

SZAKDOLGOZAT

Tóth Gréta Zsófia

2024

A meiotikus rekombináció frekvenciájának mérése immunohisztokémiai módszerekkel kenyérbúzában

Tóth Gréta Zsófia

Kertészmérnöki alapképzési szak, nappali tagozat

Genetika és Biotechnológia Intézet, Növénybiotechnológia Tanszék

Belső témavezető: Benyóné Dr. György Zsuzsanna, egyetemi tanár, MATE GBI, Növénybiotechnológia tanszék, Kertészeti Növénygenetika csoport

Külső témavezető: Sepsi Adél, PhD, Tudományos Főmunkatárs, ATK, MGI, HUN-REN

Tartalmi kivonat

A rekombináció az egyik legfontosabb biológiai folyamat a meiózis során. Alapvető szerepe van a genetikai sokféleség kialakításában és elősegíti a homológ kromoszómák szegregációját, ami kulcsfontosságú a megfelelő fertilitás eléréséhez. A ma termesztett kenyérbúza genetikai sokfélesége a több ezeréves domesztikáció hatására beszűkült, ami megnehezíti a klímaváltozás hatásaival szembeni védekezést (új betegségek, hőstressz, szárazság). A nagyobb genetikai diverzitás kialakítása érdekében olyan új módszerek fejlesztésére van szükség, amelyek hozzájárulnak a búza genetikai hátterének kiszélesítéséhez, vagy a jelenlegi genetikai háttér hatékonyabb kiaknázásához, új előnyös tulajdonság kombinációk megjelenéséhez vezetve. A jelen vizsgálat a homológ rekombináció folyamatának hatékonyabb vizsgálatát kívánta szolgálni, amely hosszútávon elősegítheti a rekombináció gyakoribbá tételét és helyzetének eltolását a jelenlegi rekombinációs forrópontokról, ezáltal növelve a búza sokféleségét.

A rekombináció eredményeként létrejött genetikai átkeresztezések (crossing over, CO) száma a kromoszómapárok (bivalensek) konformációjából megbecsülhető, azonban ez gyakran a CO-ek alul becsléséhez vezet. A jelen munkában bemutatott módszer a DNS hibajavításban részt vevő HEI10 rekombinációs fehérje sejten belüli kimutatását végezte el kenyérbúzában. A HEI10 immunjelölés kombinálása a szinaptonémás komplex ZYP1 fehérjéjének immunjelölésével lehetővé tette a rekombináció pontosabb vizsgálatát a meiózis profázisa során. Két egymástól alapvetően különböző sejt fixálási és preparálási technikát hasonlítottunk össze, amelyek közül az első nem denaturáló módon, keresztkötések kialakításával fixálta a sejteket és a bennük található fehérjéket. A második módszer alkalmazásakor denaturáló módon, a fehérjék kicsapásával és az antigének epitópjainak feltárásával készítettük elő a

sejteket az immunjelölésre. Vizsgálataink során az immunjelölést összekapcsoltuk nagy felbontású mikroszkópiával, 3D képalkotással majd a kapott adatokat statisztikai módszerekkel összevetettük. Eredményeink azt mutatták, hogy az általunk vizsgált búzafajtákban a denaturáló fixálási mód könnyebben kiértékelhető eredményt nyújt, hiszen itt szignifikánsan csökkent a háttérzaj aránya, megkönnyítve a specifikus jel leszámolását.

Kísérleteink igazolták a HEI10 ellenanyag által nyújtott immunjel specifikusságát, amely az elvárásnak megfelelően kolokalizált a szinaptonémás komplexet jelölő ZYP1 fehérje jelével. A kialakított módszer alkalmas a rekombinációs gyakoriság pontos számbeli és térbeli meghatározására és hozzájárulhat a rekombináció változásainak összehasonlító vizsgálatához pl. mutáns- vagy különböző stresszfactoroknak kitett növények elemzésekor. Az előállított adatsorok lehetővé teszik a különböző genotípusok rekombinációs folyamatainak statisztikai összehasonlítását és a jövőben olyan nemesítési vonalak kiválogatását, amelyekben a rekombinációs események száma megemelkedett.