

Univerzita Karlova v Praze
Přírodovědecká fakulta

Doktorský studijní program: Molekulární a buněčná biologie, genetika a virologie

Abstrakt



Genetika a genomika hybridní sterility

Mgr. Tanmoy Bhattacharyya

Školitel: Prof. MUDr. Jiří Forejt, DrSc.

Praha 2013

Abstrakt

Samčí hybridní sterilita je překážkou v přenosu genů mezi příbuznými druhy, což je významným předpokladem pro vznik nových druhů. F1 hybridní samci vzniklí křížením samice PWD/Ph (poddruhu *Mus m. musculus*) a samce C57BL/6J nebo B6 (*Mus m. domesticus*) mají azoospermii a jsou sterilní (PB6F1), zatímco hybridů z recipročního (B6PF1) křížení jsou částečně fertillní. Nadměrně převládající vliv chromosomu (Chr) X na sterilitu samčích hybridů představuje jev, který je při vzniku nových druhů široce zastoupen. V této studii jsme mapovali dva fenotypově odlišné lokusy pro hybridní sterilitu *Hstx1* a *Hstx2* do společné oblasti o délce 4,7 Mb na Chr X. Analýza meiotické profáze I odhalila u sterilních samců PB6F1 meiotický blok ve střední fázi pozdního pachytenu a testem TUNEL byla prokázána apoptóza blokových spermatocytů. U sterilních samců byla v 95 % pachytenních spermatocytů vizualizací protilátkami anti SYCP1, HORMAD2 a SYCP3 zjištěna asynapse jednoho či více autosomů. Fosforylovaná forma histonu H2AFX, normálně pozorovaná pouze v pohlavním tělisku obsahujícím chromosomy XY, barvila nespárované autosomy, zatímco abnormální pohlavní tělisko v 90 % chromosomů střední fáze pozdního pachytenu absorbovalo jeden či dva univalenty. Nespárované pachytenní chromosomy byly navíc obarveny ATR a RAD51/DMC1, což poukazuje na přetrvání neopravených dvouvláknových zlomů DNA. Analýza exprese X-vázaných genů v jednotlivých buňkách pomocí RNA FISH a celogenomového expresního profilování na Affymetrix GeneChips prokázala u sterilních hybridů PB6F1 poruchu meiotické inaktivace sex chromozomů (MSCI) ve středním pachytenu. Prokázali jsme také silnou souvislost výše uvedených fenotypů s lokusem 4,7 Mb *Hstx2*^{PWD} na Chr X. U oocytů F1 hybridních samic se vyskytoval stejný typ problémů párování chromosomů, avšak s poloviční frekvencí výskytu. Většina oocytů s pachytenní asynapsí byla před porodem eliminována. Na rozdíl od hybridních samců téhož genotypu, genotyp *Prdm9* či *Hstx2* frekvenci výskytu oocytů s asynapsí nezměnil. Zjistili jsme také, že F1 hybridní samice s homozygotní alelou *Hstx2*^{PWD} jsou fertillní, což je v rozporu s Mullerovou teorií dominance, která by měla představovat vysvětlení Haldanova pravidla. S cílem analyzovat možnou příčinu meiotické asynapse jsme porovnali výskyt rekombinace v celém genomu kvantifikací MLH1 nodulů v parentálních kmenech, v souboru částečně se překrývajících subkonsomických kmenů B6.PWD-Chr X.# a v jejich sterilních a fertillních hybridech. Překvapivě jsme zjistili, že lokus kontrolující frekvenci rekombinace se nachází ve stejném 4,7Mb intervalu jako gen pro hybridní sterilitu *Hstx1/2*. Souhrnně lze říci, že jsme odhalili celkové genetické a mechanické základy sterility F1 hybridů a její možné souvislosti s genetikou meiotické rekombinace.