

抑制植物减数分裂重组的分子机理

李帆¹, 余蓉培¹, 孙丹¹, 王继华¹, 李绅崇¹, 阮继伟¹,
单芹丽¹, 陆平利², 汪国鲜¹

1. 云南省农业科学院花卉研究所, 国家观赏园艺工程技术研究中心, 云南省花卉育种重点实验室, 昆明 650200
2. 复旦大学生命科学学院, 植物科学研究所, 上海 200433

摘要: 减数分裂重组不仅保证了真核生物有性生殖过程中染色体数量的稳定, 还通过父母亲本间遗传物质的互换在后代中产生遗传变异。因此, 减数分裂重组是遗传多样性形成的重要途径, 也是生物多样性和物种进化的主要动力。在绝大多数真核生物中, 不管染色体数目的多少或基因组的大小, 减数分裂重组的形成都受到严格的调控, 但抑制减数分裂重组的分子机理目前仍不清楚。近年来, 通过正向遗传学筛选鉴定出多个减数分裂重组抑制基因, 揭示了抑制基因的功能和调控途径。本文基于拟南芥中减数分裂重组抑制基因的研究现状, 综述了植物减数分裂重组抑制基因研究取得的突破性进展, 并结合基因功能与其调控网络阐述了抑制植物减数分裂重组的分子机理。

关键词: 减数分裂; 同源重组; 抑制基因; 调控网络

Molecular mechanisms of meiotic recombination suppression in plants

Fan Li¹, Rongpei Yu¹, Dan Sun¹, Jihua Wang¹, Shenchong Li¹, Jiwei Ruan¹, Qinli Shan¹,
Pingli Lu², Guoxian Wang¹

1. Flower Research Institute, Yunnan Academy of Agricultural Sciences, National Engineering Research Center for Ornamental Horticulture, Yunnan Key Laboratory for Flower Breeding, Kunming 650200, China
2. Institute of Plant Biology, School of Life Sciences, Fudan University, Shanghai 200433, China

Abstract: Meiotic recombination not only ensures the stability of chromosome numbers during the sexual reproduction in eukaryotes, but also shuffles the maternal and paternal genetic materials to generate genetic diversity in the gametes. Therefore, meiotic recombination is an important pathway for genetic diversity, which has been considered as a major driving force for species evolution and biodiversity in nature. In most eukaryotes, meiotic recombination is strictly limited, despite the large variation of physical genome size and chromosome numbers among

收稿日期: 2018-06-22; 修回日期: 2018-08-31

基金项目: 云南省农业联合青年项目, 云南省科技计划重点研发(农业领域)项目(编号: 2018BB010)和云南省科技计划项目(编号: 2016IA001)资助

[Supported by Yunnan Agricultural Joint Youth Project, the Key Research and Development (Agricultural field) Project of Yunnan Science and Technology Program (No. 2018BB010) and the Science and Technology Program of Yunnan Province (No. 2016IA001)]

作者简介: 李帆, 博士, 助理研究员, 研究方向: 植物遗传与分子育种。E-mail: lifanla@foxmail.com

通讯作者: 汪国鲜, 本科, 副研究员, 研究方向: 园艺作物栽培与繁育技术。E-mail: wgxhhs@foxmail.com

DOI: 10.16288/j.yczs.18-165

网络出版时间: 2018/11/21 14:00:50

URI: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.1913.R.20181121.1400.002.html>

species, but the mechanisms suppressing meiotic recombination remain elusive. Recently, several suppressors have been identified through the forward genetics screen, and revealed the functions and regulation pathways of these suppressors. In this review, we summarize the breakthrough discovery of meiotic recombination suppressors in plants based on research in *Arabidopsis*, with particular focus on the gene function and its regulation network to elucidate the molecular mechanisms of meiotic recombination suppression in plants.

Keywords: meiosis; homologous recombination; suppressors; regulation networks

减数分裂(meiosis)是生物细胞中染色体数目减半的一种特殊的细胞分裂方式,在该过程中 DNA 只复制一次,但细胞连续分裂两次,从而形成染色体数目减半的配子^[1~3]。在减数第一次分裂过程中,为了确保同源染色体的精确分离和染色体数目的减半,同源染色体间需要形成至少一个物理连接点,称为交叉结(chiasmata)^[4,5]。交叉通过修复作用产生同源染色体间遗传物质的相互交换,即同源染色体间的重组(recombination),进而形成具有遗传多样性的配子^[6,7]。减数分裂同源重组不仅保证了物种染色体的精确分离,同时又促进了父母亲本之间遗传物质的相互交换,从而在配子中形成遗传变异^[8,9]。因此,减数分裂同源重组对生物进化和物种形成至关重要,也是植物新品种培育和开发的基础生物学过程。特别是在全球气候变化的背景下,人类面临各种挑战,减数分裂同源重组为充分利用植物的遗传多样性进行新品种的培育和创新提供了基础。

从植物进化的角度,重组率是生物在重组成本和重组优势之间维持的一种特定平衡,是物种长期以来对环境变化不断进化和演变的一种适应和自然选择^[10]。在大多数真核生物中,由于调控重组基因的高度保守性,减数分裂重组率被维持在一个相对较低的水平,并且远低于其自身的自然潜力,但对其调控网络和抑制形成的分子机理还知之甚少^[11,12]。减数分裂同源重组是真核生物有性生殖过程中的基本生物学过程,其相关研究一直是遗传学领域的核心科学问题,受到世界学者的广泛关注^[13~16]。近年来,植物减数分裂同源重组的分子调控研究取得了重大进展,特别是多个减数分裂重组抑制基因陆续在拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)中被发现和鉴定,进一步增加了对这一复杂生物学过程的认识。本文以拟南芥为对象,综述了植物减数分裂重组抑制基因

研究的重要进展。

1 DNA 双链断裂和交叉形成

1.1 DNA 双链断裂的产生

减数分裂同源重组起始于 DNA 双链断裂(double strand break, DSB),其由高度保守的拓扑异构酶 SPO11 (sporulation 11)蛋白催化形成(图 1)^[6,17]。SPO11 蛋白结构类似于古细菌中的 TopoVI (Topoisomerase VI) A 亚基,而 TopoVI 是由两个 A 亚基和两个 B 亚基组成的异源四聚体酶(A₂B₂ heterotetramer)^[5]。最近,古细菌 TopoVI 复合体 B 亚基的同源蛋白 MTOPVIB (meiotic topoisomerase VIB-like)在拟南芥和水稻(*Oryza sativa*)中被鉴定,研究显示其在减数分裂中对诱导 DSB 形成和重组启动至关重要^[18,19]。

拟南芥基因组存在 3 个 *SPO11* 同源基因(*SPO11-1*、*SPO11-2* 和 *SPO11-3*),但只有 *SPO11-1* 和 *SPO11-2* 作为异源二聚体参与调控减数分裂重组的启动,而 *SPO11-3* 只涉及体细胞的有丝分裂,不具有调控减数分裂的功能^[20,21]。在植物中,其他一些基因也参与了诱导减数分裂 DSB 的形成,如 *PRD1* (putative recombination initiation defect 1)、*PRD2*、*AtPRD3/OsPAIR1* (homologous pairing aberration in rice meiosis 1)、*DFO* (DSB formation)和 *CRC1* (central region component 1)^[22~26]。不同于大部分植物中含有多个 *SPO11* 同源基因,在动物和酵母中只含有 1 个 *SPO11* 基因^[27,28]。酵母中的 DSB 形成除了需要 SPO11 蛋白以外,还有其他 9 个蛋白参与调控,即 RED50 (radiation sensitive 50)、MER2 (meiotic recombination 2)、MEI4 (meiosis defective4)、MRE11 (meiotic recombination 11)、REC102 (recombination-deficient 102)、REC104 (recombination-deficient 104)、REC114

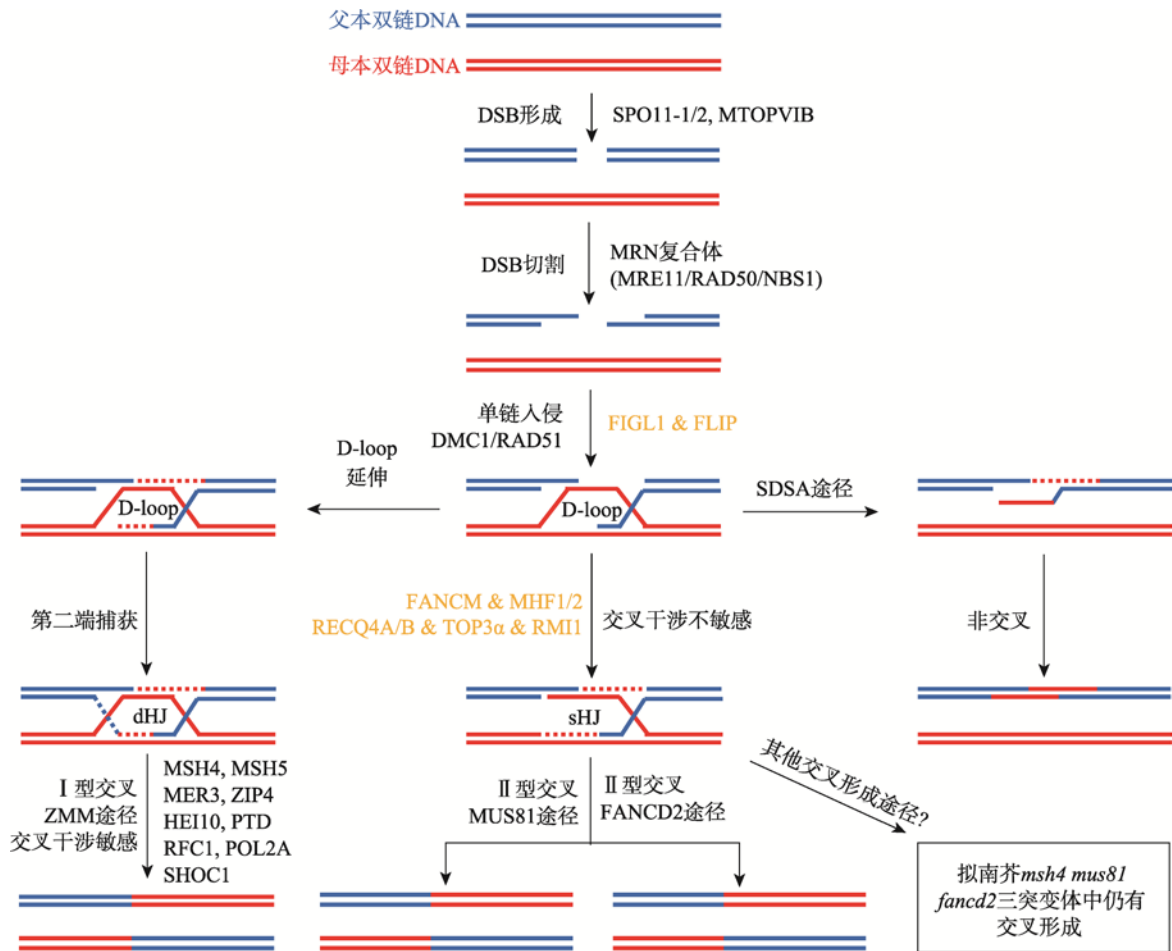


图 1 拟南芥减数分裂重组途径模型

Fig. 1 A meiotic recombination pathway model in *Arabidopsis*

在该模型图中, 蓝色和红色线条分别描绘了两条父母亲本双链 DNA。减数分裂重组起始于双链 DNA 的双链断裂(DSB), 然后单链核酸内切酶切割断裂双链 DNA 的 5'末端以形成 3'端单链 DNA (ssDNA), 在重组酶的促进作用下, 3'单链 DNA 尾部侵入同源双链 DNA 形成重组中间体 D-loop。重组中间体或者形成 dHJ(double Holliday Junction)结构, 并通过 ZMM 途径(MSH4、MSH5、MER3、ZIP4、SHOC1、HEI10、RFC1、PTD 和 POL2A)形成 I 型交叉重组, 或者形成 sHJ(single Holliday junction)结构由 MUS81 和 FANCD2 交叉干涉不敏感途径形成 II 型交叉重组。但绝大多数 D-loop 重组中间体是通过合成型依赖性退火反应(SDSA)途径由重组抑制基因(*FANCM*、*MHF1/2*、*TOP3α*、*RECQ4A/B*、*RMI1*、*FIGL1* 和 *FLIP*)调控形成非交叉(NCOs)。

(recombination-deficient 114)、SKI8 (superkiller 8) 和 XRS2 (X-ray sensitive 2)^[2,29]。然而, 这些参与酵母 DSB 形成的蛋白在物种间存在蛋白序列或者功能上的变异。如拟南芥中 DSB 的形成并不需要 MRE11、RAD50 和 XRS2 蛋白的参与, 但这些蛋白直接作用于断裂双链 5'末端的切除; SKI8 尽管在几种真菌中非常保守, 但在拟南芥中并不保守, 且不参与减数分裂重组过程^[30,31]。

1.2 重组中间体的形成与分解

DNA 双链断裂产生之后, MRN 复合体(MRE11、

RAD50 和 NBS1)对断裂双链任一侧的 5'末端进行切割, 并产生 3'端单链 DNA(ssDNA)尾巴的突出端^[32,33]。随后在 DMC1 (DNA meiotic recombinase 1)和 RAD51 (radiation sensitive 51)重组酶的促进作用下, 这些 ssDNAs 启动同源序列搜索并侵入同源染色体或者非同源染色体的姐妹染色单体形成稳定的单链侵入中间体^[34,35]。DMC1 是首次在酵母中发现的减数分裂特异基因, 只在减数分裂过程中发挥作用, 而 RAD51 参与了有丝分裂和减数分裂的重组。Kurzbaue 等^[36]通过细胞学研究发现 DMC1 和 RAD51 重组酶倾向于定位于减数分裂 DSB 的反相两端, 表明其在

DSB 修复过程中承担着不同的生物学功能,这也与 DSB 两端不同的修复结果兼容。在单链入侵形成中间体后,3'末端入侵链作为引物纵向延伸到同源双链 DNA(dsDNA)中形成 D-loop(displacement loop)结构^[37]。D-loop 的形成是减数分裂同源重组的重要中间体,其形成表明 3'端入侵单链成功定位到了同源 DNA 参考序列^[38],该早期中间体在之后可以通过不同的修复途径形成同源染色体交叉或者非交叉(non-crossovers, NCOs)^[39,40]。

D-loop 在酶催化作用下进一步被修复形成 Holliday junction(HJ)中间体结构,HJ 是由两个同源双链 DNA 分子互换配对并相互连接形成的一种“十字交叉”中间体(four-way junction)^[41]。HJ 中间体的形成被认为是同源染色体交叉产生的关键结构,其两种类型的中间体(sHJ 和 dHJ)通过不同的修复途径产生两种类型的交叉^[42,43]。在单链入侵形成 D-loop 结构后,如果 D-loop 的入侵链没有继续纵向延伸,则形成一个“十字交叉”中间体 sHJ(single Holliday junction),进一步被 Mus81(methyl methane sulfonate and ultraviolet sensitive 81)蛋白分解产生 II 型交叉(class II CO)或者非交叉^[39]。如果 D-loop 入侵链继续深入延伸到同源断裂双链中,并捕获断裂双链的第二端进行退火、合成与连接,则形成独特的异源双链 DNA 结构 dHJ(double Holliday junction),并通过 ZMM(ZIP-MSH-MER)途径分解形成 I 型交叉(class I CO)^[40]。

1.3 交叉的形成被严格限制

在减数分裂开始初期,DNA 双链产生大量双链断裂,但不管基因组的大小或者染色体数目的多少,只有极少数的断裂双链被修复形成交叉,其余的大量 DSBs 通过不同的途径和机制修复形成了非交叉。在模式植物拟南芥中,细胞学分析认为每个减数分裂的细胞大约形成 200 个双链断裂,但只有约 10 个断裂双链被修复形成交叉,其余的断裂双链则被修复产生非交叉,但到目前为止抑制交叉形成的机理尚不清楚^[44-48]。

目前,多项研究表明交叉的形成主要受多个机制的共同影响,如交叉保障(obligate CO)、交叉干涉

(CO interference)、交叉稳态(CO homeostasis)和抗交叉因子(anti-CO factor)^[49-59]。交叉保障是指每个配对同源染色体之间需要至少形成一个交叉以保障同源染色体后期的准确分离^[49]。但是,在大部分生物中,一个交叉的形成会抑制其两侧相邻位置中另一个交叉的产生,最终导致交叉在染色体上非随机分布,这种现象被称为交叉干涉^[50,51]。而交叉稳态则作为系统性缓冲机制,在早期交叉前体 DSB 数量急剧变化的情况下保持交叉数量的稳定^[52,53]。近年来,减数分裂重组抑制基因在拟南芥中陆续被发现,揭示了重组中间体如何通过合成型依赖性退火反应(synthesis-dependent strand annealing, SDSA)途径分解为非交叉的机制^[54-59]。

1.4 交叉形成的遗传途径

在大多数真核生物的减数分裂重组中至少存在两种不同的交叉形成途径,根据对交叉干扰是否敏感将其分为 I 型交叉和 II 型交叉^[60-62]。其中, I 型交叉为干涉敏感型交叉,约占交叉总数的 80%~85%,主要受保守的 ZMM 途径的调控,包括 MSH4(mutS homolog 4)^[63]、MSH5(mutS homolog 5)^[64]、MER3(meiotic recombination 3)^[65,66]、ZIP4(zinc transporter 4 precursor)^[67]、SHOC1(shortage of crossovers 1)^[68]、HEI10(human enhancer of cell invasion No.10)^[69]、RFC1(replication factor C1)^[70]、PTD(parting dancers)^[1,71]和 POL2A(DNA polymerase 2A)^[72]等蛋白。而与 I 型交叉对应的是干涉不敏感的 II 型交叉,该交叉的形成依赖于两条平行的途径:MUS81 途径和 FANCD2 途径^[73-75]。

通常情况下,两种交叉形成途径广泛存在于在大多数真核生物中,例如酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*),哺乳动物和植物^[9,76]。但也有例外,如在裂殖酵母(*Schizosaccharomyces pombe*)中,其减数分裂期间只形成 sHJ 中间体,故只存在 II 型交叉形成途径^[39]。而在秀丽隐杆线虫(*Caenorhabditis elegans*)中,所有的交叉均表现为干扰敏感,表明其交叉的产生均通过 I 型交叉形成途径^[77]。此外,值得注意的是,在拟南芥 *msh4 mus81 fancd2* 三突变体中,虽然同时缺乏形成 I 型和 II 类型交叉的所有关键基因,

但仍有交叉形成,这说明阻断I型和II型交叉形成途径后触发了其他未知的交叉形成途径产生交叉^[74,75]。这种现象也被证实存在于果蝇和酵母中,这些证据表明其他交叉形成途径的存在,且与已知的交叉形成途径同时共存或是互斥独存^[78,79]。

2 减数分裂重组抑制基因

在大多数真核生物的减数分裂过程中,双链断裂与交叉形成的比率(DSBs/COs)存在极大差异,如拟南芥中 DSBs/COs 比率约为 200 : 10,这表明生物进化过程中存在着遗传机制限制大多数断裂双链修复形成交叉^[80]。近年来,许多调控减数分裂过程的基因已经被克隆,但抑制减数分裂同源重组的分子机理仍不太清楚^[20,25,81,82]。

多种模式植物(如拟南芥和水稻)基因组测序的完成和全基因组测序技术的成熟,加速了植物减数

分裂重组抑制基因的鉴定与功能研究。2012年,为了揭示减数分裂重组抑制基因,法国科学家 Crismani 等^[54]利用正向遗传学通过 EMS 诱变拟南芥 *zmm* 突变体种子和大规模突变体筛选,并获得多个重组恢复系,最终鉴定出抑制II型交叉形成的 9 个基因(*FANCM*、*MHF1/2*、*TOP3α*、*RECQ4A/B*、*FIGL1*、*RMI1* 和 *FLIP*, 图 2)^[54~57]。该研究巧妙利用了 *zmm* 突变体短角果的表型(因缺乏I型交叉形成的 *ZMM* 基因而育性降低)进行果夹表型恢复系的筛选,其原理是重组抑制基因的突变会降低或者丧失重组抑制作用,这能促进交叉的形成和重组率的提高,进而恢复 *zmm* 突变体的育性,使植株的果夹变长甚至恢复原有长度。这样的重组恢复植株能非常容易的通过果夹长度表型筛选出来,最后通过全基因组测序鉴定突变基因。例如,拟南芥 *FANCM* 基因突变后,恢复了 *zip4* 突变体的育性,使 *zip4* 突变体的短果夹增长,进而筛选获得 *fancm* 突变体。

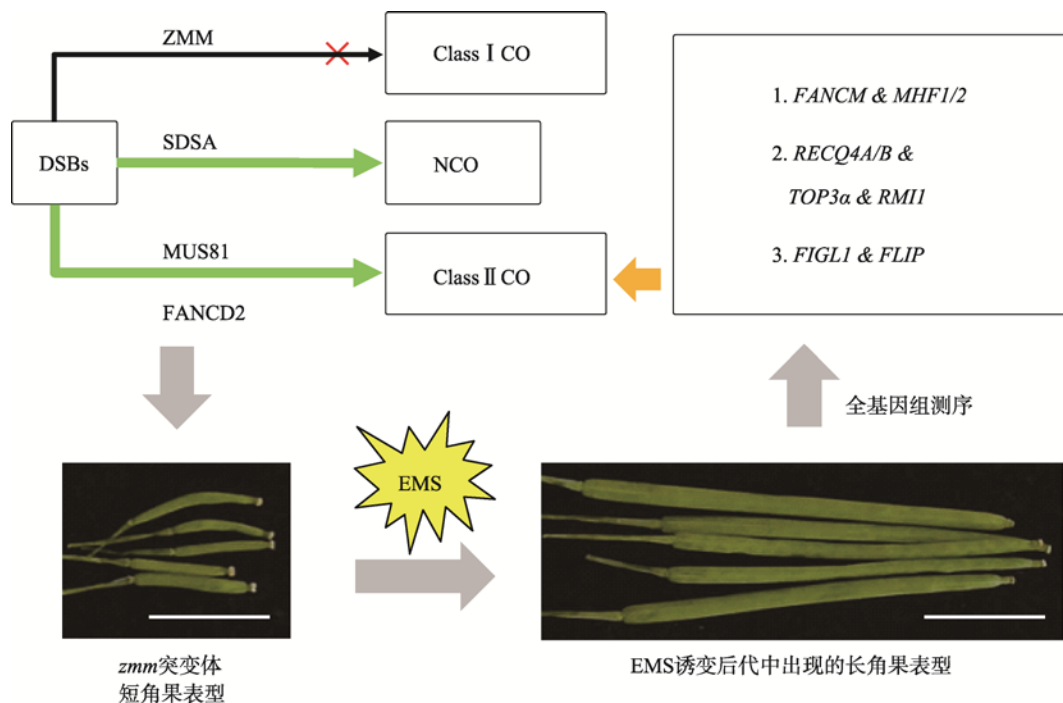


图 2 利用拟南芥 *zmm* 突变体短角果表型筛选重组抑制基因

Fig. 2 Using short silique phenotype of *zmm* mutants to screen for meiotic recombination suppressors in *Arabidopsis*

拟南芥减数分裂重组抑制突变体筛选试验利用减数分裂 *ZMM* 交叉形成途径被关闭后,使得交叉只能通过II型交叉形成途径产生,且导致短角果表型的形成。而 EMS 对 *zmm* 种子的随机诱变导致重组抑制基因的突变和抑制功能的丧失,进而增加了减数分裂重组率,弥补甚至恢复了 *zmm* 背景下的减数分裂交叉形成,在后代中产生长角果表型,进而筛选获得重组抑制突变体,最后通过全基因组测序鉴定出减数分裂重组抑制基因。图中拟南芥角果的标尺为 1 cm。

2.1 FANCM 联合 MHF1 与 MHF2 抑制减数分裂重组

FANCM (fanconi anemia complementation group M) 解旋酶是在拟南芥中发现的首个减数分裂重组抑制蛋白, 研究认为其通过 SDSA 途径分解 D-loops 中间体产生非交叉, 从而抑制 II 型交叉的形成^[54,83,84]。拟南芥 *fancm* 突变体的交叉数量在雌雄两性的减数分裂过程中都得到极大提高, 重组率也比野生型平均增加了 3 倍, 但其植株的生长和生育情况与野生型无异, 表明重组率的增加并不会影响植物的生长发育, 证明植物在自然选择和进化过程中形成了遗传抑制机制限制过多的交叉形成^[54]。由于 I 型交叉特异性指示蛋白 MLH1 不能标记 *fancm* 突变体中增加的交叉, 且花粉荧光标记四分体分析显示 *fancm* 突变体中不存在交叉干涉, 证明 FANCM 不是通过 I 型交叉形成途径抑制重组。而 *fancm mus81* 双突变体表现出严重的生长缺陷且缺乏二价体, 表明 *fancm* 突变体中增加的交叉形成依赖 MUS81 蛋白。因此, FANCM 是通过 II 型交叉形成途径抑制减数分裂重组。进一步研究发现, 双突变体 *fancm-1 spo11-1* 和 *fancm-1 dmc1* 中的交叉未能恢复, 表明 *fancm* 突变体中增加的交叉需要 SPO11 和 DMC1 蛋白的参与, 即 FANCM 的抑制作用发生在 DNA 双链断裂和单链入侵之后^[54]。在酵母中, FANCM 的同源基因 MPH1 和 FML1 分别在芽殖酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) 和裂殖酵母 (*Schizosaccharomyces pombe*) 中同样被证实通过分解 D-loops 中间体促进 SDSA 途径的非交叉形成^[84,85]。

通过对所有 FA (fanconi anemia) 途径相关蛋白的研究, 发现只有 FANCM 的 DNA 结合辅助因子 MHF1 和 MHF2 具有抑制减数分裂重组的功能, 其通过形成异源四聚体来增强 FANCM 解旋酶的活性, 促进 FANCM 与 DNA 结合, 从而抑制 II 型交叉的形成^[55,86-89]。在拟南芥多个突变体中, 双突变体 *msh5 mhf1*、*msh5 mhf2*、*hei10 mhf2* 和三突变体 *hei10 mhf1 mhf2* 中二价体的形成没有差异, 证明 MHF1 和 MHF2 通过相同的途径抑制减数分裂重组^[55]。另一方面, *mhf2* 突变体仅能提高 1.6 倍重组率, 但 *fancm* 和 *fancm mhf2* 突变体却能达 3 倍的增加, 这表明 MHF2 与 FANCM 抑制重组的途径是一致的, 但

MHF2 的抑制作用弱于 FANCM^[55]。此外, 在 *mhf1 mus81* 和 *mhf2 mus81* 双突变体中表现出严重的减数分裂缺陷, 但单突变体 *mhf1*、*mhf2* 和 *mus81* 中未观察到明显的减数分裂缺陷, 表明 MHF1 和 MHF2 对减数分裂重组的抑制作用依赖于 MUS81, 这与 FANCM 的抑制途径相同^[55]。因此, MHF1 和 MHF2 作为辅助因子参与 FANCM 的 II 型交叉形成途径抑制减数分裂重组。

2.2 BTR 重组抑制途径

在减数分裂过程中, 为了避免染色体间的纠缠和断裂, DNA 双链断裂及其修复过程中产生的重组中间体需要通过不同的途径分解成为交叉或者非交叉^[90]。高度保守的 BTR 复合体 (bloom syndrome-Topoisomerase 3 α -RecQ-mediated genome instability 1) 在拟南芥 (BLM-TOP3 α -RMI1) 和酵母 (SGS1-TOP3 α -RMI1) 中通过限制减数分裂重组中间体形成交叉, 进而保障了染色体的完整^[91-94]。例如, BTR 复合体中的 RECQ4A/B、TOP3 α 和 RMI1 蛋白通过同一途径抑制 II 型交叉的形成, 但与 FANCM 抑制途径不同^[58]。RECQ4A 和 RECQ4B 属于哺乳动物 BLM (酵母中为 SGS1) 中的两个冗余同源蛋白, 且 RECQ4B 只存在于十字花科植物中^[95,96], 而 TOP3 α 和 RMI1 为 BTR 复合体中的单拷贝基因^[96], 其相互作用在减数分裂重组中发挥多种功能。

首先, RECQ4A/B、TOP3 α 和 RMI1 蛋白均能通过 D-loop 重组中间体分解途径阻止 II 型交叉的形成, 促进非交叉的产生, 但花粉荧光标记四分体对不同突变体重组率的检查显示不同基因及组合对重组提高的强度不同^[58]。例如, 单突变体 *recq4a* 和 *recq4b* 中的重组率没有显著增加, 而双突变体 *recq4a recq4b* 中的重组率平均提高了 5 倍, 突变体 *recq4a recq4b fancm* 的重组率甚至提高了 9 倍。这样的重组叠加效应也发生在 *top3a* 和 *top3a fancm*、*rmi1* 和 *rmi1 fancm* 突变体中, 其重组率分别平均提高了 3 倍和 5 倍、4 倍和 5 倍, 这表明 BTR 重组抑制途径与 FANCM 途径相互独立但并非功能冗余, 这可能与 BTR 复合体在减数分裂重组过程中发挥多种功能有关^[56,58]。由于 RECQ4A/B、TOP3 α 和 RMI1 两两组合的突变体中 (*recq4ab top3a*、*recq4ab rmi1* 和 *top3a rmi1*)

均表现出严重的减数分裂缺陷,导致不能直接测量这些基因型组合的重组率,但推测其可能通过同一途径协同抑制交叉形成,因为:(1) RECQ4A/B、TOP3 α 和 RMI1 同属于 BTR 蛋白复合体,且均从拟南芥和其他物种的体细胞中共同纯化形成;(2) *recq4ab* 和 *rmi1* 突变体具有相似的重组增加情况;(3) 其与 *fancm* 形成的双突变体均表现重组叠加效应。

其次, TOP3 α 和 RMI1 在拟南芥、酿酒酵母和秀丽隐杆线虫(*Caenorhabditis elegans*)的减数分裂重组过程中具有双重作用:除了限制多余交叉形成以外,还具有分解重组中间体或者预防形成不可分解的重组中间体的作用,但 RECQ4A/B 不参与该过程。同时研究证实 TOP3 α 和 RMI1 的 C-末端结构域中分别包含的锌指结构域(zinc finger domain)和 OB 样折叠结构域(oligo-binding fold domain)是抑制 II 型交叉形成的关键。最近多项研究表明, BTR 复合体可促进一部分 I 型交叉的形成^[56,58,93,97,98]。在拟南芥中, TOP3 α 和 RMI1 的突变基因虽然能增加 II 型交叉,并恢复 *zmm* 突变体中的大部分交叉,但 *top3a* 和 *rmi1* 突变体在第一次减数分裂中期仍然出现一些单价体,这表明在大量 II 型交叉形成的背景下,交叉保障并未完全严格执行,这导致了在单突变体中出现这一微小的重组缺陷^[58]。这也与 Jagut 等^[97,98]对秀丽隐杆线虫中 RMI-1 和 HIM-6 (BLM)能促进 I 型交叉形成的研究结果一致。

2.3 FIGL1-FLIP 复合体通过调节单链入侵抑制 II 型交叉形成

FIGL1 (fidgetin-like-1)和 FLIP (fidgetin-like-1 interacting protein)通过形成具有广泛保守性的复合体,与负责催化同源重组中 DNA 链交换的 DMC1 和 RAD51 重组酶相互作用,共同调节重组过程中单链入侵的关键步骤,从而抑制 II 型交叉的形成^[59]。在真核生物中, FIGL1 和 FLIP 的同源基因在所有脊椎动物和陆地植物中均具有保守性,但在拟南芥和人类中并非完全保守^[59]。例如, FIGL1 直接与 RAD51 和 DMC1 重组酶相互作用,且在植物和哺乳动物中保守,但在 FLIP 中只有人类的同源蛋白与 DMC1 进行了互动,且在拟南芥和人类中均未检测到 FLIP 和 RAD51 之间的相互作用。从更广的范围来看,虽

然 FIGL1 和 FLIP 均在其他遥远进化枝的物种中被检测到,表明该复合体在真核生物进化过程的早期就已经形成,但是其他进化枝的一些物种中已经失去了 FIGL1 和 FLIP。同样,具有 FLIP 的物种中包含 FIGL1,但在多个包含 FIGL1 的物种中并没有检测到 FLIP 的存在,这可能与 FIGL1 是 FIGL1-FLIP 复合体的核心活性因子,而 FLIP 是 FIGL1 活性功能中可有可无的因素有关。最新研究也表明,真核生物中 FLIP 在序列水平上显示出低保守性,如在人类和拟南芥中只有 12% 的序列相同。但是,这些同源蛋白都包含了一个未知功能的 DUF4487 结构域,如在水稻中鉴定的 FLIP 的同源蛋白 MEICA1 (meiotic chromosome association 1)也包含该结构域,其在 DMC1 催化单链入侵之后,与 BTR 复合体中的 TOP3 α 相互作用,抑制水稻减数分裂 I 型交叉形成,这也与拟南芥中 FLIP 抑制 II 型交叉形成的途径不同^[59,99]。

FIGL1 与 FLIP 作为复合体共同抑制减数分裂同源重组,但 FIGL1 抑制程度要高于 FLIP,如 *figl1* 突变体中的重组率提高了 1.7 倍,而 *flip* 突变体中仅提高了 1.3 倍。进一步研究发现, *figl1 flip* 双突变体与 *figl1* 单突变体相比并没有显著提高重组率,表明 FIGL1 与 FLIP 通过同一途径抑制减数分裂交叉形成,其中 FIGL1 是 FIGL1-FLIP 复合体的核心,而 FLIP 是不可缺少的因素^[57,59]。酵母双杂交检测显示, FIGL1-FLIP 复合体通过 FRBD 结构域与 RAD51 和 DMC1 相互作用,其可能通过限制单链入侵调节 RAD51 和 DMC1 重组酶的活性:即 FIGL1 和 FLIP 蛋白的缺失导致 RAD51 和 DMC1 重组酶活性的增强或酶功能作用时间的延长,产生异常重组中间体,如多单链侵入结合分子^[59]。因此, FLIP-FIGL1 复合体通过阻止异常重组中间体的形成来调控单链入侵的质量。与 BTR 复合体相关突变体相似,在 *figl1* 和 *flip* 突变体中观察到少量单价体的出现,表明交叉保障的正常实施在缺失 FIGL1 与 FLIP 蛋白的情况下受到了轻微影响,其可能是由于 RAD51 和 DMC1 重组酶活性受影响而产生了异常重组中间体,而这些本应形成交叉的异常重组中间体未能成功转化形成交叉,导致交叉保障没有严格执行^[59]。

与野生型相比, *figl1* 和 *fancm* 单突变体的重组

率分别增加了 1.7 倍和 3 倍, 而 *figl1 fancm* 双突变体的重组率则显著提高了 6 倍, 这表明 *figl1* 和 *fancm* 对增加减数分裂重组具有叠加效应^[57]。进一步研究表明, *fancm* 突变体仅能在纯合背景下提高重组率, 而杂合背景下的重组率增加受到抑制, 如 Col/Ler F₁ 代杂合背景下 *fancm* 突变体重组率仅提高了 22%, 而在 Col 纯合背景下能增加 300% 的重组率^[57,100]。相反, *figl1* 突变体不存在这种情况, 在纯合和杂合背景下均能同样的提高重组率^[57]。*FANCM* 突变基因在杂合背景下低效的重组提高能力可能与碱基对错配导致的父母亲本染色体间的序列差异有关^[100]。值得注意的是, 虽然 *figl1* 和 *fancm* 突变基因的叠加能极大的提高重组率, 但这些突变体中交叉增加的区域均集中在染色体两侧的端粒, 而着丝粒附近的异染色质仍是减数分裂重组的“冷区”^[57,100,101]。

2.4 抑制 I 型交叉形成的基因

由于以上重组抑制突变体的筛选是建立在 *zmm* 等突变体背景之下, 虽然能快速高效的筛选来获得大量重组恢复系, 但这些恢复系中增加的交叉均来自 II 型交叉形成途径, 因此该研究不能揭示 I 型交叉抑制基因。然而, I 型交叉形成途径调控着 80%~85% 的交叉形成, 是最主要的减数分裂重组调控途径。在秀丽隐杆线虫中, 其减数分裂过程中产生的交叉均来自于 I 型交叉形成途径, 研究发现联会复合体 (synaptonemal complex, SC) 的一些元件蛋白对交叉形成具有双重作用 (促进和抑制)。如在秀丽隐杆线虫中, SYPs (synaptonemal complex central region proteins, SYPs) 对减数分裂交叉形成是至关重要的。但最近的研究发现利用 RNA 干扰部分降低 SYPs (SYP-1、SYP-2 和 SYP-3) 蛋白的表达水平 (削弱 60%~70%) 能减弱交叉干扰, 增加交叉数量, 并减少交叉干扰有效作用距离, 这表明 SYPs 限制了秀丽隐杆线虫中 I 型交叉的形成^[102]。相同的现象也在水稻联会复合体中央元件蛋白 ZEP1 (synaptonemal complex central element protein) 的功能研究中被证实。在水稻 ZEP1 部分功能丧失的突变体中, 交叉干扰强度减弱, 交叉数量也提高了 1.8 倍, 进一步的细胞学和 *zip4 zep1* 双突变体的遗传分析证明, 这些额外增加的交叉主要来自于 I 型交叉形成途径,

这表明水稻 ZEP1 是 I 型交叉抑制基因^[103]。

最近, 利用拟南芥 Col/Ler 染色体替换系 (chromosome substitution lines, CSLs) 和花粉荧光标记系 (fluorescent tagged lines, FTLs) 研究发现, HEI10 蛋白的多态性 (R264G, Col/Ler) 导致 Col/Ler 杂合体中的重组率显著低于 Col/Col 纯合体, 表明 HEI10 基因的自然变异调控植物减数分裂重组^[104]。研究还发现 *hei10/null* 杂合体的重组率显著低于 *hei10/hei10* 纯合体, 说明 HEI10 等位基因对重组的调控具有剂量敏感性。进一步研究表明, 增加 HEI10 基因的拷贝数能提高两倍的重组率, 但交叉干扰程度降低, 更为重要的是 HEI10 双拷贝突变体与 *recq4a recq4b* 突变体结合互作, 通过 I 型和 II 型交叉形成途径显著提高重组率 4 倍^[104,105]。

3 展望

植物减数分裂重组抑制基因是植物在自然选择过程中适应环境变化进化形成的, 是在特定生境条件下为维持重组成本和重组优势间平衡的一种保护机制。这种保护机制体现在植物在感知环境变化过程中对减数分裂重组调控的变化, 为后代适应新的环境提前做好准备。例如, 植物减数分裂重组对环境温度的变化就极为敏感, 在植物和动物中的研究表明减数分裂重组率随着温度的升高而增加^[106~109]。而对植物群体而言, 过高的重组率并不利于种群的稳定遗传, 这可能与高水平的重组率在减数分裂过程中会产生同源染色体分离异常, 进而导致生育缺陷^[110]。同时, 在稳定的生境条件下, 高重组率将破坏植物中存在的有利等位基因组合, 对植物的稳定遗传产生不利影响。因此, 绝大多数真核生物选择限制减数分裂过程中过多的交叉形成。

然而, 对于植物育种学家来说, 由于植物减数分裂重组过程被严格的限制, 这极大的制约了植物育种的效率和质量。而减数分裂重组抑制基因的应用能打破减数分裂重组的自然限制, 极大的提高杂交后代的重组率, 丰富遗传多样性和创造新的等位基因组合, 这样大大提高了获得理想植物表型的概率, 从而提高植物育种的效率和质量。例如在花卉新品种培育中, 获得花色奇特、花型优美的品种是

花卉育种工作的重要目标,但由于传统杂交育种中存在重组率低和遗传连锁的现象,难以获得理想的表型和新颖奇特的品种。而重组率的提高能打破基因的连锁,产生更为丰富的基因组合类型,从而选(培)育出“新奇特”的花卉新品种。因此,植物减数分裂同源重组抑制机制的深入研究对植物育种具有十分重要的意义,也能从分子水平上揭示物种适应环境变化不断进化和演变的机制。

Blary 等^[111]将 FANCM 抑制基因在芜菁(*Brassica rapa*)和甘蓝型油菜(*Brassica napus*)中进行功能缺失突变,发现重组率在芜菁和甘蓝型油菜 *fancm* 突变体中分别提高了 3 倍和 1.3 倍。该研究为减数分裂重组抑制基因在植物育种中的应用提供了基础和方法。首先,敲除目标植物中重组抑制基因,获得重组抑制突变体。然而,由于很难预测错义突变对蛋白质功能的影响,即使这些突变位点位于重组抑制基因高度保守的结构域中,这可能导致突变体中重组抑制基因功能并未完全丧失。因此,改良获得重组抑制基因无义突变的方法尤为重要。近年来,快速发展的 CRISPR/Cas9 技术能在基因的多个同源拷贝中产生稳定和可遗传的突变,为植物靶向诱变提供了新的方法,也为重组抑制基因的转化研究开辟了新的途径。其次,在育种中如何利用超重组植物进行新品种选育也是一个巨大的挑战。目前育种家主要通过杂交育种来选育优秀和理想性状表型的新品种,但目前所有的重组抑制基因均表现为隐性性状,这制约了重组抑制基因在育种中的应用。因此,育种策略和显性育种系统的开发也是重组抑制基因育种应用中值得重点研究的方向。

近年来,对植物减数分裂重组抑制基因的研究取得了突破性进展,但是对抑制同源重组的调控网络和关键环节仍然不太清楚,如是否存在与 3 条交叉形成途径之外的其他类型的途径?是否存在显性重组抑制基因调控交叉形成?新技术和新方法的问世和应用能加快减数分裂重组抑制基因的筛选与鉴定研究。例如,利用流式细胞仪和花粉荧光标记系高效快速的测定染色体特定区间的重组率,进而筛选获得重组率提高或降低的突变体,为植物减数分裂重组调控机制的研究提供科研材料^[112~114]。因此,应该加大对重组抑制基因及其调控途径的研究,为

充分利用植物的遗传潜力进行创新育种奠定理论基础。

参考文献(References):

- [1] Lu P, Wijeratne AJ, Wang Z, Copenhaver GP, Ma H. *Arabidopsis* PTD is required for type I crossover formation and affects recombination frequency in two different chromosomal regions. *J Genet Genomics*, 2014, 41(3): 165–175. [DOI]
- [2] Li YF, Cheng ZK. Molecular mechanism of meiotic recombination in plants. *Sci Sin Vit*, 2015, 45(6): 537–543. [DOI]
- [3] Nambiar M, Smith GR. Repression of harmful meiotic recombination in centromeric regions. *Semin Cell Dev Biol*, 2016, 54(2): 188–197. [DOI]
- [4] Kohl KP, Sekelsky J. Meiotic and mitotic recombination in meiosis. *Genetics*, 2013, 194(2): 327–334. [DOI]
- [5] Mercier R, Mézard C, Jenczewski E, Macaisne N, Grelon M. The molecular biology of meiosis in plants. *Annu Rev Plant Biol*, 2015, 66(1): 297–327. [DOI]
- [6] Keeney S. Mechanism and control of meiotic recombination initiation. *Curr Top Dev Biol*, 2001, 52(4): 1–53. [DOI]
- [7] Zamariola L, Tiang CL, De Storme N, Pawlowski W, Geelen D. Chromosome segregation in plant meiosis. *Front Plant Sci*, 2014, 5: 279. [DOI]
- [8] Li F, De Storme N, Geelen D. Dynamics of male meiotic recombination frequency during plant development using Fluorescent Tagged Lines in *Arabidopsis thaliana*. *Sci Rep*, 2017, 7: 42535. [DOI]
- [9] Hunter N. Meiotic recombination: The essence of heredity. *CSH Perspect Biol*, 2015, 7(12): 381–442. [DOI]
- [10] Hadany L, Comeron JM. Why are sex and recombination so common? *Ann N Y Acad Sci*, 2008, 1133(1): 26–43. [DOI]
- [11] Barton NH, Charlesworth B. Why sex and recombination? *Science*, 1998, 281(5385): 1986–1990. [DOI]
- [12] Youds JL, Boulton SJ. The choice in meiosis—defining the factors that influence crossover or non-crossover formation. *J Cell Sci*, 2011, 124(4): 501–513. [DOI]
- [13] Cnudde F, Gerats T. Meiosis: inducing variation by reduction. *Plant Biol*, 2005, 7(4): 321–341. [DOI]
- [14] Baudat F, Imai Y, De Massy B. Meiotic recombination in mammals: localization and regulation. *Nat Rev Genet*, 2013, 14(11): 794–806. [DOI]

- [15] Yelina N, Diaz P, Lambing C, Henderson IR. Epigenetic control of meiotic recombination in plants. *Sci China Life Sci*, 2015, 58(3): 223–231. [DOI]
- [16] Modliszewski JL, Copenhaver GP. Meiotic recombination gets stressed out: CO frequency is plastic under pressure. *Curr Opin Plant Biol*, 2017, 36: 95–102. [DOI]
- [17] Robert T, Nore A, Brun C, Maffre C, Crimi B, Guichard V, Bourbon HM, de Massy B. The TopoVIB-Like protein family is required for meiotic DNA double-strand break formation. *Science*, 2016, 351(6276): 943–949. [DOI]
- [18] Vrielynck N, Chambon A, Vezon D, Pereira L, Chelysheva L, De Muyt A, Mézard C, Mayer C, Grelon M. A DNA topoisomerase VI-like complex initiates meiotic recombination. *Science*, 2016, 351(6276): 939–943. [DOI]
- [19] Fu M, Wang C, Xue F, Higgins J, Chen M, Zhang D, Liang W. The DNA topoisomerase VI-B subunit OsMTOPVIB is essential for meiotic recombination initiation in rice. *Mol Plant*, 2016, 9(11): 1539–1541. [DOI]
- [20] Stacey NJ, Kuromori T, Azumi Y, Roberts G, Breuer C, Wada T, Maxwell A, Roberts K, Sugimoto-Shirasu K. *Arabidopsis* SPO11-2 functions with SPO11-1 in meiotic recombination. *Plant J*, 2006, 48(2): 206–216. [DOI]
- [21] Hartung F, Wurzel-Wildersinn R, Fuchs J, Schubert I, Suer S, Puchta H. The catalytically active tyrosine residues of both SPO11-1 and SPO11-2 are required for meiotic double-strand break induction in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2007, 19(10): 3090–3099. [DOI]
- [22] Miao C, Tang D, Zhang H, Wang M, Li Y, Tang S, Yu H, Gu M, Cheng Z. Central region component1, a novel synaptonemal complex component, is essential for meiotic recombination initiation in rice. *Plant Cell*, 2013, 25(8): 2998–3009. [DOI]
- [23] De Muyt A, Vezon D, Gendrot G, Gallois J L, Stevens R, Grelon M. AtPRD1 is required for meiotic double strand break formation in *Arabidopsis thaliana*. *EMBO J*, 2007, 26(18): 4126–4137. [DOI]
- [24] De Muyt A, Pereira L, Vezon D, Chelysheva L, Gendrot G, Chambon A, Lainé-Choinard S, Pelletier G, Mercier R, Nogué F. A high throughput genetic screen identifies new early meiotic recombination functions in *Arabidopsis thaliana*. *PLoS Genet*, 2009, 5(9): e1000654. [DOI]
- [25] Zhang C, Song Y, Cheng ZH, Wang YX, Zhu J, Ma H, Xu L, Yang ZN. The *Arabidopsis thaliana* DSB formation (AtDFO) gene is required for meiotic double-strand break formation. *Plant*, 2012, 72(2): 271–281. [DOI]
- [26] Kumar R, Bourbon HM, De Massy B. Functional conservation of Mei4 for meiotic DNA double-strand break formation from yeasts to mice. *Genes Dev*, 2010, 24(12): 1266–1280. [DOI]
- [27] Keeney S. Spo11 and the formation of DNA double-strand breaks in meiosis. In: *Recombination and meiosis*. Springer, 2007, 81–123. [DOI]
- [28] Lam I, Keeney S. Mechanism and regulation of meiotic recombination initiation. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2015, 7(1): a016634. [DOI]
- [29] Edlinger B, Schlögelhofer P. Have a break: determinants of meiotic DNA double strand break (DSB) formation and processing in plants. *J Exp Bot*, 2011, 62(5): 1545–1563. [DOI]
- [30] Šamanić I, Simunić J, Riha K, Puizina J. Evidence for distinct functions of MRE11 in *Arabidopsis* meiosis. *PLoS One*, 2013, 8(10): e78760. [DOI]
- [31] Jolivet S, Vezon D, Froger N, Mercier R. Non conservation of the meiotic function of the Ski8/Rec103 homolog in *Arabidopsis*. *Genes Cells*, 2006, 11(6): 615–622. [DOI]
- [32] Lee JH, Paull TT. ATM activation by DNA double-strand breaks through the Mre11-Rad50-Nbs1 complex. *Science*, 2005, 308(5721): 551–554. [DOI]
- [33] Paull TT, Deshpande RA. The Mre11/Rad50/Nbs1 complex: recent insights into catalytic activities and ATP-driven conformational changes. *Exp Cell Res*, 2014, 329(1): 139–147. [DOI]
- [34] Da Ines O, Degroote F, Goubely C, Amiard S, Gallego ME, White CI. Meiotic recombination in *Arabidopsis* is catalysed by DMC1, with RAD51 playing a supporting role. *PLoS Genet*, 2013, 9(9): e1003787. [DOI]
- [35] Macqueen AJ. Catching a (double-strand) break: the Rad51 and Dmc1 strand exchange proteins can co-occupy both ends of a meiotic DNA double-strand break. *PLoS Genet*, 2015, 11(12): e1005741. [DOI]
- [36] Kurzbauer MT, Uanschou C, Chen D, Schlögelhofer P. The recombinases DMC1 and RAD51 are functionally and spatially separated during meiosis in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2012, 24(5): 2058–2070. [DOI]
- [37] Wright WD, Heyer WD. Rad54 functions as a heteroduplex DNA pump modulated by its DNA substrates and Rad51 during D loop formation. *Mol Cell*, 2014, 53(3): 420–432. [DOI]

- [38] Heyer WD, Ehmsen KT, Liu J. Regulation of homologous recombination in eukaryotes. *Annu Rev Genet*, 2010, 44: 113–139. [DOI]
- [39] Cromie GA, Hyppa RW, Taylor AF, Zakharyevich K, Hunter N, Smith GR. Single Holliday junctions are intermediates of meiotic recombination. *Cell*, 2006, 127(6): 1167–1178. [DOI]
- [40] Lambing C, Franklin FC, Wang CR. Understanding and manipulating meiotic recombination in plants. *Plant Physiol*, 2017, 173(3): 1530–1542. [DOI]
- [41] Hastings PJ. Holliday junction. *Encycl Genet*, 2001: 954–955. [DOI]
- [42] Chen XB, Melchionna R, Denis CM, Gaillard PHL, Blasina A, Van De Weyer I, Boddy MN, Russell P, Vialard J, McGowan CH. Human Mus81-associated endonuclease cleaves Holliday junctions *in vitro*. *Mol Cell*, 2001, 8(5): 1117–1127. [DOI]
- [43] Ip SC, Rass U, Blanco MG, Flynn HR, Skehel JM, West SC. Identification of Holliday junction resolvases from humans and yeast. *Nature*, 2008, 456(7220): 357–361. [DOI]
- [44] Giraut L, Falque M, Drouaud J, Pereira L, Martin OC, Mézard C. Genome-wide crossover distribution in *Arabidopsis thaliana* meiosis reveals sex-specific patterns along chromosomes. *PLoS Genet*, 2011, 7(11): e1002354. [DOI]
- [45] Ferdous M, Higgins JD, Osman K, Lambing C, Roitinger E, Mechtler K, Armstrong SJ, Perry R, Pradillo M, Cuñado N. Inter-homolog crossing-over and synapsis in *Arabidopsis* meiosis are dependent on the chromosome axis protein AtASY3. *PLoS Genet*, 2012, 8(2): e1002507. [DOI]
- [46] Lu P, Han X, Qi J, Yang J, Wijeratne AJ, Li T, Ma H. Analysis of *Arabidopsis* genome-wide variations before and after meiosis and meiotic recombination by resequencing Landsberg erecta and all four products of a single meiosis. *Genome Res*, 2012, 22(3): 508–518. [DOI]
- [47] Sun Y, Ambrose JH, Haughey BS, Webster TD, Pierrie SN, Munoz DF, Wellman EC, Cherian S, Lewis SM, Berchowitz LE, Copenhaver GP. Deep genome-wide measurement of meiotic gene conversion using tetrad analysis in *Arabidopsis thaliana*. *PLoS Genet*, 2012, 8(10): e1002968. [DOI]
- [48] Qi J, Chen Y, Copenhaver GP, Ma H. Detection of genomic variations and DNA polymorphisms and impact on analysis of meiotic recombination and genetic mapping. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2014, 111(27): 10007–10012. [DOI]
- [49] Jones GH, Franklin FC. Meiotic crossing-over: obligation and interference. *Cell*, 2006, 126(2): 246–248. [DOI]
- [50] Copenhaver GP, Housworth EA, Stahl FW. Crossover interference in *Arabidopsis*. *Genetics*, 2002, 160(4): 1631–1639. [DOI]
- [51] Berchowitz LE, Copenhaver GP. Genetic interference: don't stand so close to me. *Curr Genomics*, 2010, 11(2): 91–102. [DOI]
- [52] Sidhu GK, Fang C, Olson MA, Falque M, Martin OC, Pawlowski WP. Recombination patterns in maize reveal limits to crossover homeostasis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2015, 112(52): 15982–15987. [DOI]
- [53] Wang S, Zickler D, Kleckner N, Zhang L. Meiotic crossover patterns: obligatory crossover, interference and homeostasis in a single process. *Cell Cycle*, 2015, 14(3): 305–314. [DOI]
- [54] Crismani W, Girard C, Froger N, Pradillo M, Santos J L, Chelysheva L, Copenhaver G P, Horlow C, Mercier R. FANCM limits meiotic crossovers. *Science*, 2012, 336(6088): 1588–1590. [DOI]
- [55] Girard C, Crismani W, Froger N, Mazel J, Lemhemdi A, Horlow C, Mercier R. FANCM-associated proteins MHF1 and MHF2, but not the other Fanconi anemia factors, limit meiotic crossovers. *Nucleic Acids Res*, 2014, 42(14): 9087–9095. [DOI]
- [56] Séguéla-Arnaud M, Crismani W, Larchevêque C, Mazel J, Froger N, Choinard S, Lemhemdi A, Macaisne N, Van Leene J, Gevaert K, de Jaeger G, Chelysheva L, Mercier R. Multiple mechanisms limit meiotic crossovers: TOP3 α and two BLM homologs antagonize crossovers in parallel to FANCM. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2015, 112(15): 4713–4718. [DOI]
- [57] Girard C, Chelysheva L, Choinard S, Froger N, Macaisne N, Lemhemdi A, Mazel J, Crismani W, Mercier R. AAA-ATPase FIDGETIN-LIKE 1 and helicase FANCM antagonize meiotic crossovers by distinct mechanisms. *PLoS Genet*, 2015, 11(7): e1005369. [DOI]
- [58] Séguéla-Arnaud M, Choinard S, Larchevêque C, Girard C, Froger N, Crismani W, Mercier R. RMI1 and TOP3 α limit meiotic CO formation through their C-terminal domains. *Nucleic Acids Res*, 2017, 45(4): 1860–1871. [DOI]
- [59] Fernandes JB, Duhamel M, Seguéla-Arnaud M, Froger N, Girard C, Choinard S, Solier V, De Winne N, De Jaeger G, Gevaert K, Andrey P, Grelon M, Guerois R,

- Kumar R, Mercier R. FIGL1 and its novel partner FLIP form a conserved complex that regulates homologous recombination. *PLoS Genet*, 2017, 14(4): e1007317. [DOI]
- [60] Zickler D, Kleckner N. A few of our favorite things: Pairing, the bouquet, crossover interference and evolution of meiosis. *Semin Cell Dev Biol*, 2016, 54: 135–148. [DOI]
- [61] Bomblies K, Jones G, Franklin C, Zickler D, Kleckner N. The challenge of evolving stable polyploidy: could an increase in “crossover interference distance” play a central role? *Chromosoma*, 2016, 125: 287–300. [DOI]
- [62] Hatkevich T, Kohl KP, McMahan S, Hartmann MA, Williams AM, Sekelsky J. Bloom syndrome helicase promotes meiotic crossover patterning and homolog disjunction. *Curr Biol*, 2017, 27(1): 96–102. [DOI]
- [63] Higgins JD, Armstrong SJ, Franklin FCH, Jones GH. The *Arabidopsis* MutS homolog AtMSH4 functions at an early step in recombination: evidence for two classes of recombination in *Arabidopsis*. *Gene Dev*, 2004, 18(20): 2557–2570. [DOI]
- [64] Higgins JD, Vignard J, Mercier R, Pugh AG, Franklin FCH, Jones GH. AtMSH5 partners AtMSH4 in the class I meiotic crossover pathway in *Arabidopsis thaliana*, but is not required for synapsis. *Plant J*, 2008, 55(1): 28–39. [DOI]
- [65] Chen C, Zhang W, Timofejeva L, Gerardin Y, Ma H. The *Arabidopsis* ROCK-N-ROLLERS gene encodes a homolog of the yeast ATP-dependent DNA helicase MER3 and is required for normal meiotic crossover formation. *Plant J*, 2005, 43(3): 321–334. [DOI]
- [66] Mercier R, Jolivet S, Vezon D, Huppe E, Chelysheva L, Giovanni M, Nogue F, Doutriaux M P, Horlow C, Grelon M, Mézard C. Two meiotic crossover classes cohabit in *Arabidopsis*: one is dependent on MER3, whereas the other one is not. *Curr Biol*, 2005, 15(8): 692–701. [DOI]
- [67] Chelysheva L, Gendrot G, Vezon D, Doutriaux M-P, Mercier R, Grelon M. Zip4/Spo22 is required for class I CO formation but not for synapsis completion in *Arabidopsis thaliana*. *PLoS Genet*, 2007, 3(5): e83. [DOI]
- [68] Macaisne N, Novatchkova M, Peirera L, Vezon D, Jolivet S, Froger N, Chelysheva L, Grelon M, Mercier R. SHOC1, an XPF endonuclease-related protein, is essential for the formation of class I meiotic crossovers. *Curr Biol*, 2008, 18(18): 1432–1437. [DOI]
- [69] Chelysheva L, Vezon D, Chambon A, Gendrot G, Pereira L, Lemhemdi A, Vrielynck N, Le Guin S, Novatchkova M, Grelon M. The *Arabidopsis* HEI10 is a new ZMM protein related to Zip3. *PLoS Genet*, 2012, 8(7): e1002799. [DOI]
- [70] Wang Y, Cheng Z, Huang J, Shi Q, Hong Y, Copenhaver GP, Gong Z, Ma H. The DNA replication factor RFC1 is required for interference-sensitive meiotic crossovers in *Arabidopsis thaliana*. *PLoS Genet*, 2012, 8(11): e1003039. [DOI]
- [71] Macaisne N, Vignard J, Mercier R. SHOC1 and PTD form an XPF-ERCC1-like complex that is required for formation of class I crossovers. *J Cell Sci*, 2011, 124(16): 2687–2691. [DOI]
- [72] Huang J, Cheng Z, Wang C, Hong Y, Su H, Wang J, Copenhaver G P, Ma H, Wang Y. Formation of interference-sensitive meiotic cross-overs requires sufficient DNA leading-strand elongation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2015, 112(40): 12534–12539. [DOI]
- [73] Berchowitz LE, Francis KE, Bey AL, Copenhaver GP. The role of AtMUS81 in interference-insensitive crossovers in *Arabidopsis thaliana*. *PLoS Genet*, 2007, 3(8): e132. [DOI]
- [74] Higgins JD, Buckling EF, Franklin FC, Jones GH. Expression and functional analysis of AtMUS81 in *Arabidopsis* meiosis reveals a role in the second pathway of crossing-over. *Plant J*, 2008, 54(1): 152–162. [DOI]
- [75] Kurzbauer MT, Pradillo M, Kerzendorfer C, Sims J, Ladurner R, Oliver C, Janisiw MP, Mosiolek M, Schweizer D, Copenhaver GP, Schlögelhofer P. *Arabidopsis thaliana* FANCD2 promotes meiotic crossover formation. *Plant Cell*, 2018, 30(2): 415–428. [DOI]
- [76] Pradillo M, Varas J, Oliver C, Santos JL. On the role of AtDMC1, AtRAD51 and its paralogs during *Arabidopsis* meiosis. *Front Plant Sci*, 2014, 5: 23. [DOI]
- [77] Hillers KJ, Villeneuve AM. Chromosome-wide control of meiotic crossing over in *C. elegans*. *Curr Biol*, 2003, 13(18): 1641–1647. [DOI]
- [78] Yildiz Ö, Majumder S, Kramer B, Sekelsky JJ. *Drosophila* MUS312 interacts with the nucleotide excision repair endonuclease MEI-9 to generate meiotic crossovers. *Mol Cell*, 2002, 10(6): 1503–1509. [DOI]
- [79] Argueso JL, Wanat J, Gemici Z, Alani E. Competing crossover pathways act during meiosis in *Saccharomyces cerevisiae*. *Genetics*, 2004, 168(4): 1805–1816. [DOI]
- [80] Crismani W, Mercier R. What limits meiotic crossovers? *Cell Cycle*, 2012, 11(19): 3527–3528. [DOI]

- [81] Mets DG, Meyer BJ. Condensins regulate meiotic DNA break distribution, thus crossover frequency, by controlling chromosome structure. *Cell*, 2009, 139(1): 73–86. [DOI]
- [82] Henderson IR. Control of meiotic recombination frequency in plant genomes. *Curr Opin Plant Biol*, 2012, 15(5): 556–561. [DOI]
- [83] Gari K, Décaillot C, Stasiak AZ, Stasiak A, Constantinou A. The Fanconi anemia protein FANCM can promote branch migration of Holliday junctions and replication forks. *Mol Cell*, 2008, 29(1): 141–148. [DOI]
- [84] Lorenz A, Osman F, Sun W, Nandi S, Steinacher R, Whitby MC. The fission yeast FANCM ortholog directs non-crossover recombination during meiosis. *Science*, 2012, 336(6088): 1585–1588. [DOI]
- [85] Prakash R, Satory DE, Papusha A, Scheller J, Kramer W, Krejci L, Klein H, Haber J, Sung P, Ira G. Yeast Mph1 helicase dissociates Rad51-made D-loops: implications for crossover control in mitotic recombination. *Gene Dev*, 2009, 23(1): 67–79. [DOI]
- [86] Yan Z, Delannoy M, Ling C, Daece D, Osman F, Muniandy PA, Shen X, Oostra AB, Du H, Steltenpool J, Lin T, Schuster B, Décaillot C, Stasiak A, Stasiak AZ, Stone S, Hoatlin ME, Schindler D, Woodcock CL, Joenje H, Sen R, de Winter JP, Li L, Seidman MM, Whitby MC, Myung K, Constantinou A, Wang W. A histone-fold complex and FANCM form a conserved DNA-remodeling complex to maintain genome stability. *Mol Cell*, 2010, 37(6): 865–878. [DOI]
- [87] Singh T R, Saro D, Ali A M, Zheng XF, Du CH, Killen MW, Sachpatzidis A, Wahengbam K, Pierce AJ, Xiong Y, Sung P, Meetei AR. MHF1-MHF2, a histone-fold-containing protein complex, participates in the Fanconi anemia pathway via FANCM. *Mol Cell*, 2010, 37(6): 879–886. [DOI]
- [88] Yang H, Zhang T, Tao Y, Wu L, Li HT, Zhou JQ, Zhong C, Ding J. *Saccharomyces cerevisiae* MHF complex structurally resembles the histones (H3-H4)₂ heterotetramer and functions as a heterotetramer. *Structure*, 2012, 20(2): 364–370. [DOI]
- [89] Tao Y, Jin C, Xu L, Qi S, Chu L, Niu L, Yao X, Teng M. The structure of the FANCM–MHF complex reveals physical features for functional assembly. *Nat Commun*, 2013, 3: 782. [DOI]
- [90] Zakharyevich K, Tang S, Ma Y, Hunter N. Delineation of joint molecule resolution pathways in meiosis identifies a crossover-specific resolvase. *Cell*, 2012, 149(2): 334–347. [DOI]
- [91] Muys AD, Jessop L, Kolar E, Sourirajan A, Chen J, Dayani Y, Lichten M. BLM helicase ortholog Sgs1 is a central regulator of meiotic recombination intermediate metabolism. *Mol Cell*, 2012, 46(1): 43–53. [DOI]
- [92] Kaur H, De Muys A, Lichten M. Top3-Rmi1 DNA single-strand decatenase is integral to the formation and resolution of meiotic recombination intermediates. *Mol Cell*, 2015, 57(4): 583–594. [DOI]
- [93] Tang S, Wu MK, Zhang R, Hunter N. Pervasive and essential roles of the Top3-Rmi1 decatenase orchestrate recombination and facilitate chromosome segregation in meiosis. *Mol Cell*, 2015, 57(4): 607–621. [DOI]
- [94] Fasching CL, Cejka P, Kowalczykowski SC, Heyer WD. Top3-Rmi1 dissolve Rad51-mediated D loops by a topoisomerase-based mechanism. *Mol Cell*, 2015, 57(4): 595–606. [DOI]
- [95] Hartung F, Puchta H. The RecQ gene family in plants. *J Plant Physiol*, 2006, 163(3): 287–296. [DOI]
- [96] Hartung F, Suer S, Puchta H. Two closely related RecQ helicases have antagonistic roles in homologous recombination and DNA repair in *Arabidopsis thaliana*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104(47): 18836–18841. [DOI]
- [97] Schvarzstein M, Pattabiraman D, Libuda DE, Ramadugu A, Tam A, Martinezperez E, Roelens B, Zawadzki KA, Yokoo R, Rosu S, Severson AF, Meyer BJ, Nabeshima K, Villeneuve AM. DNA helicase HIM-6/BLM both promotes MutSγ-dependent crossovers and antagonizes MutSγ-independent interhomolog associations during *Caenorhabditis elegans* meiosis. *Genetics*, 2014, 198(1): 193–207. [DOI]
- [98] Jagut M, Hamminger P, Woglar A, Millonigg S, Paulin L, Mikl M, Stritto MRD, Tang L, Habacher C, Tam A, Gallach M, von Haeseler A, Villeneuve AM, Jantsch V. Separable roles for a *Caenorhabditis elegans* RMI1 homolog in promoting and antagonizing meiotic crossovers ensure faithful chromosome inheritance. *PLoS Biol*, 2016, 14(3): e1002412. [DOI]
- [99] Hu Q, Li Y, Wang H, Shen Y, Zhang C, Du G, Tang D, Cheng Z. Meiotic chromosome association 1 interacts with TOP3α and regulates meiotic recombination in rice. *Plant Cell*, 2017, 29(7): 1697–1708. [DOI]
- [100] Ziolkowski PA, Berchowitz LE, Lambing C, Yelina NE, Zhao X, Kelly KA, Choi K, Ziolkowska L, June V, Sanchez-Moran E, Franklin C, Copenhaver GP, Henderson

- IR. Juxtaposition of heterozygous and homozygous regions causes reciprocal crossover remodelling via interference during *Arabidopsis* meiosis. *eLife*, 2015, 4: e03708. [DOI]
- [101] Yelina NE, Lambing C, Hardcastle TJ, Zhao X, Santos B, Henderson IR. DNA methylation epigenetically silences crossover hot spots and controls chromosomal domains of meiotic recombination in *Arabidopsis*. *Gene Dev*, 2015, 29(20): 2183–2202. [DOI]
- [102] Libuda DE, Uzawa S, Meyer BJ, Villeneuve AM. Meiotic chromosome structures constrain and respond to designation of crossover sites. *Nature*, 2013, 502(7473): 703–706. [DOI]
- [103] Wang K, Wang C, Liu Q, Liu W, Fu Y. Increasing the genetic recombination frequency by partial loss of function of the synaptonemal complex in rice. *Mol Plant*, 2015, 8(8): 1295–1298. [DOI]
- [104] Ziolkowski PA, Underwood CJ, Lambing C, Martinez-Garcia M, Lawrence EJ, Ziolkowska L, Griffin C, Choi K, Franklin FCH, Martienssen RA, Henderson IR. Natural variation and dosage of the HEI10 meiotic E3 ligase control *Arabidopsis* crossover recombination. *Genes Dev*, 2017, 31(3): 306–317. [DOI]
- [105] Serra H, Lambing C, Griffin CH, Topp SD, Nageswaran DC, Underwood CJ, Ziolkowski PA, Séguéla-Arnaud M, Fernandes JB, Mercier R, Henderson IR. Massive crossover elevation via combination of HEI10 and recq4a recq4b during *Arabidopsis* meiosis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2018, 115(10): 2437–2442. [DOI]
- [106] Francis KE, Lam SY, Harrison BD, Bey AL, Berchowitz LE, Copenhaver GP. Pollen tetrad-based visual assay for meiotic recombination in *Arabidopsis*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104(10): 3913–3918. [DOI]
- [107] Higgins JD, Perry RM, Barakate A, Ramsay L, Waugh R, Halpin C, Armstrong SJ, Franklin FC. Spatiotemporal asymmetry of the meiotic program underlies the predominantly distal distribution of meiotic crossovers in barley. *Plant Cell*, 2012, 24(10): 4096–4109. [DOI]
- [108] Phillips D, Jenkins G, Macaulay M, Nibau C, Wnetrzak J, Fallding D, Colas I, Oakey H, Waugh R, Ramsay L. The effect of temperature on the male and female recombination landscape of barley. *New Phytol*, 2015, 208(2): 421–429. [DOI]
- [109] Si W, Yuan Y, Huang J, Zhang X, Zhang Y, Zhang Y, Tian D, Wang C, Yang Y, Yang S. Widely distributed hot and cold spots in meiotic recombination as shown by the sequencing of rice F₂ plants. *New Phytol*, 2015, 206(4): 1491–1502. [DOI]
- [110] Fernandes JB, Séguéla-Arnaud M, Larchevêque C, Lloyd AH, Mercier R. Unleashing meiotic crossovers in hybrid plants. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2018, 115(10): 2431–2436. [DOI]
- [111] Blary A, Gonzalo A, Eber F, Bérard A, Bergès H, Bessoltane N, Charif D, Charpentier C, Cromer L, Fourment J, Genevriez C, Le Paslier MC, Lodé M, Lucas MO, Nesi N, Lloyd A, Chèvre AM, Jenczewski E. FANCM limits meiotic crossovers in *Brassica* crops. *Front Plant Sci*, 2018, 9: 368. [DOI]
- [112] Berchowitz LE, Copenhaver GP. Fluorescent *Arabidopsis* tetrads: a visual assay for quickly developing large crossover and crossover interference data sets. *Nat Protoc*, 2008, 3(1): 41–50. [DOI]
- [113] Yelina NE, Ziolkowski PA, Miller N, Zhao X, Kelly KA, Muñoz DF, Mann DJ, Copenhaver GP, Henderson IR. High-throughput analysis of meiotic crossover frequency and interference via flow cytometry of fluorescent pollen in *Arabidopsis thaliana*. *Nat Protoc*, 2013, 8(11): 2119–2134. [DOI]
- [114] Li F. Meiotic recombination suppressors of *Arabidopsis thaliana*[Dissertation]. UGent University, 2018. [DOI]

(责任编辑: 张宪省)