

Maja Szymańska-Lejman

Temat pracy: Impact of DNA interhomolog polymorphism on meiotic crossover formation at the genome-wide and recombination hotspot scale in *Arabidopsis thaliana*

(Wpływ polimorfizmu DNA pomiędzy homologami na formowanie mejotycznych crossing-over w skali całogenomowej i na poziomie gorących miejsc rekombinacji u *Arabidopsis thaliana*)

Rekombinacja mejotyczna crossing-over jest kluczowym procesem polegającym na wzajemnej wymianie fragmentów chromosomów homologicznych, który prowadzi do tworzenia nowych kombinacji alleli w organizmach hybrydowych. Podczas rekombinacji mejotycznej, polimorfizm DNA pomiędzy homologami może mieć wpływ na częstość i rozkład crossing-over wzdłuż chromosomów. Jednak efekt ten pozostaje wciąż słabo poznany.

Aby zbadać związek między polimorfizmem, a rekombinacją w skali całego genomu zoptymalizowałam metodę genotypowania przez sekwencjonowanie (GBS), która umożliwia mapowanie zdarzeń crossing-over w różnych krzyżówkach *Arabidopsis thaliana*. Porównanie chromosomowego rozkładu crossing-over w liniach typu dzikiego i w tle mutantów *msh2*, które nie są zdolne do wykrywania błędnie sparowanych zasad w DNA, ujawniło znaczące różnice. Polegają one na tym, że miejsca bardziej polimorficzne, położone w regionach przycentromerowych są mniej aktywne rekombinacyjnie w mutancie *msh2*, natomiast crossing-over zachodzi z wyższą częstością w regionach subtelerowych, które zawierają znacznie mniej polimorfizmów.

Ponadto, opracowałam nowe narzędzie do badania rozkładu crossing-over na poziomie gorących miejsc rekombinacji, które nazwaliśmy *typowaniem nasion* (ang. *seed-typing*). Metoda ta umożliwia zarówno pomiar częstości crossing-over, jak i precyzyjne mapowanie miejsc zajścia poszczególnych zdarzeń rekombinacyjnych. Korzystając z tego podejścia, zidentyfikowałam bardzo polimorficzny interwał ChP z trzema gorącymi miejscami rekombinacji: *Aro*, *Coco* i *Nala*. Nasze wyniki pokazują, że centra gorących miejsc rekombinacji są praktycznie pozbawione polimorfizmów pojedynczego nukleotydu (ang. SNP), ale obecność SNP w ich bezpośredniej bliskości stymuluje aktywność crossing-over w danym miejscu. Ponadto, zmiany strukturalne otaczające badany interwał chromosomowy nie mają wpływu na częstość rekombinacji, jeśli nie obejmują bezpośrednio gorących miejsc rekombinacji. Przy użyciu linii *A. thaliana* z naturalną delecją w *Coco* lub po wygenerowaniu sztucznej delecji przy pomocy CRSIPR/Cas9, potwierdziliśmy, że u *Arabidopsis* nie występuje współzawodnictwo między blisko zlokalizowanymi gorącymi miejscami rekombinacji.

Dodatkowo, zbadaliśmy związek pomiędzy SNP, MSH2 i rekombinacją poprzez mapowanie crossing-over w tle mutantu *msh2*. Ujawniło to interesującą tendencję polegającą na tym, że bardziej polimorficzne gorące miejsca rekombinacji są mniej aktywne po wyłączeniu systemu rozpoznawania błędnie sparowanych zasad (tj. w mutancie *msh2*). Bezpośredni wpływ polimorfizmów został sprawdzony w liniach, które są heterozygotyczne tylko w badanym interwale. Linie te, wykazywały wyższą częstość rekombinacji w badanym interwale w porównaniu z pełni homozygotycznymi liniami wsobnymi. Efekt ten nie był widoczny w roślinach posiadających mutację w genie *MSH2*, co sugeruje, że MSH2 promuje zachodzenie crossing-over w gorących miejscach rekombinacji otoczonych regionami o wysokiej gęstości SNP.

Słowa kluczowe: Mejoza, gorące miejsca rekombinacji, polimorfizm, MSH2, *Arabidopsis*