

## LOCUS *Ph1*, SUPRESOR PAROWANIA CHROMOSOMÓW HOMOEOLOGICZNYCH U PSZENICY (*Triticum aestivum* L.)

*Ph1* LOCUS, A SUPPRESSOR OF HOMOEOLOGICAL PAIRING OF CHROMOSOMES IN HEXAPLOID WHEAT (*Triticum aestivum* L.)

Stanisława Maria ROGALSKA, Magdalena ACHREM, Anna KALINKA

Katedra Biologii Komórki, Wydział Nauk Przyrodniczych,  
Uniwersytet Szczeciński

**Streszczenie:** Praca przedstawia dane literaturowe na temat budowy molekularnej, sposobu działania locus *Ph1* oraz jego wpływu na remodelowanie heterochromatyny subtelerowej i centromerowej niezbędnym dla parowania chromosomów homologicznych w mejozie u pszenicy. Pszenica jest allopoliploidem mającym dwa lub trzy różne zestawy chromosomów (allotetraploid – 28 chromosomów i genom AABB i alloheksaploid – 42 chromosomy i genom AABBDD). W mejozie homologiczne chromosomy muszą wykazywać różnicę w stosunku do homeologicznych, które mają taki sam zestaw genów, ale różnią się zawartością sekwencji powtarzalnych DNA. Pomimo złożoności genomowej pszenica tetra- i heksaploidalna w mejozie zachowuje się jak organizm diploidalny, chromosom 1A tworzy parę z 1A, 1B z 1B, a 1D z 1D i dotyczy to wszystkich siedmiu par chromosomów w każdym genomie. Dziedziczenie jest również disomiczne. Nad diploidyzacją tej allopoliploidalnej rośliny, czuwa locus *Ph1* zlokalizowany na długim ramieniu chromosomu 5B. Za pomocą metod genomiki porównawczej i mapowania delecji stwierdzono, że locus *Ph1* zbudowany jest z siedmiu genów typu *Cdk* (*CDKL2*), zawiera także fragment heterochromatyny subtelerowej. Ten dominujący gen powstał na skutek tandemowej duplikacji w czasie procesu poliploidyacji. Locus w 5B blokuje odpowiadające loci na 5A i 5D. Geny typu *Cdk* wykazują homologię do *Cdk2* u ssaków i *Ime2* u drożdży pączkujących. *Cdk2* wpływa na replikację DNA, remodelowanie chromatyny i rekombinację. W czasie startu mejozy, przed parowaniem homologów w obecności locus *Ph1* heterochromatyna subtelerowa i centromerowa jest remodelowana w taki sposób, że zmienia się forma przyłączania białka HP1 i obszar zajęty przez heterochromatynę wydłuża się. W homologach z tą samą wielkością obszarów heterochromatynowych to remodelowanie jest synchroniczne i następuje całkowite parowanie. W przypadku nieznacznych różnic w wielkości obszaru heterochromatyny subtelerowej, remodelowanie jej nie jest całkowicie synchroniczne i następuje wówczas „mocowanie” (*pegging*) homologów za pomocą wytworzonych pętli i „zamykanie” (*zip-ping*), a parowanie homologów ma postać łańcucha. Natomiast, jeśli partie heterochromatyny subtelerowej różnią się wyraźnie, to nie występuje remodelowanie synchroniczne i znaczna ilość mejocytów ma niesparowane chromosomy. Poznanie molekularnej budowy locus *Ph1* ma znaczenie dla hodowli pszenicy. Fakt wysokiej homologii locus *Ph1* do *Cdk2* u ssaków oraz to, że znane są czynniki chemiczne wyłączające działanie *Cdk2* może być wykorzystane do wyłączania locus *Ph1* w mieszańcach pszenicy uprawnej z gatunkami dzikimi. Taka sytuacja pozwoliłaby na wprowadzenie do chromosomów pszenicy obcych, korzystnych genów w drodze crossing over.

*Słowa kluczowe:* pszenica, locus *Ph1*, geny *Cdk*, remodelowanie heterochromatyny subtelerowej i centromerowej.

*Summary:* This paper presents literature data regarding molecular structure and function of *Ph1* locus. In this review, we focus on the current understanding of the *Ph1* influence on subteleric and centromeric chromatin remodeling, required for meiotic homologous chromosome pairing in wheat. Wheat is an allopolyploid having two or three different sets of chromosomes (allotetraploid wheat – 28 chromosomes, AABB genome and allohexaploid wheat – 42 chromosomes, AABBDD genome). During the course of meiosis homologous chromosomes have to somehow recognize each other and do not pair with homoeologous chromosomes. Homologous and homoeologous chromosomes contain the same genes but the differences between them concern repeated sequences of DNA. Although the genomes of the tetraploid and hexaploid wheat are extremely complex 1A chromosome pairs with 1A, 1B with 1B and 1D with 1D, this rule refers to all seven pairs of chromosomes of each genome, indicating that the plant behaves like diploid and the inheritance is disomic. The process of diploidization of allopolyploid wheat, beside other factors, is controlled by *Ph1* locus which is localized on a long arm of 5B chromosome. Detailed studies by means of comparative genomics and deletions mapping was performed. The results showed that *Ph1* locus is a cluster of seven *Cdk-like* genes (*CDKL2*) and inside of this cluster a part of subteleric heterochromatin is inserted. This dominant gene arose as a consequence of a tandem duplication during the process of polyploidization. Locus on 5B chromosome has a suppressing effect on equivalent loci on 5A and 5D. *Cdk-like* genes revealed their close homology to mammalian *Cdk2* and budding yeast *Ime2*. *Cdk2* has an influence on DNA replication and also affects chromatin remodeling and recombination. At the onset of meiosis, before pairing of homologous chromosomes occurs, in the presence of *Ph1* locus subteleric and centromeric heterochromatin undergoes remodeling, changing the binding properties of HP1 protein, and as a result heterochromatin elongate. Remodeling is synchronous and the pairing is complete in homologous chromosomes with the same size of heterochromatin regions. If slight differences in subteleric heterochromatin amount occur, remodeling is not synchronous. In this case, instead of complete pairing, „pegging” and „zipping” takes place and chromosomes pair in „chain type” manner. However, if large portion of subteleric heterochromatin shows differences, synchronous remodeling would not occur and most of the meiocytes would contain unpaired chromosomes. Elucidation of *Ph1* locus molecular structure is of great importance in wheat breeding. In perspective the high homology of *Ph1* locus to mammalian *Cdk2* gene together with the fact that chemical factors turning off *Cdk2* activity are known make possible switching off the *Ph1* locus in crosses between wheat and its wild relatives. This allows for homoeological pairing and homoeological recombination. This could enable introducing new, beneficial genes from wild species to bread wheat.

*Key words:* wheat, *Ph1* locus, *Cdk-like* genes, subteleric and centromeric heterochromatin remodeling.

## WSTĘP

We wczesnych latach dziewięćdziesiątych powszechnie panowało przekonanie, że genom pszenicy nie nadaje się do mapowania ze względu na swoją wielkość (5 razy większy od genomu ludzkiego) i złożoność (80% genomu stanowią sekwencje powtarzalne). Mapowanie porównawcze zapewniło strategię do klonowania genów ważnych cech w genomie pszenicy. Pierwszym genem, który został sklonowany był locus *Ph1*, który ogranicza parowanie i rekombinację tylko do chromosomów homologicznych. Gen ten kontroluje diploidalne parowanie chromosomów w pszenicy tetra- i heksaploidalnej [10].

## ALLOPOLIPLOIDALNY GENOM PSZENICY

Pszenica chlebowa (*Triticum aestivum* ssp. *vulgare* L.) zwyczajna, jest alloheksaploidem o liczbie chromosomów  $2n = 6x = 42$ . Liczba ta jest rozdzielona na trzy

genomy oznaczone jako A, B i D, każdy z nich liczy po siedem chromosomów. W komórkach somatycznych każdy genom występuje w podwojonej dawce: AA, BB i DD. Wskutek tego w obrębie każdego genomu chromosomy tworzą pary homologiczne i w mejozie chromosomy pszenicy heksaploidalnej zachowują się jak u gatunku diploidalnego. Oznacza to, że na przykład chromosom 1A paruje tylko z 1A, a nie z 1B czy 1D. Ta reguła dotyczy wszystkich siedmiu par chromosomów w każdym genomie. Podobnie zachowują się chromosomy u tetraploidalnej pszenicy ( $2n = 4x = 28$ ) (*Triticum durum* L.).

Mechanizm, który czuwa nad diploidyzacją, odznacza się niezwykłą dokładnością i efektywnością działania, i ma ogromny wpływ na płodność roślin, która jest podstawą sukcesu w hodowli nowych odmian uprawnych. Locus *Ph1* zlokalizowany jest w długim ramieniu chromosomu 5B i kontroluje mechanizm diploidyacji u pszenicy [1, 11, 12]. Locus *Ph1* jest obszarem zgrupowania genów typu *Cdk* (*CDKL2*), zawierającym segment subtelerowej heterochromatyny. Jest to gen dominujący, który powstał przez tandemową duplikację genów typu *Cdk* w czasie procesu poliploidyacji [10].

## LOCUS *Ph1* I JEGO DZIAŁANIE

W czasie mejozy telomery tworzą układ zwany bukietem. Uważano, że chromosomy parują w obszarze telomerowym niezależnie od występowania locus *Ph1* [7], natomiast zachowanie się centromerów pozostaje pod wpływem tego locus. W obecności locus *Ph1* centromery tworzą pary przy otoczce jądrowej. Przeprowadzone badania zachowania się chromosomów pszenicy z wstawionym żytnim centromerem wykazały, że asocjacja centromerów we wczesnej mejozie nie jest oparta na homologii i że locus *Ph1* nie ma żadnego wpływu na tę asocjację. Mimo że centromery rzeczywiście ulegają przestawieniu z asocjacji niehomologicznej do homologicznej w mejozie, proces ten jest kierowany przez terminalnie inicjowaną synapsis [5].

Badania zachowania się żytnich i pszenicznych centromerów wskazują na to, że locus *Ph1* wpływa na replikację DNA i redukuje zdolność do asocjacji homeologicznych chromosomów po remodelowaniu heterochromatyny centromerowej w czasie startu mejozy. Warte podkreślenia jest to, że remodelowanie heterochromatyny centromerowej polega na zwiększeniu jej obszaru i odgrywa ważną rolę w parowaniu homologów. W obecności *Ph1* chromosomy homologiczne muszą być identyczne lub prawie identyczne, aby to remodelowanie mogło nastąpić i było synchroniczne. Podobnej zmianie konformacyjnej, jak heterochromatyna centromerowa, ulega przed rozpoczęciem mejozy również subtelerowa heterochromatyna, konstytutywna. Oba obszary heterochromatynowe ulegają rozciągnięciu w czasie, gdy telomery tworzą formację „bukietu” [4, 13, 14]. W obecności *Ph1*, chromosomy homologiczne muszą być identyczne lub prawie identyczne pod względem obszarów heterochromatynowych podlegających remodelowaniu, ponieważ *Ph1* rozpoznaje stopień homologii przed wejściem chromosomów we wzajemny kontakt. I tak, w obecności *Ph1*, jeżeli chromosomy są homologiczne, to remodelowanie jest zsynchronizowane i pozwala

na parowanie i rekombinację. Rozpoczyna się to formacją struktury „V” połączonej telomerami i postępuje wzdłuż chromosomów jak zamek błyskawiczny. Jeżeli chromosomy homologiczne różnią się nieco wielkością obszarów heterochromatynowych, tworzą się struktury pętli i powstają pętle w różnych miejscach wzdłuż chromosomów. Dopiero później następuje zamykanie „zamka” i powstaje formacja łańcuchowa [4]. Jeżeli chromosomy są homeologiczne, ale wykazują dużo rozbieżności konformacyjnych, remodelowanie nie jest synchroniczne i chromosomy nie parują. W przypadku braku *Phl* wszystkie chromosomy ulegają remodelowaniu, ale nie jest wymagana identyczność chromosomów, co powoduje wzrost szansy na parowanie homeologów obok normalnego parowania homologów.

W mieszańcach pszenicy z pokrewnymi gatunkami, gdzie nie ma chromosomów homologicznych, w przypadku braku *Phl*, spokrewnione (ale nie homologiczne) obszary heterochromatyny są remodelowane synchronicznie i chromosomy niehomologiczne mogą parować. Brak locus *Phl* w mieszańcach mogą kompensować chromosomy B.

Te dane świadczące o wpływie locus *Phl* na heterochromatynę łączą proces remodelowania heterochromatyny centromerowej i subtelerowej z procesem replikacji DNA. Zatem czy *Phl* wpływa na zachowanie się pozostałych obszarów heterochromatynowych ramion chromosomowych? Niektóre badania ukazują lepszą koordynację inicjacji kondensacji chromosomów w obecności niż w przypadku braku locus *Phl* [13].

## REMODELOWANIE SUBTELOMEROWEJ HETEROCHROMATYNY

Badania nad remodelowaniem heterochromatyny subtelerowej przed rozpoczęciem mejozy prowadzono na czterech liniach substytucyjnych pszenicy (*Triticum aestivum* L.) z podstawionymi krótkimi ramionami chromosomów żyta (1RS/1BL) (*Secale cereale* L.) i w obecności locus *Phl*. W poszczególnych liniach ramiona te były identyczne, bardzo podobne lub wyraźnie różniące się pod względem wielkości i obecności obszaru subtelerowej heterochromatyny konstytutywnej. Dwie linie miały homologiczne ramiona z identycznymi obszarami heterochromatynowymi, ale oba ramiona pochodziły tylko z odmiany żyta King II, lub tylko z odmiany żyta Petkus. Trzecia linia miała homologi z podobnej wielkości odcinkami heterochromatynowymi, jednakże jedno ramię było z chromosomu 1RS King II, a drugie było z chromosomu 1RS Petkus. Czwarta linia miała homologi z wyraźnie różną wielkością obszarów subtelerowych, jedno ramię pochodziło z odmiany Petkus, a drugie z żyta odmiany Imperial. Za pomocą trójwymiarowej fluorescencyjnej hybrydyzacji *in situ* badano zachowanie się chromosomów tych linii w mejocytach w różnych stadiach, z zastosowaniem sondy zawierającej chromatynę żyta. W komórkach przedmejotycznych nie obserwowano zmian konformacyjnych w subtelerowej heterochromatynie, a telomery były rozrzucone na peryferiach jądra. Kiedy telomery wchodziły w stadium bukietu, zachowanie subtelerowej heterochromatyny też zaczęło się zmieniać. W linii KingII/KingII identyczne partie subtelerowej heterochromatyny w ramionach 1R przybliżały się do siebie przed utworzeniem bukietu w 50% obserwowanych mejocytów. W czasie stadium bukietu

heterochromatyna subtelomerowa ulegała rozległemu remodelowaniu we wszystkich mejocytach badanej linii. Remodelowanie to polegało na wydłużaniu tego obszaru, a różnice w wydłużaniu między homologami wynosiły nie więcej niż 30%. Następnie w obszarze remodelowanym formowana była wspomniana wyżej struktura „V”, podlegająca „zapinaniu”. Subtelomerowa heterochromatyna była sparowana w 98% badanych mejocytów w okresie od diplotenu do metafazy I. Podobne wyniki uzyskano dla linii Petkus/Petkus. Przed formowaniem bukietu w linii z chromosomami Petkus/King II, które różnią się nieznacznie heterochromatyną subtelomerową, partie te nie parowały. W stadium bukietu obszary heterochromatyny ulegały remodelowaniu, ale obszary remodelowane różniły się od siebie dwukrotnie długością. Ponadto rozciągnięty obszar heterochromatyny nie ulegał „zapięciu” tuż za „wierzchołkiem” telomerowym, ale tworzył pętlę („czop”), która łączyła chromosomy. Obszary heterochromatynowe parowały w 78% mejocytów w diplotenie i tylko w 56% w metafazie I. W tym przypadku obserwowano rekombinację pomiędzy obszarami ramion chromosomów Petkus/KingII w F2. W liniach żyta z homologami mającymi wyraźnie różnej wielkości obszary heterochromatyny subtelomerowej, obszary te były zwarte w stadium bukietu (Petkus/Imperial), nie ulegały remodelowaniu i pozostały nie sparowane. W konsekwencji obserwowano sparowanie heterochromatyny subtelomerowej tylko w 30% mejocytów w diplotenie i jedynie w 16% mejocytów w metafazie I. Nie obserwowano również rekombinacji w obrębie tych ramion żyta, co było następstwem braku remodelowania i parowania.

Badania pokazały, że istnieje istotny poziom asocjacji telomerowej przed formowaniem bukietu. Jednak występuje ona tylko wtedy, gdy homologi są identyczne pod względem swoich obszarów subtelomerowych. Jeżeli homologi mają identyczne obszary subtelomerowe wówczas może następować „zapinanie” od telomerów począwszy [4, 13, 14]. Jeżeli te obszary są nieznacznie różne, jak w linii Petkus/KingII, wtedy asocjacja homologiczna występuje w stadium „bukietu”, ale tylko po remodelowaniu chromatyny. To remodelowanie też jest charakterystyczne, ponieważ obejmuje różną długość w dwóch homologach. Połączenie pomiędzy subtelomerowymi obszarami następuje wtedy przez wytworzenie pętli (*a pegging together and coalescing*). Wówczas następuje redukcja ogólnego poziomu parowania i rekombinacji. Natomiast w linii Petkus/Imperial, w której ramiona są bardziej zróżnicowane, nie ma remodelowania obszarów subtelomerowych, co wpływa na bardzo niski poziom parowania i brak rekombinacji.

Heterochromatyna subtelomerowa może być remodelowana tylko w obecności locus *Phl* i tylko w chromosomach homologicznych. Natomiast w chromosomach homeologicznych albo w homologach różniących się istotnie rozmiarami heterochromatyny subtelomerowej, w obecności *Phl*, nie następuje remodelowanie. Sama obecność dwóch homologów nie wystarczy do zapoczątkowania remodelowania chromatyny w obecności *Phl*. Homologi muszą być jeszcze identyczne lub prawie identyczne, aby mogło mieć miejsce remodelowanie przed rozpoczęciem mejozy.

Remodelowanie heterochromatyny jest kontrolowane przez gen *Cdk2*. Działanie tego genu wyraża się zmianą specyfiki łączenia się z chromatyną białka HP1, co w efekcie powoduje rozszerzenie się obszaru heterochromatyny [8]

## CZYM JEST LOCUS *Ph1*

Locus *Ph1* jest zbiorem genów podobnych do *Cdk2* (*CDK2L*), kodujących kinazę zależną od cyklin, przedzielonym segmentem heterochromatyny subtelerowej, zlokalizowanym w chromosomie 5B. Geny te wykazują bliską homologię do *Cdk2* u ssaków [1,7] i są w pewnym stopniu homologiczne do genu *Ime2* kodującego kinazę specyficzną dla mejozy u drożdży pączkujących. Wykazano, że produkt genu *Cdk2* kontroluje remodelowanie chromatyny w czasie replikacji DNA [3]. Wykazano, że *Ph1CDK2L*, podobnie jak *Cdk2* i *Ime2*, mają wpływ na procesy zachodzące w trakcie replikacji DNA, a mianowicie kontrolują remodelowanie chromatyny i wpływają na mechanizm reperacji błędnie włączanych nukleotydów [17]. Aktywny kompleks genów *CDK2L* w chromosomie 5B znosi ekspresję odpowiednich genów na chromosomach 5A i 5D u pszenicy chlebowej [1]. Kompleks *CDK2L* występuje w siedmiu kopiach i zawiera pseudogeny ulegające ekspresji, co tłumaczy trudności w uzyskaniu zmutowanego fenotypu *Ph1*.

Delecja *Ph1* prowadzi do wzrostu transkrypcji loci *CDK2L* w homeologicznych genomach i do nadekspresji genu *Asy1* (*TaASY1*) (*Asynapsis 1*). Gen *TaAsy1* koduje białko osiowego elementu kompleksu synaptomalnego, odgrywające istotną rolę w synapsis i *crossing-over* u *Arabidopsis* i ryżu. U mutantów transgenicznych pszenicy z delecją *Ph1*, wykazujących obniżoną aktywność genu *TaASY1*, obserwowano redukcję synapsis w profazie I i parowanie homeologiczne w metafazie I sugerujące współdziałanie pomiędzy tymi genami. Wyniki niektórych badań wskazują, że w czasie pierwszego podziału mejotycznego, białko kodowane przez gen *Asynapsis 1* (*TaASY1*) stymuluje interakcję pomiędzy homologami we wszystkich miejscach wzdłuż długości chromosomów, promując ich parowanie. Jest możliwe, że *Ph1* hamuje parowanie pomiędzy homeologami przez regulację poziomu ekspresji *TaASY1* w czasie mejozy [2]. Można przyjąć, że produkt genu *TaASY1* jest wymagany do promowania interakcji pomiędzy homologami u pszenicy, a gen *Ph1* pełni rolę regulatorową, podobnie jak *Cdk2*. Wynika stąd, że można byłoby używać mutantu *Taasy* do wprowadzenia obcej chromatyny do pszenicy, tak jak w przypadku mutantu *ph1b* [2].

Podsumowując te rozważania **należy podkreślić, że w przypadku delecji *Ph1* wzrasta poziom białka *Asy1* i poziom parowania niehomologicznego. Centromery pozostają niesparowane, natomiast telomery tworzą strukturę bukietu przy otoczce jądrowej. Chromosomy homologiczne będące w różnej konformacji, tworzą struktury pętli wzdłuż chromosomów, następnie „zamykają się” i chromosomy parują prawidłowo w 50% mejocytów.** Wykazano [16], że *Cdk2* ssaków może zastępować *Ime2* u mutantów drożdży, prowadząc do nadekspresji drożdżowych homologów genów *Asy1* i *Hop1*. Gen *Ime2* jest głównym koordynatorem premejotycznej replikacji, transkrypcji genów wczesnej mejozy i segregacji chromosomów. Sugeruje to, że rozpoznanie homologów u pszenicy, drożdży i ssaków jest procesem konserwatywnym, którego głównymi koordynatorami mejotycznymi są *Ph1/Cdk2/Ime2*. Kontrolują one przedmejotyczną replikację DNA i transkrypcję genów we wczesnej mejozie.

## ANALIZA SZCZEGÓŁOWEJ STRUKTURY LOCUS *Ph1*

DNA genomu pszenicy zwyczajnej *Triticum aestivum* L. ( $2n = 6x = 42$ ) składa się z 16 miliardów par zasad w genomie haploidalnym, z których tylko 1–5% stanowią geny [15]. Fizyczne mapowanie, 3 025 genowych loci w liniach delecyjnych z 334 pojedynczymi pęknięciami, pozwoliło zidentyfikować 18 głównych i 30 mniejszych obszarów bogatych w geny – GRR (ang. *GENE REACH REGIONS*), stanowiących 85% znanych genów i zajmujących tylko około 29% genomu [6]. Jeden z głównych obszarów bogatych w geny – GRR znajduje się we frakcji o długości 0,5 długiego ramienia chromosomów z grupy 5 (5L0.5) i jest najlepiej opisany na chromosomie 5BL [15]. Obszar ten rozprzestrzenił się na około 2,6% chromosomu 5B, co przekłada się na około 21 milionów par zasad DNA. W tym obszarze występuje około 20% wszystkich rekombinacji w chromosomie 5B. Właśnie w tym obszarze GRR występuje locus *Ph1*, główny supresor parowania homeologicznego oraz 32 inne geny kodujące ważne cechy rolnicze. Parowanie tylko homologów prowadzi do tego, że pszenica alloheksaploidalna i allotetraploidalna zachowują się jak diploidy i wykazują dziedziczenie disomiczne. Za pomocą analizy telocentrycznej gen *Ph1* był genetycznie zmapowany w okolicy 1–5 centimorganów (cM) od centromeru w chromosomie 5B pszenicy heksaploidalnej. U pszenicy tetraploidalnej, gen ten był fizycznie zmapowany pomiędzy prążkami C na 5BL1.5 i 5BL2.1. Otrzymano dwa mutanty *Ph1* – *ph1b* i *ph1c* kolejno w pszenicy heksaploidalnej i tetraploidalnej. Oba mutanty były wynikiem delecji interstycjalnej wynoszącej odpowiednio około 1,05  $\mu\text{m}$  i 0,84  $\mu\text{m}$ . Otrzymano też linię z duplikacją *Ph1* – *dup.Ph1*. Punkty pęknięcia terminalnej delecji 5BL-1 i dystalnych punktów pęknięcia *ph1b* i *ph1c* mapowały się pomiędzy prążkami C 5BL1.7 i 5BL2.1. Uważa się, że duplikacja w tym obszarze odpowiada obszarowi delecji w *ph1c*. Na podstawie mapy sprzężeń stwierdzono, że genomy pszenicy i żyta są istotnie kolinearne, ale niekiedy kolinearność jest przerywana przez obecność segmentów pochodzących z innych chromosomów. Szczegółowej analizie obszaru GRR z locus *Ph1* dokonano za pomocą fizycznej lokalizacji 213 grup specyficznych markerów 5L używając 5-nullitetrasomików, trzech mutantów delecja/insercja genu *Ph1* i dziewięciu linii delecyjnych z punktami pęknięcia w obrębie obszaru 5L0.5. Gen *Ph1* zlokalizowano w znacznie mniejszym obszarze w regionie GRR. Z 61 markerów zmapowanych w czterech podregionach GRR, 9 mapowało się w obszarze *Ph1*. Ortologiczne obszary do obszaru *Ph1* w pszenicy zmapowano w *Arabidopsis* (71% sekwencji) i u ryżu (80% sekwencji). Ortologi u ryżu były obecne we wszystkich chromosomach, chociaż większość z nich (34%) mapowała się na 9 chromosomie (R9). Nie zidentyfikowano pojedynczego kolinearnego obszaru u *Arabidopsis*. Natomiast u ryżu w chromosomie 9 mapowało się 7 z 9 markerów obszaru genu *Ph1* w obszarze 450 tys. par zasad, w tym samym porządku genów. Szczegółowa analiza motywów 91 domniemyanych genów obecnych w obszarze 450 tys. par zasad pozwoliła na identyfikację 21 genów, które mogą wchodzić w skład genu *Ph1*. Geny te były zaangażowane w reorganizację chromatyny, łączenie mikrotubul, wiązanie DNA, czy też odpowiadające acetylotrans-

ferazom, metylotransferazom oraz białka specyficzne dla mejozy. Pięć z tych genów dzieliło wspólne motywy z genami specyficznymi dla mejozy, takimi jak: *Zip1*, *Scp1*, *Cor 1*, *RAD50*, *RAD51* i *RAD 57*. Zidentyfikowano też u pszenicy i u *Arabidopsis thaliana* homologi tych genów ryżu [15].

Jak już wspomniano wcześniej, locus *Ph1* w chromosomie 5B zawiera obszar heterochromatyny subtelomerycznej oraz zbiór siedmiu genów typu *Cdk*. Natomiast w chromosomie 5A zbiór odpowiednich genów typu *Cdk* liczy pięć, a w 5D dwa geny. Z przeprowadzonej analizy sekwencyjnej wynika, że w tych chromosomach zbiory genów są wynikiem procesu duplikacji tandemowej. Fenotyp *Ph1* jest specyficzny dla chromosomu 5B i geny tylko z tego zbioru ulegają transkrypcji. Transkrypcji ulegają także dwa pseudogeny *Cdk-like B6* i *Cdk-like B7*, jednakże nie stwierdzono obecności białkowych produktów transkrypcji tych pseudogenów. Uważa się, że prawdopodobnie ich transkrypcja jest związana z obecnością fragmentu heterochromatyny, a produktem może być niekodujący RNA zaangażowany w mechanizm interferencji [1].

## HODOWLA PSZENICY A LOCUS *Ph1*

Jaki związek ma działanie locus *Ph1* z postępowaniem w hodowli odmian pszenicy? Otóż wiele dzikich gatunków, spokrewnionych lub nie spokrewnionych z pszenicą, zawiera interesujące cechy, które można byłoby wykorzystać w hodowli pszenicy. Krzyżowanie takich gatunków z pszenicą prowadzi do powstania mieszańców, które posiadają zwykle haploidalny zestaw genomów pszenicy i gatunku dzikiego. Parowanie między tymi chromosomami jest bardzo rzadkie i jeszcze rzadszy jest crossing over, co zmniejsza szanse na wprowadzenieżądanego genu z dzikiego gatunku do pszenicy. Odpowiedzialny za to jest locus *Ph1*. W ciągu ostatnich 25 lat używano do krzyżowania linii pszenicy z delecją locus *Ph1*, w mieszańcach z tymi liniami występowało parowanie homeologiczne, ale chromosomy były tak zreorganizowane, że niemożliwa była rekombinacja pomiędzy chromosomami pszenicy i dzikich gatunków. Otóż wynika z tego, że nie delecja locus, ale jego czasowe wyłączenie dawałoby szansę na uzyskanie parowania homeologicznego i rekombinacje. Z tego powodu lepsze poznanie działania locus *Ph1* jest konieczne dla postępu hodowli pszenicy [9, 12].

## LITERATURA

- [1] AL-KAFFN, KNIGHT E, BERTIN I, FOOTE T, HART N, GRIFFITHS S, MOORE G. Detailed dissection of the chromosomal region containing the *Ph1* locus in wheat *Triticum aestivum*: with deletion mutants and expression profiling. *Ann Bot* 2008; **101**: 863–872.
- [2] BODEN SA, LANGRIDGE P, SPANGENBERG G, ABLE JA. *TaASY1* promotes homologous chromosome interactions and is affected by deletion of *Ph1*. *Plant J* 2009; **57**: 487–497.



- [3] COHEN PE, POLLACK SE, POLLARD JW. Genetic analysis of chromosome pairing, recombination and cell cycle control during first meiotic prophase in mammals. *Endocr Rev* 2006; **27**: 398–426.
- [4] COLAS I, SHAW P, PRIETO P, WANOUS M, SPIELMAYER W, MAGO R. Effective chromosome pairing requires chromatin remodeling at the onset of meiosis. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008; **105**: 6075–6080.
- [5] CORREDOR E, LUKASZEWSKI A, PACHON P, ALLEN D, NARANJO T. Terminal regions of wheat chromosomes select their pairing partners in meiosis. *Genetics* 2007; **177**: 699–706.
- [6] ERAYMAN M, SANDHU D, SIDHU D, DILBIRLIGI M, BAENZIGER PS, GILL KS. Demarcating the gene-rich regions of wheat genome. *Nucl Acids Res* 2004; **32**: 3546–3565.
- [7] GRIFFITHS S, SHARP R, FOOTE TN, BERTIN I, WANOUS M, READER S, COLAS I, MOORE G. Molecular characterization of *Ph1* as a major chromosome pairing locus in polyploidy wheat. *Nature* 2006; **439**: 749–752.
- [8] HALE TK, CONTRERAS LA, MORRISON A, HERRERA RE. Phosphorylation of the linker histone H1 by Cdk regulates its binding to HP1. *Mol Cell* 2006; **22**: 693–699.
- [9] MARTINEZ-PEREZ E, MOORE G. To check or not to check? The application of meiotic studies to plant breeding. *Curr Opin Plant Biol* 2008; **1**: 222–227.
- [10] MOORE G. It's not size but coordination that matters. The 4th EPSO Conference „Plants for Life” Toulon, France; 2008.
- [11] MOORE G. The *Ph1* locus – a story 50 years in the making. W: Appels R, Eastwood E, Langudal E, Langridge P, Lynne MM [red] The 11th International Wheat Genetics Symposium, Proceedings, Sydney Univ 2009: 1–5.
- [12] MOORE G, SHAW P. Improving the chances of finding the right partner. *Curr Opin Genet Dev* 2009; **19**: 99–104.
- [13] PRIETO P, SHAW P, MOORE G. Homologue recognition during meiosis is associated with a change in chromatin conformation. *Nat Cell Biol* 2004; **6**: 906–908.
- [14] PRIETO P, MOORE G, READER S. Control of conformational changes associated with homologue recognition during meiosis. *Theor Appl Genet* 2005; **111**: 505–510.
- [15] SIDHU GK, RUSTGI S, SHAFQAT MN, VONWETTSTEIN D, GILL KS. Fine structure mapping of gene-rich region of wheat carrying *Ph1*, a suppressor of crossing-over between homoeologous chromosomes. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008; **105**: 5815–5822.
- [16] SZWARCZKORT-COHEN M, KASULIN-BONEH Z, SAGEE S, KASIR Y. Human *Cdk2* is a functional homolog yeast *Ime2*, the meiosis-specific *Cdk-like* kinase. *Cell Cycle* 2009; **8**: 647–654.
- [17] WARD JO, REINHOLDT LG, MOTLEY WW, NISWANDER LM, DEACON DC, GRIFFIN LB, LANGLAIS KK, BACKUS VL, SCHIMENTI KJ, O'BRIEN MJ, EPPIG JJ, SCHIMENTI JC. Mutation in mouse He10 an E3 ubiquitin ligase disrupts meiotic crossing over. *PLoS Genetics* 3:e139doi:10.1371/journal.pgen.00301r139 2007;

*Redaktor prowadzący – Maria Olszewska*

*Otrzymano: 16.07.2009 r.*

*Przyjęto: 27.10.2009 r.*

*Prof. dr hab. Stanisława Maria Rogalska,*

*ul. Zielona 21/1, 71-033 Szczecin*

*e-mail: strog@univ.szczecin.pl*