungimo vietas, chromatino prieinamumą ties promotoriais, stiprikliais ar kitais reguliatoriniais elementais. Tačiau šiems metodams yra reikalingas milijonus siekiantis ląstelių skaičius, todėl prarandama galimybė tirti retų populiacijų ląsteles. Transpozazėms prieinamo chromatino tyrimas, naudojant naujos kartos sekoskaitą arba ATAC-seq, tai metodas, kurį naudojant vienu metu galima fragmentuoti genomine DNR ir prijungti sekoskaitos adapterius. Tai sumažina reikalingą ląstelių kiekį nuo kelių milijonų iki keliasdešimt tūkstančių. Šis metodas naudojamas tirti chromatino prieinamumą, nustatyti reguliatorių elementų prisijungimo vietas. Šiuo metu ATAC-seq naudojami hiperaktyvi transpozazė, kuri vykdo tagmentaciją. Tačiau, egzistuoja ir kitos panašiu aktyvumu pasižyminčios transpozazės. Viena tokių tai pačiai RNazės H šeimai priklausanti MuA transpozazė. Šio darbo tikslas buvo išsiaiškinti, ar MuA transpozazė gali būti naudojama chromatino tagmentacijai ir ATAC-seq bibliotekos paruošimui. Šiame darbe parodoma, kad MuA transpozozosoma, kaip ir Tn5 transpozozosoma, geba tagmentuoti pasirinktos žmonių ląstelių linijos branduolius. Nustatytas optimalus ląstelių skaičius MuA vykdomai tagmentacijai. Paruoštos ATAC-seq bibliotekos naudojant MuA transpozazę bei skirtingus transpozonus, kurie gali suteikti metodui privalumų. Patikrinus šias bibliotekas sekoskaitos būdu buvo parodyta, kad MuA transpozozosoma gali būti taikoma atviro chromatino analizei.

VILNIUS UNIVERSITY
LIFE SCIENCES CENTER

Martynas Stragis

Analyzing accessible chromatin with MuA transposase

SUMMARY

Open chromatin analysis uses Mnase-seq, Chip-seq, and DNase-seq methods, which can detect epigenetic changes and provide information on transcription factor binding sites, chromatin availability at promoters, enhancers, or other regulatory elements. However, these methods require several million cells, thus losing the ability to study cells in rare populations. Assay for Transposase-Accessible Chromatin using sequencing or ATAC-seq is a method that can simultaneously fragment genomic DNA and attach sequencing adapters. This reduces the number of cells required from a few million to tens of thousands. This method is used to study the availability of chromatin, to determine the binding sites of regulatory elements. ATAC-seq currently uses a hyperactive transposase that performs tagmentation. However, there are other transposases with similar activity. One such is the MuA transposase belonging to the same RNase H family. Therefore the aim of this work was to investigate whether MuA transposase can be used for chromatin tagmentation and ATAC-seq library preparation. This work demonstrates that the MuA transpososome, like the Tn5 transpososome, can tagment the nuclei of a selected human cell line. The optimal number of cells required for tagmentation with MuA transposase was determined. ATAC-seq libraries were prepared using MuA transposase and several different transposons that may provide specific advantages. Libraries were validated by sequencing showing that MuA transpososome can be used to analyze accessible chromatin.