

УДК 576.32/36

ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОСТРАНСТВЕННОЙ ОРГАНИЗАЦИИ ГЕНОМА СПЕРМАТОЗОИДОВ И ФИБРОБЛАСТОВ МЫШИ МЕТОДОМ Hi-C

© 2014 г. Н.Р. Баттулин^{1,2}, В.С. Фишман^{1,2}, А.А. Хабарова¹,
М.Ю. Помазной¹, Т.А. Шнайдер^{1,2}, Д.А. Афонников^{1,2}, О.Л. Серов^{1,2}

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт цитологии и генетики
Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия;

² Новосибирский национальный исследовательский государственный университет,
Новосибирск, Россия,
e-mail: battulin@bionet.nsc.ru

Поступила в редакцию 10 сентября 2013 г. Принята к публикации 22 ноября 2013 г.

Пространственная организация генома эукариот играет важную роль в регуляции активности генов. Недавно разработанный метод Hi-C позволяет изучать хромосомные контакты в масштабе всего генома, однако до сих пор Hi-C не применялся для исследования пространственной организации генома половых клеток. В данной работе мы создали Hi-C ДНК-библиотеки из сперматозоидов и фибробластов мыши, а также оценили качество полученных библиотек. В результате работы показано, что метод Hi-C можно применять для исследования пространственной организации плотно упакованного генома сперматозоидов.

Ключевые слова: трехмерная организация генома, Hi-C, половые клетки, соматические клетки.

ВВЕДЕНИЕ

Пространственная организация генома эукариот играет важную роль в регуляции активности генов. До недавнего времени единственной возможностью исследования пространственной организации генома в ядре клеток было использование методов световой и электронной микроскопии. Несмотря на то что многие фундаментальные основы архитектуры ядра были открыты при помощи именно этих методик, микроскопия имеет ряд серьезных недостатков, ограничивающих получение новых знаний об организации генома. Среди таких ограничений можно выделить невозможность привязки микроскопических структур к конкретным последовательностям в масштабе всего генома, а также не достаточно высокое пространственное разрешение. Однако в последнее время активно развивались молекулярно-биологические методы, позволяющие реконструировать физические контакты разных районов хромосом. Первым

методом для исследования пространственного взаимодействия двух специфических районов генома без привлечения микроскопии был метод 3C (chromosome conformation capture – захват конформации хромосом) (Dekker *et al.*, 2002). Позже на основе метода 3C было разработано целое семейство методов исследования пространственной организации генома (см. обзор (Баттулин и др., 2012)). В 2009 г. появилась модификация метода 3C, позволяющая картировать хромосомные контакты в масштабе всего генома, метод получил название Hi-C (Lieberman-Aiden *et al.*, 2009). Метод Hi-C дает возможность исследования новых аспектов организации и функционирования генома соматических и стволовых клеток. Так, было показано, что геном в клетках млекопитающих организован в так называемые «топологические домены» – протяженные участки хромосом, для которых характерно большое количество внутримолекулярных контактов. Причем характер распределения топологических доменов по ге-

ному остается одним и тем же и в соматических клетках (фибробласты и нейроны головного мозга), и в эмбриональных стволовых клетках. Более того, топологические домены эволюционно консервативны и не отличаются у человека и мыши. Таким образом, организация в топологические домены, по-видимому, представляет собой фундаментальную характеристику генома млекопитающих (Kalhor *et al.*, 2012). Проведение подобных полногеномных исследований стало возможным лишь в последние 5 лет, и пока остаются неизвестными механизмы, поддерживающие и устанавливающие структуру топологических доменов. Возможно, что общие принципы пространственной организации генома устанавливаются на самых ранних стадиях развития, или же они уже существуют в геноме половых клеток при оплодотворении.

Известно, что у млекопитающих организация генетического материала сперматозоидов сильно отличается от организации генома соматических клеток. Для уменьшения размера сперматозоида при его созревании происходят специальные преобразования, которые, в первую очередь, касаются ядра. Ядро уплотняется за счет уникального механизма конденсации хроматина, при котором из ядра практически полностью удаляются гистоны, а ДНК связывается с особыми белками – протаминами. Стоит подчеркнуть, что ни одна из молекулярно-биологических методик определения взаимодействующих районов ДНК не применялась на половых клетках, в частности сперматозоидах, поэтому неизвестно, выполняются ли общие принципы пространственной организации генома, обнаруженные у соматических клеток, в геноме сперматозоидов. Поэтому определение взаимодействующих районов ДНК в ядре сперматозоида является актуальной научной задачей.

ОРГАНИЗАЦИЯ ХРОМАТИНА В СПЕРМАТОЗОИДАХ

В отличие от всех других клеточных типов, большинство локусов ДНК в ядре сперматозоидов связаны не с гистонами, а с другими белками – протаминами. Протамины представляют собой относительно небольшие положительно заряженные белки. У большинства исследованных

млекопитающих «традиционная» гистоновая укладка хроматина в сперматозоиде сохраняется лишь в небольшой (порядка 1 %) части генома. Интересно, что человек выбивается из общего правила, по некоторым данным, от 10 до 15 % генома сперматозоидов человека имеют гистоновую упаковку (Bench *et al.*, 1996; Gatewood *et al.*, 1990; Wykes, Krawetz, 2003). Специфическую упаковку генома сперматозоиды приобретают по мере созревания. Реорганизация и компактизация хроматина, по-видимому, происходят сходным образом у всех млекопитающих. По мере созревания сперматозоида хроматин переходит из «открытого» активного состояния к очень компактному, электронно-плотному, полностью неактивному состоянию. Все наши современные знания о тонкой организации генома сперматозоидов получены на основе данных электронной и атомно-силовой микроскопии. Так, по данным электронной микроскопии, ДНК в сперматиде организована типичным для соматических клеток способом, т. е. формирует ~ 11 нм узелки и 30 нм фибриллы (Horowitz *et al.*, 1994). Позднее такая структура преобразуется в фибриллы диаметром 50–100 нм, значительно больше нуклеосом. По мере дальнейшей конденсации хроматина эти фибриллы объединяются и становятся настолько плотными, что не могут быть разрешены методами электронной микроскопии. Более глубокий анализ структуры ДНК зрелых сперматозоидов возможен только при применении специальных методов деконденсации хроматина. Исследование частично деконденсированного хроматина сперматозоидов методами электронной микроскопии показало существование двух типов структурных единиц различного размера. Первый тип имеет характерный размер порядка нуклеосомы (цилиндр с диаметром ~ 10 нм и высотой ~ 5 нм), второй имеет форму тора с диаметром 60–100 нм, толщиной в 20 нм и с отверстием в центре. Интересно, что тороиды, с помощью которых компактизируются участки ДНК около 50 т.п.н., *in vitro* образуются спонтанно при смешивании ДНК и протаминов (Brewer *et al.*, 1999).

Тем не менее такие структурные особенности хроматина соматических клеток, как хромосомные территории, петлевые домены и районы прикрепления к матриксу (matrix attachment regions, MAR), по-видимому, сохраняются и в

хроматине сперматозоидов даже после замены гистонов и общей конденсации хроматина. FISH с использованием хромосомоспецифических зондов показала наличие хромосомных территорий в ядре зрелого сперматозоида человека (Zalenskaya *et al.*, 2004). Стоит подчеркнуть, что описанные структуры были открыты методами микроскопии и до сих пор нет данных, позволяющих связать эти структуры с конкретными последовательностями ДНК в масштабе всего генома. Поэтому не известно, сохраняется ли типичная для соматических и стволовых клеток пространственная организация генома с помощью топологических доменов (Dixon *et al.*, 2012) в сперматозоидах.

До настоящего времени не было опубликовано работ по исследованию пространственной организации генома в сперматозоидах 3С методами. Поэтому остается неизвестным, возможно ли исследование очень плотного хроматина сперматозоидов методами 3С. В данной работе мы создали Hi-C ДНК-библиотеки из сперматозоидов и фибробластов мыши, а также оценили качество полученных библиотек. В результате работы показано, что метод Hi-C можно применять для исследования пространственной организации плотноупакованного генома сперматозоидов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Приготовление библиотеки взаимодействующих районов ДНК проводили по методике, описанной ранее (Kalhor *et al.*, 2012), с модификациями. Подвижные сперматозоиды выделяли из придатков семенника мышей линии C57/bl по методике, описанной Врукczynska с соавт. (2010). Выделенные подвижные сперматозоиды фиксировали в суспензии, а затем собирали центрифугированием, как описано Belton с соавт. (2012). Эмбриональные фибробласты выделяли из 12,5-дневных эмбрионов мыши линии C57/bl, как описано в работе Kruglova с соавт. (2010). Фиксацию фибробластов проводили в прикрепленном к культуральному пластику состоянии, как описано Belton с соавт. (2012), затем собирали скрепером. Для дальнейших процедур использовали образцы, содержащие по 25 млн фиксированных клеток. Лизис клеток, иммобилизацию хроматина на магнитных шариках и обработку хроматина

эндонуклеазой рестрикции *Hind*III проводили по методике, описанной Kalhor с соавт. (2012). Для достраивания липких концов ДНК использовали смесь дезоксирибонуклеозид-5'-трифосфатов dATP, dTTP, dGTP и biotin-14-dCTP. Лигирование сближенных в пространстве концов молекул ДНК проводили по методике, описанной ранее (Kalhor *et al.*, 2012). Удаление биотинилированных нуклеотидов с концов молекул ДНК, не участвовавших в лигировании, проводили с помощью T4 полимеразы по методике, описанной Belton с соавт. (2012). После обработки T4 полимеразой проводили оценку качества ДНК библиотеки. Наличие признаков деградации ДНК проверяли при помощи электрофореза в 0,8 %-м агарозном геле. Наличие продуктов лигирования сближенных в пространстве концов молекул ДНК проверяли полимеразной цепной реакцией с праймерами mGAPDH3 TATCAA GGGTGCCCGTCACCTTCAGC и mGAPDH4 GGGCTTTTATAGCACGGTTATAAAGT, условия проведения ПЦР описаны Belton с соавт. (2012). Подготовку ДНК-библиотек к секвенированию и секвенирование проводили, как описано Kalhor с соавт. (2012). Секвенирование проводили на платформе Illumina GAII.

Обработка данных секвенирования

Первичные данные массового параллельного секвенирования (МПС) в формате fastq после слияния парных ридов (листинг скрипта для слияния парных ридов доступен по запросу) были проанализированы с использованием библиотек hiclib и mirnylib, разработанных Imakaev *et al.*, 2012 (исходный код доступен по адресу: <https://bitbucket.org/mirnylab/hiclib>). Для запуска скриптов использовался вычислительный кластер Новосибирского государственного университета (<http://www.nusc.ru/>) под управлением ОС SUSE Linux Enterprise Server 11. Для картирования последовательностей, полученных в результате секвенирования, была использована версия генома *Mus musculus* mm9 (доступно для скачивания на сайте <http://genome.ucsc.edu/index.html>). Картирование было проведено программой Bowtie. Для анализа результатов картирования использовались данные лог-файлов программы Bowtie и пакета hiclib, а также данные размера базы данных fragment_dataset.hdf5.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Создание и проверка качества ДНК-библиотек Hi-C

Для того чтобы показать, возможно ли использование метода Hi-C для исследования пространственной организации генома сперматозоидов, мы приготовили ДНК-библиотеки методом Hi-C из сперматозоидов и фибробластов мыши. Эмбриональные фибробласты мыши были выбраны в качестве контрольной линии соматических клеток. Для приготовления Hi-C библиотеки мы использовали модификацию метода Hi-C, названную «связанный конформационный захват» (tethered conformation capture). Связанный конформационный захват позволяет уменьшить вероятность появления артефактных последовательностей в библиотеке Hi-C по сравнению с традиционным методом (Kalhor *et al.*, 2012).

Проверка качества полученных библиотек является важным этапом работы, поскольку массовое параллельное секвенирование является дорогостоящей процедурой. Без привлечения секвенирования судить о качестве библиотек можно по таким параметрам, как: 1) отсутствие признаков деградации ДНК; 2) наличие продуктов лигирования сближенных в пространстве молекул ДНК.

Важной характеристикой ДНК-библиотеки Hi-C является длина молекул ДНК в библио-

теке. Распределение длин фрагментов в ДНК-библиотеках определяли электрофорезом в 0,8 % агарозном геле, результаты представлены на рис. 1, а. Видно, что основная масса библиотеки представлена молекулами длиной более 10 000 п.н. При этом доля коротких фрагментов (менее 3 000 п.н.) незначительна, что говорит о высоком качестве библиотек. То есть молекулы ДНК не подвергались деградации при приготовлении библиотек. Деградация Hi-C библиотек может происходить по различным причинам, таким как фрагментация ДНК во время гомогенизации клеток, недостаточное количество ингибиторов протеаз на стадии лизиса клеток, термическая деградация при растворении хроматина, переваривание специфическими нуклеазами, присутствующими в клетках. В любом случае деградация молекул ДНК приводит к увеличению количества артефактных взаимодействий в получаемых данных, а значит, резко снижает их качество.

В Hi-C библиотеке информацию о пространственном расположении молекул ДНК в ядре несут молекулы, являющиеся продуктами лигирования сближенных в пространстве концов ДНК. Формирование таких продуктов лигирования является результатом трех ферментативных реакций: расщепление ДНК эндонуклеазой рестрикции, достраивание образовавшихся липких концов ДНК полимеразой и лигированием концов ДНК (Lieberman-Aiden *et al.*, 2009). Недостаточная эффективность про-

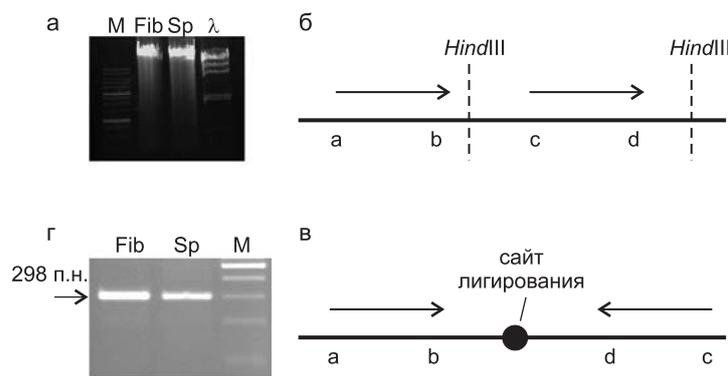


Рис. 1. Проверка качества Hi-C ДНК библиотек фибробластов и сперматозоидов мыши.

а – электрофореграмма Hi-C библиотек в 0,8 %-м агарозном геле. Fib – Hi-C библиотека фибробластов, Sp – Hi-C библиотека сперматозоидов, M – маркер длины 1000 bp, λ – ДНК фага λ, гидролизованная эндонуклеазой HindIII; б – схема ориентации сайтов отжига праймеров для 3С ПЦР в геноме; в – схема ориентации сайтов отжига праймеров для 3С ПЦР после приготовления Hi-C библиотеки; г – результаты 3С-ПЦР, ожидаемый размер продукта амплификации –298 п.н. Fib – Hi-C библиотека фибробластов, Sp – Hi-C библиотека сперматозоидов, M – маркер длины 100 bp.

хождения любой из этих реакций может привести к невозможности получения качественных результатов, поэтому важно показать наличие продуктов лигирования в ДНК-библиотеке до проведения секвенирования. Для проверки наличия в библиотеке продуктов лигирования сближенных в пространстве молекул ДНК мы провели стандартную 3С-ПЦР для участка гена *Gapdh* мыши. На рис. 1, б, в представлены схемы ориентации сайтов отжига праймеров в геноме (рис. 1, б) и после приготовления Hi-C библиотеки (рис. 1, в). Как видно из схемы, при использовании данной пары праймеров продукт ПЦР может получиться только при лигировании смежных рестрикционных фрагментов. ПЦР с использованием праймеров *Gapdh3-Gapdh4* показал присутствие ожидаемого фрагмента в обеих библиотеках (рис. 1, г). Следовательно, все этапы приготовления библиотек прошли успешно, библиотеки готовы к проведению массового параллельного секвенирования.

Секвенирование библиотек проводили на платформе Illumina GAII по методике парного секвенирования (paired-end sequencing) с длиной прочтения 50 п.н. В результате было получено 119,35 млн ридов для Hi-C библиотеки сперматозоидов и 153,37 млн ридов для Hi-C библиотеки эмбриональных фибробластов мыши (рис. 2). Для того что-

бы оценить качество полученных данных, все дальнейшие манипуляции с данными секвенирования выполнялись параллельно с данными по секвенированию Hi-C библиотеки эмбриональных стволовых клеток (ЭСК), опубликованными ранее (Dixon *et al.*, 2012). Далее проводили картирование ридов на геном мыши. Левый и правый концы каждого рида (5' и 3' соответственно) картировали отдельно по методике, описанной в работе Имакаева с соавт. (Imakaev *et al.*, 2012). Количество достоверно картированных ридов для каждой из библиотек представлено на рис. 2. Далее проводили фильтрацию картированных ридов от артефактных последовательностей, которые могли возникнуть на этапе приготовления ДНК библиотек и которые не несут информации о пространственной конфигурации молекул ДНК. В результате из дальнейшего анализа были исключены риды, картированные только с одной из сторон, риды, возникшие в результате замыкания в кольцо отдельного фрагмента ДНК, и риды, картированные далеко от сайта узнавания *HindIII* в геноме. Фильтрацию проводили по методике, описанной в работе Имакаева с соавт. (Imakaev *et al.*, 2012). Количество ридов, картированных с двух сторон и прошедших фильтрацию, представлено на рис. 2. Именно данные, прошедшие фильтрацию, несут информацию

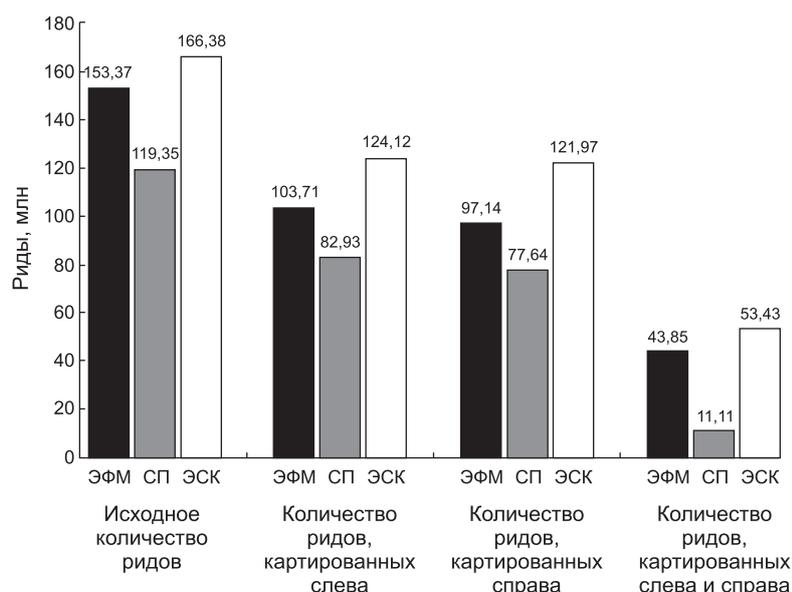


Рис. 2. Изменение количества ридов библиотек Hi-C по мере прохождения этапов обработки данных.

ЭФМ – данные для Hi-C библиотеки фибробластов; СП – сперматозоидов; ЭСК – эмбриональных стволовых клеток.

о пространственной организации исследуемого генома. Можно отметить, что доля качественных данных в разных библиотеках неодинакова. Так, для Hi-C библиотеки фибробластов доля ридов, картированных с двух сторон и прошедших фильтрацию, составляет ~ 29 %, для Hi-C библиотеки сперматозоидов ~ 9 %, а для Hi-C библиотеки ЭСК ~ 32 %. По-видимому, более плотная укладка генома сперматозоидов приводит к возникновению большего количества артефактных последовательностей в процессе приготовления Hi-C библиотеки, что уменьшает долю информативных ридов в исходных данных. Однако можно сделать вывод, что плотная укладка генома сперматозоида, тем не менее, не препятствует получению качественных данных с помощью метода Hi-C.

Для того чтобы оценить, насколько полно полученные данные отражают реальную картину пространственной конфигурации генома, важно понять, насколько полно полученные данные покрывают геном. Всего в геноме мыши около 840 000 рестрикционных фрагментов *HindIII*. Мы оценили количество рестрикционных фрагментов *HindIII*, для которых была получена информация об их пространственных взаимодействиях. Для Hi-C библиотеки фибробластов количество таких фрагментов *HindIII* составило около 760 000, для Hi-C библиотеки сперматозоидов – 730 000, для контрольных данных по ЭСК – 770 000. Поскольку не все фрагменты можно картировать, например, фрагменты в районе повторов ДНК не поддаются однозначному картированию, а некоторые фрагменты плохо секвенируются из-за особенностей первичной структуры ДНК, то естественно, что в полученных данных мы не можем увидеть все фрагменты *HindIII*. Однако факт, что в полученных данных и для фибробластов, и для сперматозоидов имеется информация о пространственных взаимодействиях значительной части фрагментов *HindIII*, позволяет заключить, что полученные данные достаточно полно покрывают весь геном.

Еще одна важная характеристика данных Hi-C – это количество взаимодействий между различными фрагментами генома. Если предположить, что каждый рестрикционный фрагмент может взаимодействовать с любым другим рестрикционным фрагментом, то получится бо-

лее 10^{11} различных вариантов таких взаимодействий. Мы оценили количество различных взаимодействий в полученных данных. Для Hi-C библиотеки фибробластов число уникальных взаимодействий составило около 36,3 млн, для Hi-C библиотеки сперматозоидов – 9,12 млн, для контрольных данных по ЭСК – 49,54 млн. Видно, что реальное число взаимодействий, наблюдаемое в эксперименте, значительно ниже теоретически возможного, поскольку, вероятно, не все они существуют *in vivo*. Кроме того, для того чтобы наблюдать в данных 10^{11} возможных комбинаций взаимодействий, необходимо секвенировать Hi-C библиотеку с глубиной не менее чем 10^{11} ридов, что невозможно на современном уровне развития технологии секвенирования. Однако можно сделать вывод, что количество уникальных взаимодействий фрагментов генома в полученных данных для фибробластов и сперматозоидов по порядку величины незначительно отличается от количества уникальных взаимодействий фрагментов генома для опубликованных данных по ЭСК (Dixon *et al.*, 2012). А значит, полученных данных достаточно для исследования общих принципов пространственной организации генома половых и соматических клеток.

Таким образом, мы впервые применили метод Hi-C для получения ДНК-библиотеки взаимодействующих районов генома сперматозоида. Было показано, что применение методики приготовления ДНК библиотеки взаимодействующих районов генома методом Hi-C позволяет получать качественные данные для исследования пространственной организации генома сперматозоидов.

БЛАГОДАРНОСТИ

Исследование выполнено при поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации, № 2012-1.2.1-12-000-1013-014 соглашение № 8095, а также при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 14-04-31367 мол_а.

ЛИТЕРАТУРА

Баттулин Н.Р., Фишман В.С., Орлов Ю.Л. и др. 3С-методы в исследованиях пространственной организации ге-

- нома // Вавилов. журн. генет. и селекции. 2012. Т. 16. № 4/2. С. 872–878.
- Belton J.-M., McCord R.P., Gibcus J.H. *et al.* Hi-C: A comprehensive technique to capture the conformation of genomes // *Methods*. 2012. V. 58. No. 3. P. 268–276.
- Bench G.S., Friz A.M., Corzett M.H. *et al.* DNA and total protamine masses in individual sperm from fertile mammalian subjects // *Cytometry*. 1996. V. 23. No. 4. P. 263–271.
- Brewer L.R., Corzett M., Balhorn R. Protamine-induced condensation and decondensation of the same DNA molecule // *Science*. 1999. V. 286. No. 5437. P. 120–123.
- Brykczynska U., Hisano M., Erkek S. *et al.* Repressive and active histone methylation mark distinct promoters in human and mouse spermatozoa // *Nat. Struct. Mol. Biol.* 2010. V. 17. No. 6. P. 679–587.
- Dekker J., Rippe K., Dekker M. *et al.* Capturing chromosome conformation // *Science*. 2002. V. 295. P. 1306–1311.
- Dixon J.R., Selvaraj S., Yue F. *et al.* Topological domains in mammalian genomes identified by analysis of chromatin interactions // *Nature*. 2012. V. 485. P. 376–380.
- Gatewood J.M., Cook G.R., Balhorn R. *et al.* Isolation of four core histones from human sperm chromatin representing a minor subset of somatic histones // *J. Biol. Chem.* 1990. V. 265. No. 33. P. 20662–20666.
- Horowitz R.A., Agard D.A., Sedat J.W. *et al.* The three-dimensional architecture of chromatin in situ: electron tomography reveals fibers composed of a continuously variable zig-zag nucleosomal ribbon // *J. Cell. Biol.* 1994. V. 125. No. 1. P. 1–10.
- Imakaev M., Fudenberg G., McCord R.P. *et al.* Iterative correction of Hi-C data reveals hallmarks of chromosome organization // *Nat. Meth.* 2012. V. 9. P. 999–1003.
- Kalhor R., Tjong H., Jayathilaka N. *et al.* Genome architectures revealed by tethered chromosome conformation capture and population-based modeling // *Nat. Biotechnol.* 2012. V. 30. P. 90–98.
- Kruglova A.A., Matveeva N.M., Gridina M.M. *et al.* Dominance of parental genomes in embryonic stem cell/fibroblast hybrid cells depends on the ploidy of the somatic partner // *Cell Tissue Res.* 2010. V. 340. No. 3. P. 437–450.
- Lieberman-Aiden E., van Berkum N.L., Williams L. *et al.* Comprehensive mapping of long-range interactions reveals folding principles of the human genome // *Science*. 2009. V. 326. P. 289–293.
- Wykes S.M., Krawetz S.A. The structural organization of sperm chromatin // *J. Biol. Chem.* 2003. V. 278. No. 32. P. 29471–29477.
- Zalenskaya I.A., Zalensky A.O. Non-random positioning of chromosomes in human sperm nuclei // *Chromosome Res.* 2004. V. 12. No. 2. P. 163–173.

INVESTIGATION OF THE SPATIAL GENOME ORGANIZATION OF MOUSE SPERM AND FIBROBLASTS BY THE Hi-C METHOD

N.R. Battulin^{1,2}, V.S. Fishman^{1,2}, A.A. Khabarova¹, M.Yu. Pomaznoy¹,
T.A. Shnaider^{1,2}, D.A. Afonnikov^{1,2}, O.L. Serov^{1,2}

¹ Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia,
e-mail: battulin@bionet.nsc.ru;

² Novosibirsk National Research State University, Novosibirsk, Russia

Summary

The spatial organization of an eukaryotic genome plays an important role in the control of nuclear gene expression. The new Hi-C method allows investigation of the three-dimensional architecture of whole genomes. It has not been applied to study of the spatial configuration of a germ cell genome hitherto. Here we describe a protocol for production and quality control of Hi-C libraries from fibroblasts and sperm cells. Our results demonstrate that the Hi-C method can be used for studying the spatial organization of the densely packed sperm genome.

Key words: spatial genome organization, Hi-C, germ cells, somatic cells.