



UvA-DARE (Digital Academic Repository)

Defining meiotic recombination landscape in tomato

Chouaref, J.

Publication date
2021

[Link to publication](#)

Citation for published version (APA):

Chouaref, J. (2021). *Defining meiotic recombination landscape in tomato*.

General rights

It is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), other than for strictly personal, individual use, unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

Disclaimer/Complaints regulations

If you believe that digital publication of certain material infringes any of your rights or (privacy) interests, please let the Library know, stating your reasons. In case of a legitimate complaint, the Library will make the material inaccessible and/or remove it from the website. Please Ask the Library: <https://uba.uva.nl/en/contact>, or a letter to: Library of the University of Amsterdam, Secretariat, Singel 425, 1012 WP Amsterdam, The Netherlands. You will be contacted as soon as possible.

This PhD study aims to obtain a better comprehension of the distribution of the meiotic recombination events along the linear chromosomes of *Solanum lycopersicum* (tomato). Meiotic recombination plays a central role in plant breeding because it creates new combination of alleles. These new combinations may confer advantages to cultivars, such as better yield, resistance to pest, growth in adverse condition. The new combination of alleles is obtained as a consequence of a crossover event during which genetic information is exchanged between homologous chromosomes. The occurrence and distribution of crossovers is tightly regulated and is limited to certain regions of the genome. Over the last decade, knowledge about the factors responsible for the regulation of meiosis have begun to emerge. However, we still lack a full comprehension of the mechanisms that guide the meiotic recombination events in many species. Hence, this thesis aimed to improve our knowledge of meiotic recombination in tomato.

In **Chapter 1**, we present a brief overview of the meiotic recombination process and review current knowledge on factors that shape the meiotic recombination landscapes. Moreover, I present the current methodology that allows the identification of crossovers sites in animals and plants. The interaction of meiotic proteins with chromatin regions plays an important role on the distribution of crossovers. For example, MLH1 is associated with crossovers sites. As described in the first chapter, chromatin immunoprecipitation followed by high throughput sequencing (ChIP-seq) identifies the binding sites of proteins of interest in a genome-wide manner. The application of ChIP-seq in the context of plant meiosis remains challenging.

In the **Chapter 2**, we identify the challenges related to performing ChIP-seq in tomato meiocytes. We addressed these difficulties and developed a new ChIP-seq protocol optimized for the relatively low input material that are obtained after selection of stage specific tomato anthers and the limited binding-events associated with some meiotic proteins.

In the Chapter 3, we explore upregulation of meiotic recombination events. Mutants for different negative regulator of crossover formation increased the meiotic recombination frequencies in plants. We used CRISPR-Cas9 to generate *recq4* and *figl1* mutants. We measured an increase of crossover frequency in interspecific hybrids and observed a potential dual role for FIGL1 in *S. lycopersicum*.

In **Chapter 4**, we performed the first assay for ‘transposase accessible’ chromatin followed by high throughput sequencing (ATAC-seq) on tomato meiocytes. Meiotic recombination events occur mainly in accessible chromatin either in an opportunistic or directed manner. We presented the first accessible chromatin information in tomato prophase I meiocytes and observed that more promoters are accessible in prophase I than in somatic cells.

In **Chapter 5**, we discuss the main finding of this thesis and evaluate them in the context of the current literature. We highlight the optimization and analysis that can be subsequently

performed to obtain a more detailed comprehension of the meiotic recombination landscape in tomato.

Samenvatting

Het doel van deze PhD studie is inzicht te krijgen in de verdeling van recombinatie gebeurtenissen tijdens de meiose bij chromosomen van *Solanum lycopersicum* (tomaat). Meiotische recombinatie speelt een centrale rol in de plantenveredeling omdat het nieuwe combinaties van allelen creëert. Deze nieuwe combinaties kunnen gunstige resultaten opleveren voor cultivars, zoals betere opbrengst, resistentie tegen plagen of groei in ongunstige omstandigheden. De nieuwe combinatie van allelen wordt verkregen als gevolg van een 'crossover'-gebeurtenis waarbij genetische informatie wordt uitgewisseld tussen homologe chromosomen. De frequentie en verspreiding van crossovers is strak gereguleerd en is beperkt tot bepaalde regio's van het genoom. In het afgelopen decennium is onze kennis over de factoren, die verantwoordelijk zijn voor de regulering van meiose, sterk gegroeid. Een volledig begrip van de onderliggende mechanismen van meiotische recombinatie is echter afwezig in verschillende soorten. Daarom is dit proefschrift bedoeld om onze kennis van meiotische recombinatie met name bij tomaten te verbeteren

In **Hoofdstuk 1** wordt een kort overzicht gegeven van meiotische recombinatie en van de huidige kennis over factoren die betrokken zijn bij de vorming van het recombinatie landschap tijdens de meiose. Daarnaast wordt een overzicht gegeven van de huidige technologie die het mogelijk maakt chromosomale posities van crossover in dieren en planten in kaart te brengen. Een belangrijke rol bij de verdeling van crossovers is de moleculaire interactie tussen meiotische eiwitten met chromatine gebieden. Zo wordt MLH1 bijvoorbeeld direct geassocieerd met crossovers. Zoals beschreven in het eerste hoofdstuk, worden bindingsplaatsen van eiwitten geïdentificeerd over het hele genoom met behulp van chromatine immunoprecipitatie, gecombineerd met 'high throughput sequencing' (ChIP-seq). De toepassing van ChIP-seq in de context van plantenmeiose blijft een uitdaging.

In **Hoofdstuk 2** worden diverse aspecten van de ChIP-seq techniek bij meioocyten van tomaat behandeld. We hebben verschillende problemen aangepakt en een nieuw ChIP-seq-protocol ontwikkeld dat met name optimaal bruikbaar is wanneer weinig DNA materiaal voor handen, zoals b.v. na selectie van stadiumspecifieke antheren en bij een beperkt aantal bindingsplaatsen van meiose eiwitten.

In **Hoofdstuk 3** onderzoeken we meiose eiwitten die de homologe recombinatie reguleren. Mutanten voor negatieve regulatoren verhogen de meiotische recombinatiefrequenties. We gebruikten CRISPR-Cas9 om *recq4*- en *figl1*-mutanten te genereren. We zagen een toename van de crossover-frequentie in interspecifieke hybriden met *recq4*, maar een afname met *figl1*. FIGL1 speelt mogelijk een dubbelrol bij de meiotische recombinatie in hybride tomaat.

In **Hoofdstuk 4** hebben we de eerste test uitgevoerd voor 'transposase-toegankelijke' chromatine, gevolgd door 'high-throughput sequencing' (ATAC-seq) op meioocyten van tomaten. Meiotische recombinatie vindt voornamelijk plaats in 'open' (toegankelijk) chromatine, hetzij op een stochastische of een gerichte manier. Deze studie toont voor het eerst gegevens over de toegankelijkheid van chromatine in meioocyten van tomaten tijdens de profase I. We zagen dat er meer promotors toegankelijk zijn in profase I meioocyten dan in somatische cellen.

In **Hoofdstuk 5** bespreken we de belangrijkste bevindingen van dit proefschrift en evalueren deze in de context van de huidige literatuur. We bespreken met name de verbeteringen die aangebracht kunnen worden en de analyses die nog kunnen worden uitgevoerd om een meer gedetailleerd begrip te krijgen van het landschap van meiotische recombinaties in tomaat.