

减数分裂及其基因研究进展

王 台 丁兆军

(中国科学院植物研究所资源植物分子与发育生物学研究中心, 北京 100093. * 联系人, E-mail: twang@ns.ibcas.ac.cn)

摘要 联会、重组和分离是减数分裂的关键环节. 近几年, 以酵母为主要模式实验材料, 利用突变体等主要研究手段, 克隆了一系列调控这些关键环节的基因, 并对它们的分子调控机制有了较深入的了解. 在这些基因中, 一部分在有丝分裂和减数分裂中的功能是保守的, 另一部分是减数分裂特异的. 许多单基因突变就会导致减数分裂的异常. 这为今后通过分子生物学技术调控减数分裂奠定了一定的基础.

关键词 减数分裂 基因 联会 同源重组 染色体分离

减数分裂由相当于两次连续有丝分裂的减数分裂 I 和减数分裂 II 组成, 其中减数分裂 I 在细胞学水平上明显地分为细线期、偶线期、粗线期、双线期和终变期 5 个时期. 在偶线期, 同源染色体配对, 形成联会复合体; 在粗线期, 完全配对的非姐妹染色单体之间发生同源重组, 形成交叉. 交叉在双线期特别明显. 减数分裂 I 完成后, 同源染色体移向两极, 每极细胞的染色体数目减半. 减数分裂 II 与一般的有丝分裂相似的是姐妹染色体之间的分离. 性母细胞经过两次连续的分裂, 形成 4 个单倍体细胞. 受精后, 合子中的染色体数目恢复到二倍体, 保持了生物体遗传的稳定性. 同时, 在减数分裂过程中, 同源染色体的联会与重组产生了一些新的可遗传的变异, 这些可遗传的变异是生物进化和多样性的基础.

虽然减数分裂相当于由两次连续的有丝分裂组成, 并且减数分裂和有丝分裂的许多调控分子在功能或结构上是保守性的^[1], 但是可以肯定, 减数分裂的调控方式有较大幅度的修饰, 以保证减数分裂染色体行为的特殊性: (i) 重组是发生在同源染色体间, 不是在姐妹染色体间; (ii) 减数分裂 I 是同源染色体之间的分离, 减数分裂 II 是姐妹染色体的分离. 联会、重组和分离是减数分裂的关键事件. 近几年, 人们对减数分裂的细胞学、生化和遗传机制进行了深入研究, 利用酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)以及动植物模式生物克隆了一系列减数分裂关键基因, 通过突变体等技术详细分析了其中大部分基因的功能, 对这些关键事件的分子机制有了较深入的了解.

1 联会与联会复合体

在联会之前, 同源染色体通过间质同源搜索(interstitial homology searches)和端粒接触进行配对. 人们普遍认为, 同源染色体的识别信息是以 DNA 为

基础的. 染色体不同区域在同源染色体配对及后来的交换重组中发挥不同的功能. 每个染色体均有一段区域, 即使与其他部分分离, 也能发生接近正常水平的重组, 这些区域称为同源识别区域(homolog recognition regions, HRRs). HRRs 可能在染色体的核定位过程中发挥重要作用, 染色体合适的核定位有助于同源染色体的正确识别, 从而促进同源染色体联会^[2~5].

从减数分裂前期 I 细线期开始, 蛋白质等组分沿着姐妹染色单体间隙的纵轴方向形成一个轴向元件(axial element, AE), 当联会完成时, 配对的同源染色体上的两个 AE 按纵轴方向相互紧密接触, 中间由蛋白质组成的中央区(central region, CR)连接. 在 CR 内, 中央元件(central element, CE)等距离地平行于两侧的 AE, 此时的 AE 被称作侧向元件(lateral element, LE). 而横向纤维(transverse filament, TF)则以与上述结构垂直的方向和两侧的 LE 连接. 这一带状的蛋白结构称为联会复合体(synaptonemal complex, SC)^[5]. 在联会过程中, 同源染色体上的一对 AE 首先在 1 个或一些位点连接, 这些位点被为轴向联合(axial associations). 一般认为, 轴向联合是联会的起始点, 是 CE 和 TF 蛋白组分在染色体上聚合的起始位点以及同源重组 DNA 的相互作用位点^[4,6].

在酵母中, 姐妹染色体间的黏着蛋白 Rec8, Smc3, Red1, Mek1 和 Hop1 是 AE/LE 的组分, *rec8* 或 *red1* 或 *mek1* 突变体均不能形成 AE/LE. Mek1 是蛋白激酶, 能使 Red1 磷酸化. Red1 可能调节 AE/LE 其他组分与染色体的结合, 是一个联系双链断裂点(double-strand breaks, DSBs)蛋白复合体、黏着素复合体和 AE/LE 的桥梁, 在重组和联会中起重要的作用^[1]. Hop1 不是 AE/LE 形成所必需的, 在 Hop1 缺乏

时, AE 能正常形成^[4]. Hop1 的主要功能是调节同源染色体之间的相互作用, 维持同源重组中间体与同源染色体的正确联系^[7]. Hop1 完成使命后, Mek1 使其从染色体上解离^[8].

在 SC 组分蛋白中, 功能研究得较清楚的是酵母减数分裂特异蛋白 Zip1, Zip2 和 Zip3. 在 *zip1* 或 *zip2* 突变体中, 染色体的轴向元件正常, 染色体也能正常配对, 但不能联会. 这说明 Zip1 和 Zip2 是联会必需的蛋白质. Zip1 沿着联会染色体的纵轴方向连续分布, 以棒状二聚体的形式与其他组分结合在一起, 共同组装成 TF. *zip1* 发生突变将会导致 Zip1 二聚体长度增加, 从而增加了同源染色体 LE 之间横桥的长度, 使两个 LE 之间的距离增加, 同源染色体不能联会, 不能形成 SC^[9~11]. Zip2 定位在联会的同源染色体上的分离位点或 *zip1* 突变体的轴向联合位点, 是 Zip1 在染色体上定位必需的蛋白质. Zip1 在染色体的聚合是从 Zip2 的定位位点开始的. 在 *zip2* 突变体中, Zip1 不能正常结合在染色体上, 大部分的 Zip1 聚合成无染色质的蛋白质复合体, 同源染色体不能联会. 这些结果表明, Zip2 与同源染色体联会的启动有关^[12,13]. 虽然 Zip3 和 Zip2 共定位于染色体上的相同位点, 但 Zip3 与染色体结合的时间要早于 Zip2. 在 *zip3* 突变体中, 由于 Zip2 与染色体结合的时间进程缓慢、结合的数量少, 染色体联会不完全或联会的时间被推迟. 因此, Zip3 可能通过帮助 Zip2 在染色体上定位或稳定 Zip2 与染色体连接, 参与联会的起始. 这 3 个蛋白与染色体结合的时间顺序依次是 Zip3, Zip2 和 Zip1^[14].

减数分裂染色体的 DSBs 是 Zip3 的结合位点, 因此也是联会的起始位点. 在不能产生 DSBs 的 *spo11* 突变体中, Zip3 不能结合到染色体上, 导致 Zip2 和 Zip1 不能与染色体结合. 在 DSBs 处, Zip3 直接或间接地与减数分裂重组蛋白 Mre11, Rad51, Rad57, Msh4 及 Msh5 等相互作用. 因此, Zip3 可能也是减数分裂重组节的一组成部分, 是联会和重组之间相互联系的桥梁^[14].

目前, 已从一些高等真核生物分离到 SC 组分蛋白, 如鼠 AE 组分蛋白 Scp2 和 Scp3 以及 TF 组分蛋白 Scp1^[15,16]. 在拟南芥中已鉴定出 HOP1 的同源基因 ASY1, *asy1* 突变体的同源染色体不能联会^[17]. 拟南芥联会缺陷突变体 *dif1* 和 *syn* 中 SC 的形成均受阻^[18,19]. DIF1 和 SYN 分别与酵母 REC8 和 RDA21 基

因同源.

2 联会复合体的功能

SC 是减数分裂最显著的特征结构, 目前还不能确切解释 SC 在减数分裂过程中的功能, 但是在分子生物学分析的基础上, 其功能已被初步了解. 首先, SC 有调控减数分裂重组按正确方式(即在同源染色体间, 而非姐妹染色体间)进行的功能. 其次, SC 有介导交叉干预(crossover interference)、调节重组频率的作用. 在减数分裂过程中, 由于交叉干预的影响, 基因重组的分布是不均一的, 即一个单一的重组事件会抑制同一染色体相邻位点的基因重组. 在交叉干预过程中, SC 可能起着检测交换的发生并把其信息传递到染色体相邻区域的功能^[1, 20]. 支持这一观点的证据之一是在已发现的几种不形成 SC 的真菌中, 检测不到交叉干预现象. SC 介导交叉干预的最有力证据来源于对酵母 ZIP1 基因的分析结果. 前面已提到, ZIP1 编码的蛋白是 SC 中央区域的一个重要组分. *zip1* 突变体不能形成正常的 SC, 基因重组的水平会有所下降, 交叉干预现象完全消失^[21,22]. 在植物如番茄和玉米中, 也发现了 SC 介导交叉干预的现象. 最后, SC 作为间质同源相互作用的骨架, 不仅能介导间质同源染色体之间的连接方式由有丝分裂的配对相互作用向减数分裂特异的以 DNA 为基础的交流型转变, 而且在减数分裂同源重组完成后, 染色体发生聚缩之前, 同源染色体之间有效的物理相互作用位点减少到一个或两个时, SC 可保持配对的同源染色体沿染色体长轴共线性的排列方式; 此外, SC 还可以促进非交换型相互作用的染色体从与之相连接的同源染色体轴收回^[23]. 在有些真核生物中, SC 与 DSBs 的修复有一定联系. SC 在减数分裂重组中间体的形成及减数分裂后期 I 同源染色体的分离过程中, 也可能起重要作用. 已发现 SC 残迹存在于交叉上, 表明 SC 的组分可能结合于交叉上^[4,24].

3 同源重组

减数分裂的基因重组发生在同源染色体之间而不是在姐妹染色体之间.

酵母减数分裂同源重组起始于 DSBs. Spo11 是一种 II 型拓扑异构酶(topoisomerase), 是催化减数分裂 DSBs 形成的关键酶. 它通过酯交换反应剪切双链 DNA, 产生 DSBs, 最后共价结合在断口的 5'端, 形成过渡性的蛋白质-DNA 中间体^[25]. *spo11* 突变体不

能产生 DSBs^[26]。除了 Spo11 外, DSBs 的形成至少需要其他 8 个基因的产物参与, 其中 5 个是减数分裂特异的, 如 *Mei4*, *Mre2*, *Rec102*, *Rec104* 和 *Rec114*, 其他 3 个在减数分裂和非减数分裂 DSBs 的修复中功能是保守的, 如 *Rad51*, *Mre11* 和 *Xrs2*, 其中任何一个编码基因突变均能阻断 DSBs 形成和重组^[25]。SC 的 AE/LE 组分蛋白也是 DSBs 形成所必需的^[1,7]。SPO11 的同源基因已在果蝇、人、鼠、真菌(*Coprinus cinereus*)、线虫(*Caenorhabditis elegans*)和拟南芥^[27~32]等真核生物中被鉴定, 表明 DSBs 的酶促形成在进化过程中是广泛保守的。减数分裂 DSBs 多发生在遗传交换频率高的位点, 这些位点如果发生顺式突变, DSBs 就大大减少, 同源重组的频率也大大降低^[26,33]。脉冲电场凝胶电泳技术分析结果表明, 在减数分裂染色体上, DSBs 是广泛存在的, 并且染色体上有一些偏向性剪切断裂位点。这些断裂位点对应于减数分裂染色体的无核仁区(核酸酶超敏感), 而且几乎所有的断裂都发生在含有转录增强子的基因之间的区域^[34]。

Spo11 从断口的 5'端除去后, DNA 断裂端由 5'→3'方向被切除, 产生约 600 bp 的 3'端单链尾巴。随后在蛋白质因子的作用下, 3'端单链尾巴入侵到同源染色体双链 DNA 供体的同源区, 形成一个小 D-环, 启动同源重组和修复合成(图 1)。酵母减数分裂同源重组的修复合成主要由 *RAD52* 上位基因家族基因 *RAD50-59*, *XRS2* 和 *MRE11*^[35,36]等控制。这些基因的一部分在减数分裂和有丝分裂的修复合成中均起作用, 如 *RAD50-59* 等, 而另一部分则是减数分裂特异的, 如 *DMC1*, *MEI5* 和 *TID1* 等^[1]。*Rad50* 有结合 DNA 活性, 其与 *Mre11* 和 *Xrs2* 形成复合体, 与 DSBs 断裂末端的剪切有关。*rad50* 突变体能形成 DSBs, 但不能剪切 DSBs, 阻断了重组进程, 积累 DSBs 中间体^[4,25]。*Rad51* 和 *Dmc1* 都是细菌 *RecA* 蛋白家族的成员, 能聚合到单链 DNA 上, 形成核蛋白纤维, 是一种链交换蛋白^[37]。*Rad51* 和其他蛋白因子, 如 *Rad52*, *Rad54* 和 *Tid1* 相连接, 起启动单链 DNA 末端侵入到同源双螺旋 DNAs 中^[38]。*Tid1* 与 *Dmc1* 有较强的亲合性, 两者都是指导 DSBs 在同源染色体之间修复的关键蛋白。*Rad51* 和 *Dmc1* 在 *Zip1* 之前与染色体结合, 共定位在染色体上的分离位点。在联会之前, 同源染色体之间的接触位点的数量与 *Dmc1-Rad51* 的染色位点是一致的, 因此, 这两个蛋白在调节同源染色体的相互作用和保证 DSBs 修复在同源染色体之间进行等过程中

起重要作用^[4,37,39]。在拟南芥中克隆了 *RAD50* 和 *MRE11* 的同源基因 *AtRAD50* 和 *AtMRE11*^[40,41], 从人、鼠、拟南芥和水稻^[42~45]中克隆了 *RAD51* 和 *DMC1* 的同源基因, 表明同源重组的修复机制在高等真核生物中是保守的。

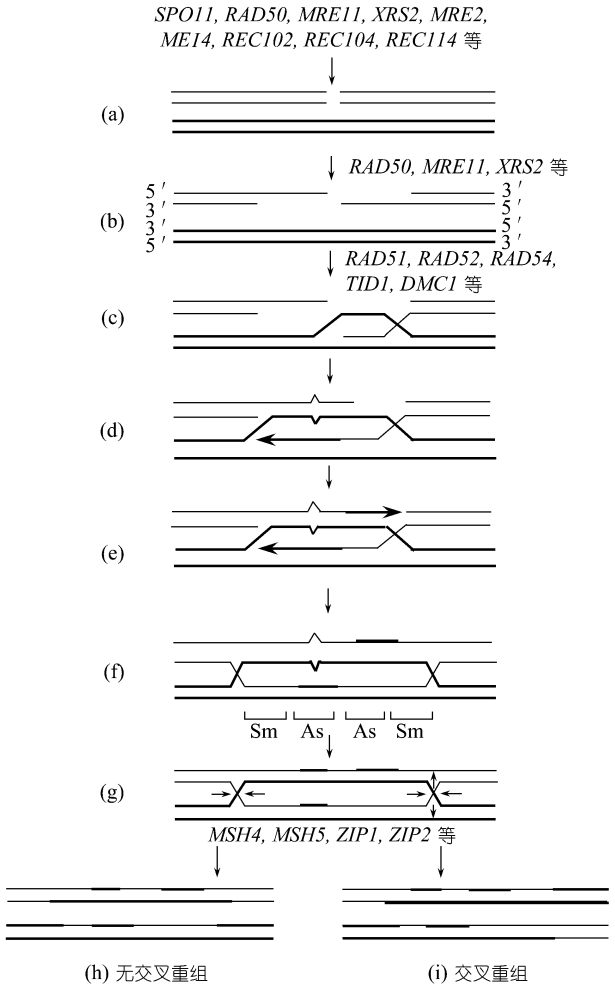


图 1 以 DSBs 为基础的同源重组修复过程
(a) 同源染色体其中的一条 DNA 双链断裂; (b) DNA 双链断裂处以 5'→3'方向进行降解, 形成 3'末端尾巴; (c) 3'末端尾巴入侵到非断裂同源双链 DNA, 形成 D-环; (d) D-环在修复合成的作用下增大; (e) DNA 的修复合成终止; (f) D-环支链迁移, 形成两个 Holliday 连接, 其中含有对称区域(As)和不对称区域(Sm); (g) 同源染色体之间不互补的碱基对如(d)~(f)被切除, 并且重新合成新的互补碱基; (h) 如果 Holliday 连接以相同的方向消失, 则在链交换两侧的标记的构象不变; (i) 如果 Holliday 连接以相反的方向消失, 则在链交换两侧的标记之间产生互补交换(参考文献[4]绘制)

4 联会和同源重组的关系

联会和同源重组是减数分裂前期 I 的细线期至合线期发生的重要事件。传统观点认为, 同源染色体

联会要早于重组，联会通过将同源染色体结合到一起启动同源重组^[46]。目前，分子生物学研究结果已对这一观点形成了挑战，从实验数据看，联会与重组的时间顺序和相互依赖关系有物种特异性，至少有两种情况：(i) 果蝇和线虫的同源染色体联会早于重组，在没有重组的情况下，联会能正常进行，联会是启动减数分裂重组的必要事件。它们的 *spo11* 突变体形成与野生型一样的 SC^[27,28]。与酵母等以 DSBs 作为联会起始位点不同，它们的同源染色体联会可能有特殊的机制，有证据显示，在它们的每个同源染色体上有用于起始同源配对与联会的减数分裂“配对中心”^[14]。(ii) 在酵母中，以 DSBs 形成为标志的同源重组的起始要早于联会。联会缺失型突变体 *zip1* 的重组起始是正常的。酵母 DSBs 是联会起始蛋白 Zip2 和 Zip3 的结合位点^[14]。*spo11* 突变体不能产生 DSBs，同源染色体也不能联会^[31]。因此，酵母的同源染色体联会是从 DSBs 位点起始的，重组是联会起始必需的。酵母的这种联会与重组的依赖关系在真菌、哺乳动物和高等植物中是保守的。Spo11 是真菌、鼠和拟南芥的同源染色体联会所必需的，其相应的 *spo11* 突变体的同源染色体不能正常联会^[31,32,47]。

5 染色体分离

减数分裂区别于有丝分裂的一个重要特征是，经过间期染色体复制一次后，发生两次连续的细胞分裂，产生单倍体的雌雄配子。染色体减数分裂主要依赖于姐妹染色体的行为。在有丝分裂和减数分裂 II 过程中，姐妹染色体上的动粒分别接触来源于纺锤体两极的微管，彼此分离，并分别移向细胞的两极。在减数分裂 I，姐妹染色单体的着丝点仍连接在一起，作为一个单位以相同的方向与来源于纺锤体一极的微管结合，移向一极，与其配对的同源染色体分离(图 2)。

着丝点和姐妹染色体间的黏着(cohesion)调节减数分裂 I 姐妹染色单体行为。在后期 I，姐妹染色体的动粒必须作为一个整体，与纺锤体一极的微管接触。有两种假设解释后期 I 的姐妹染色体动粒的行为：(i) 姐妹染色体的两个动粒在一些因素的作用下维持在同一方向；(ii) 每一对姐妹染色体上只有一个有功能的动粒。姐妹染色体之间的黏着是由蛋白质复合体实现的。有丝分裂姐妹染色体间黏着的分子机制已有较详细的研究，为了说明减数分裂姐

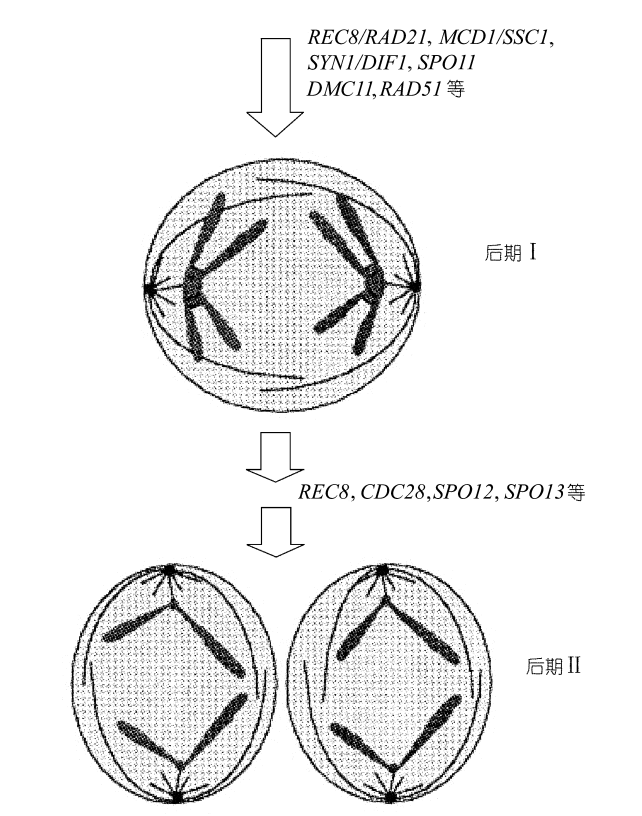


图 2 减数分裂染色体分离的基因调控

妹染色体间黏着的调节，简要讨论一下有丝分裂姐妹染色体的黏着。在有丝分裂中，姐妹染色体之间的黏着从 S 期开始，到中-后期过渡时结束。着丝点及其近端的黏着从空间上限制了姐妹染色体着丝点的定位，使它们分别接触纺锤体两极的微管，这确保了在后期姐妹染色体能分别移向细胞的两极。在酵母中，姐妹染色体间的黏着是由 Mcd1/Scc1, Scc3, Smc1 和 Smc3 组成的蛋白复合体——黏着素(cohesin)调节的。Smc1 和 Smc3 是保守的 DNA 结构调节蛋白 SMC 家族的成员，其 N 端是 NTP 结合位点，中间是由一个铰链区分隔的两个卷曲螺旋，C 端是保守的 DNA 结合域。这两个蛋白以反向平行的方式组成杂合二聚体。在 S 期，黏着素在 Scc2 和 Eco1 的作用下从复制叉(replication forks)开始与姐妹染色体结合，其中 Smc1-Smc2 杂合二聚体的两端可能分别与姐妹染色单体连接^[48,49]。黏着素可能通过直接与特定的 DNA 序列相互作用实现与染色质的结合。例如，在离体条件下，Smc1 和 Scc1 主要与富含 AT 的 DNA 序列或能形成二级结构的序列结合；在酵母中，着丝点区高度

特异化的染色质结构是 Mcd1/Sccl 结合必需的^[50,51]. 在中期向后期的过渡过程中, 着丝点的黏着素首先解体, 之后姐妹染色体正常分离^[1]. 泛素(ubiquitin)调节的蛋白选择性降解途径是调控细胞周期蛋白功能的主要途径^[52], 需要泛素活化酶 E1, 泛素结合酶 E2 和泛素-蛋白质连接酶 E3 协同作用, 将靶蛋白标记上串联的多聚泛素送入 26S 蛋白酶体水解^[53,54]. 后期起始复合体 APC(anaphase-promoting complex)是一个多亚基复合体, 具有 E3 酶的功能, 在进化中是保守的^[55]. 酵母的 APC 由 12 个亚基组成^[56]; 脊椎动物的 APC 由 8 个亚基组成^[55], 其中亚基 APC2 具有 E3 活性. APC 通过降解姐妹染色体分离素(separin)蛋白 Esp1 的抑制剂 Pds1 调节姐妹染色单体的分离^[57]. 按照正常的进程, 抑制蛋白 Pds1 与 Esp1 紧密结合, 抑制有丝分裂不正常地进入后期. 在中期向后期过渡时, 激活剂蛋白 Cdc20 与 APC 结合并使之活化, 后者在 E1 和 E2 协同作用下催化 Pds1 泛素化, 并使之进入泛素降解途径降解. Pds1 降解后, Esp1 从 Pds1-Esp1 复合体中释放出来, 并呈活化状态. 活化的 Esp1 催化 Mcd1/Sccl 水解, 使黏着素复合体从染色质上解离, 这时, 姐妹染色体在纺锤丝的牵引下分别移向细胞的两极. Sccl 的 180 和 268 位氨基酸残基是关键酶切位点, 这两个位点的突变导致蛋白对 Esp1 不敏感, 完整的突变蛋白质不能从染色质上解离, 因而抑制了姐妹染色体的分离^[58]. Esp1 具有类似于半胱氨酸蛋白酶活性位点的功能域^[59], 可能是一种蛋白水解酶, 通过直接与 Sccl 作用催化其水解^[58]. 酵母 Mcd1/Sccl 从染色质上解离的时间与后期开始时姐妹染色体的分离时间相同. 涉及姐妹染色体黏着与分离的蛋白质已从其他真核生物如果蝇、青蛙、人、鼠和拟南芥中鉴定出来^[1,19,48,60].

虽然着丝点黏着的主要功能是调节姐妹染色体的分离, 但是, 染色体臂的黏着除了调节姐妹染色体分离外, 在重组修复中也起重要作用. 黏着蛋白的基因缺失突变体对紫外辐射敏感, 丧失修复 DSBs 的能力. Smc1 和 Smc3 也是重组修复复合体的组分, 它们的杂合二聚体能启动互补 DNA 链的退火^[1].

与有丝分裂相比, 减数分裂姐妹染色体之间黏着的调控要复杂得多. 参与有丝分裂姐妹染色体黏着调节的大部分蛋白质在减数分裂中是保守的, 而减数分裂姐妹染色体间黏着的调控方式有较程度的修饰. 在减数分裂后期 I, 姐妹染色体臂上的黏着

结构解体, 着丝点上的黏着素不解体, 以保证同源染色体在后期 I 分别移向细胞的两极, 但姐妹染色体仍能通过着丝点的黏着连接在一起, 完成染色体的减数分裂. 着丝点区的黏着结构直到后期 II 姐妹染色体分离时解体. 因此, 姐妹染色体着丝点区与染色体臂间黏着的调控机制是不同的, 两者降解时间的差异是保证减数分裂正常进行的关键.

在酵母中, 减数分裂特异蛋白 Rec8^[61], 有丝分裂黏着蛋白 Mcd1/Sccl 和 Rad21 的类似物, 是减数分裂姐妹染色体黏着与分离的重要调控分子. Rec8 在减数分裂前的 S 期开始结合到染色质上, 在前期 I 粗线期, 沿着染色体的纵轴分布, 在着丝点区的含量最高^[62]. 随着减数分裂的进行, 染色体臂上的 Rec8 逐渐解离, 在前期 I 结束时臂上的 Rec8 几乎完全解离, 以允许同源染色体分离, 但着丝点上的 Rec8 到后期 II 才解体, 以保证姐妹染色体的正常分离. 减数分裂黏着蛋白从染色体上解离的基本机制尚不清楚, 可能与有丝分裂类似, 受 APC 的调节^[1]. Rec8 含有 Sccl 酶切位点序列 SXEXGRR^[58]. Rec8 的降解受分离素的调节, 酶切位点突变的 Rec8 对分离素介导的降解不敏感, 这阻止了同源染色体和姐妹染色体的分离^[62].

减数分裂染色体臂和着丝点上的 Rec8 降解的时间差异可能受一些蛋白因子的调节. 酵母 Spo13 和 Slk19 蛋白定位在减数分裂染色体着丝点区, Spo13 是一个控制减数分裂 I 染色体进行减数分裂而不进行均等分裂的减数分裂特异蛋白质. 在 *spo13* 和 *slk19* 单突变体或 *spo13/slkl9* 双突变体中, 着丝点区 Rec8 的含量明显降低, 其只能进行减数分裂 I, 而且大部分分裂是姐妹染色体的分离^[62]. 因此, Spo13 和 Slk19 可能通过保护着丝点区的 Rec8 在后期 II 之前不被 Esp1 降解, 以控制染色体的减数分裂^[62,63]. 由均等分裂转变为减数分裂必须调整着丝点区动粒的定向, 在均等分裂中姐妹染色体的动粒必须定向到相反的两极, 而在减数分裂 I, 姐妹染色体的动粒需定向到同一极. Rec8 可能有调控动粒定向的功能. 位于减数分裂 I 着丝点近端染色体臂上的 Rec8 可能调节姐妹染色体的动粒定向到同一极, 而位于减数分裂 II 染色体壁上 Rec8 的解离使姐妹染色体的动粒移向相反的两极^[64].

拟南芥的 *REC8/RAD21* 同源基因 *SYN1/DIF1* 已被克隆, 研究结果初步表明, 其编码蛋白在姐妹染色体之间的黏着中起重要作用, 是减数分裂染色体正

常分离所必需的^[18,19]。

随着拟南芥基因组测序的顺利完成,我们认识到植物染色体着丝点区域和其相邻两侧区域不仅在序列组成上有差异,而且在减数分裂中的行为也不同。着丝点区的异染色质和着丝点相邻两侧染色质的聚缩状态有明显的不同。在减数分裂前中期,着丝点染色体发生解凝聚,而其两侧染色体的聚缩状态没有明显的变化^[65]。这些结构上的区别可能是由结合到染色体着丝点区和其两侧区域蛋白的不同引起的,说明这两个区域在减数分裂染色体分离中行使不同的功能。目前,许多实验室正在构建人工植物染色体,借助对着丝点蛋白质的生化和细胞学分析,将有益于阐明减数分裂和有丝分裂染色体分离所必需的顺式作用元件和反式作用因子。

6 问题与展望

减数分裂在真核生物的生命活动中居核心地位,与人类的生活密切相关,如人口数量的控制和质量提高、牲畜的繁育和高产作物的培育等,是生物学领域的重要研究课题之一。近几年,利用酵母等模式生物,详细分析了减数分裂过程中染色体的识别、配对、联会、同源重组和分离等重要环节的分子调控机制,克隆了一系列关键的功能基因,并对这些环节的关键分子事件有了初步了解。在所克隆的基因中,许多基因的单基因突变能导致相应减数分裂过程异常,这为今后调控减数分裂提供了可能。但是目前的研究结果尚不能回答如下重要问题:(i)同源识别的分子基础什么?(ii)什么信号启动了轴向元件蛋白与染色体的结合?(iii)在酵母以及大多数真核生物中,重组早于联会,DSBs是联会的起始位点^[14,31];而果蝇和线虫的联会起始于“同源染色体配对中心”,其联会要早于重组,联会是重组必需的^[14,27,28],这两种机制分化的分子基础是什么?所谓的“配对中心”^[14]是否有分子基础?(iv)除了Rec8外,减数分裂的黏着素蛋白还有哪些?调节有丝分裂黏着素降解的APC复合体^[57]和调节细胞周期G1期向S1期过渡的SCF复合体^[66]是否均参与了同源染色体分离的调节或是减数分裂染色体的分离有特殊的调节机制?对这些课题的研究将有助于全面认识减数分裂的分子机制。

目前,尽管还不能完全解释减数分裂的分子机制,但是对酵母减数分裂分子机制的认识,将成为认

识高等真核生物减数分裂分子机制的基础。研究结果证明,酵母减数分裂关键基因,如 *DMC1*, *RAD50*, *RAD51*, *SPO11*, *REC8* 等的同源基因在高等真核生物中是广泛存在的,其功能也是保守的^[17~19,29~32,40~45,67],这表明减数分裂的分子机制在进化过程中是保守的。在未来几年内,随着重要高等真核生物基因组全序列的完成和功能基因组研究工作的开展,应用生物信息学分析手段将会加快减数分裂基因的研究进程,如通过功能基因组和结构基因组的分析,在人类基因组中已鉴定出了许多与DNA修复相关的基因^[68]。

在植物中,水稻和拟南芥是两个重要的模式生物,已克隆了其中一些重要的减数分裂基因,如 *AtDMC1*, *OsDMC1*, *AtSPO11*, *AtRAD50* 和 *AtRAD51* 等^[18,32,41,44,45,67]。我们在国内外率先开展了水稻减数分裂基因的研究,克隆了减数分裂关键基因 *OsDMC1*^[45],证明水稻基因组含有两个拷贝的 *DMC1* 同源基因,明显不同于只含一个拷贝 *DMC1* 的酵母基因组^[69]。早期的研究结果表明,拟南芥基因组含有一个拷贝的 *DMC1* 同源基因^[44],但最新的研究结果显示拟南芥的 *DMC1* 也是一个双拷贝基因(Ma, 私人通讯, 2001)。未来5~10年内,随着这两种植物的基因组序列测序的完成,在结构基因组的分析的基础上,借助于突变体和生物信息学的分析技术,我们将会对它们的减数分裂分子事件有一个比较明确的了解。这是解释植物有性生殖过程中的一些复杂现象(如无融合生殖)和通过分子操作调控植物有性生殖的基础。

在进化过程中,由于高等真核生物生殖结构的分化,减数分裂是在特定的雄性或雌性器官中进行的,其调控方式可能有一定(或较大程度)的修饰。已有一些研究结果表明,其机制存在一定的差异,例如,在拟南芥中发现调节酵母细胞周期G1向S1期过渡的SCF泛素连接酶(E3)复合体^[66]参与花粉母细胞减数分裂染色体分离的调节^[70]。植物 *DMC1* 的拷贝数与酵母的不同^[45,69]。因此,对高等真核生物减数分裂分子调控机制的研究也将是对由酵母来源的减数分裂知识的重要补充。

致谢 感谢中国科学院植物研究所种康研究员和美国宾州州立大学马洪(H. Ma)教授有益的讨论。本研究为国家转基因植物研究与产业化专项(批准号:J99-A-045)、国家重点基础研究发展规划(批准号:G1999011604)和中国科学院

生物科学与生物技术特别支持费(批准号: STZ-98-2-14)资助项目.

参 考 文 献

1 van Heemst D, Heyting C. Sister chromatid cohesion and recombination in meiosis. *Chromosoma*, 2000, 109: 10 ~ 26

2 Mckim K S, Peters K, Rose A M. Two types of sites required for meiotic chromosome pairing in *C. elegans*. *Genetics*, 1993, 134: 749 ~ 768

3 Villeneuve A. A cis-acting locus that promotes crossing over between X chromosome in *C. elegans*. *Genetics*, 1994, 136: 887 ~ 902

4 Roeder G S. Sex and the single cell: Meiosis in yeast. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1995, 92: 10450 ~ 10456

5 Walker M Y, Hawley R S. Hanging on to your homolog: The roles of pairing, synapsis and recombination in the maintenance of homolog adhesion. *Chromosoma*, 2000, 109: 3 ~ 9

6 Kleckner N. Meiosis: How could it work? *Proc Natl Acad Sci USA*, 1996, 93: 8167 ~ 8174

7 Kironmai K M, Muniyappa K, Biredman D B, et al. DNA-binding activities of Hop1 protein, asynptonemal component from *Saccharomyces cerevisiae*. *Mol Cell Biol*, 1998, 18: 1424 ~ 1435

8 Bailis J M, Roeder G S. Synaptonemal complex morphogenesis and sister-chromatid cohesion require Mek1-dependent phosphorylation of a meiotic chromosomal protein. *Genes Dev*, 1998, 12: 3551 ~ 3563

9 Sym M, Engebrecht J, Roeder G S. Zip1 is a synaptonemal complex protein required for meiotic chromosome synapsis. *Cell*, 1993, 72: 365 ~ 378

10 Sym M, Roeder G S. Zip1-induced changes in synaptonemal complex structure and polycomplex assembly. *J Cell Biol*, 1995, 128: 455 ~ 466

11 Dong H, Roeder G S. Organization of the yeast Zip1 protein within the central region of the synaptonemal complex. *J Cell Biol*, 2000, 148: 417 ~ 426

12 Roeder G S. Meiotic chromosomes: It takes two to tango. *Genes Dev*, 1997, 11: 2600 ~ 2621

13 Chua P R, Roeder G S. Zip2, a meiosis-specific protein required for the initiation of chromosome synapsis. *Cell*, 1998, 93: 349 ~ 359

14 Agarwal S, Roeder G S. Zip3 provides a link between recombination enzymes and synaptonemal complex proteins. *Cell*, 2000, 102: 245 ~ 255

15 Schmekel K, Daneholt B. The central region of the synaptonemal complex revealed in three dimensions. *Trends in Cell Biol*, 1995, 5: 239 ~ 242

16 Eijpe M, Heyting C, Gross B, et al. Association of mammalian SMC1 and SMC3 proteins with meiotic chromosomes and synaptonemal complexes. *J Cell Science*, 2000, 113: 673 ~ 682

17 Caryl A P, Armstrong S J, Jones G H, et al. A homologue of the yeast *HOP1* gene is inactivated in the *Arabidopsis* meiotic mutant *asy1*. *Chromosoma*, 2000, 109: 62 ~ 71

18 Bhatt A M, Lister C, Page T, et al. The *DIF1* gene of *Arabidopsis*

is required for meiotic chromosome segregation and belongs to the *REC8/RAD21* cohesin gene family. *Plant J*, 1999, 19: 463 ~ 472

19 Bai X, Peirson B N, Dong F, et al. Isolation and characterization of *SYN1*, a *RAD21*-like gene essential for meiosis in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 1999, 11: 417 ~ 430

20 Egel R. The synaptonemal complex and the distribution of meiotic recombination events. *Trends Genet*, 1995, 11: 206 ~ 208

21 Sym M, Roeder G S. Crossover interference is abolished in the absence of a synaptonemal complex protein. *Cell*, 1994, 79: 283 ~ 292

22 Torlazzi A, Xu L Z, Schwacha A, et al. Synaptonemal complex (SC) component Zip1 plays a role on meiotic recombination independent of SC polymerization along the chromosomes. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1996, 93: 9043 ~ 9048

23 King J S, Mortimer R K. A polymerization model of chiasma interference and corresponding computer simulation. *Genetics*, 1990, 126: 1127 ~ 1138

24 Smith K N, Nicolas A. Recombination at work for meiosis. *Curr Opin Genet Dev*, 1998, 8: 200 ~ 211

25 Keeney S K, Giroux C N, Kleckner N. Meiosis-specific DNA double-strand breaks are catalyzed by Spo11, a member of a widely conserved protein family. *Cell*, 1997, 88: 375 ~ 384

26 Cao L, Alani E, Kleckner N. A pathway for generation and processing of double-strand breaks during meiotic recombination in *S. Cerevisiae*. *Cell*, 1990, 61: 1089 ~ 1101

27 McKim K S, Green-Marroquin B L, Skelsky J J, et al. Meiotic synapsis in the absence of recombination. *Science*, 1998, 279: 876 ~ 878

28 Dernberg A F, McDonald K, Moulder G, et al. Meiotic recombination in *C. elgans* initiates by a conserved mechanism and is dispensable for homologous chromosome synapsis. *Cell*, 1998, 94: 387 ~ 398

29 Romanienko P J, Camerini-Otero R D. Cloning, characterization and localization of mouse and human *SPO11*. *Genomics*, 1999, 61: 156 ~ 169

30 Metzler-Guillemain C, de Massy B. Identification and characterization of an *SPO11* homolog in the mouse. *Chromosoma*, 2000, 109: 133 ~ 138

31 Celerin M, Merino S T, Stone J E, et al. Multiple roles of Spo11 in meiotic chromosome behavior. *EMBO J*, 2000, 11: 2739 ~ 2750

32 Grelon M, Vezon D, Gendrot G, et al. *AtSPO11-1* is necessary for efficient meiotic recombination in plants. *Plant J*, 2001, 20: 589 ~ 600

33 Goldway M, Sherman A, Zenvirth D, et al. A short chromosomal region with major roles in yeast chromosome III meiotic disjunction, recombination and double strand breaks. *Genetics*, 1993, 133: 159 ~ 169

34 Wu T C, Lichten M. Meiosis-induced double-strand break sites determined by yeast chromatin structure. *Science*, 1994, 263: 515 ~ 518

35 Ajimura M, Leem S H, Ogawa H. Identification of new genes required for meiotic recombination in *Saccharomyces cerevisiae*. *Genetics*, 1993, 133: 51 ~ 66

- 36 Game J C. DNA double-strand breaks and the *Rad50-RAD57* genes in *Saccharomyces cerevisiae*. *Semin Cancer Biol*, 1993, 4: 73 ~ 83
- 37 Bishop D K. RecA homologs Dmc1 and Rad51 interact to form multiple nuclear complexes prior to meiotic chromosome synapsis. *Cell*, 1994, 79: 1081 ~ 1092
- 38 Baumann P, Benson F E, West S C. Human Rad51 protein promotes ATP-dependent homologous pairing and strand transfer reactions *in vitro*. *Cell*, 1996, 87: 757 ~ 766
- 39 Haber J E. Partners and pathways. *Trands Genet*, 2000, 16: 258 ~ 264
- 40 Hartung F, Puchta H. Isolation of the complete cDNA of the *MRE11* homologue of *Arabidopsis* (Accession No. AJ2438220) indicates conservation of DNA recombination mechanisms between plants and other eucaryotes. *Plant Physiol*, 1999, 121: 312 ~ 316
- 41 Gallego M E, Jeanneau M, Granier F, et al. Disruption of the *Arabidopsis RAD50* gene leads to plant sterility and MMS sensitivity. *Plant J*, 2001, 25: 31 ~ 41
- 42 Habu T, Taki T, West A. The mouse and human homologs of DMC1, the yeast meiosis-specific homologous recombination gene, have a common unique form of exon-skipped transcript in meiosis. *Nucleic Acid Res*, 1996, 24: 470 ~ 477
- 43 Li I, Goloub E I, Gupta R, et al. Recombination activities of HsDmc1 protein, the meiotic human homolog of RecA protein. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997, 94: 11221 ~ 11226
- 44 Doutriaux M P, Couteau F. Isolation and characterization of the *RAD51* and *DMC1* homologues from *Arabidopsis thaliana*. *Mol Gen Genet*, 1998, 257: 283 ~ 291
- 45 丁兆军, 王台, 种康. 水稻减数分裂相关基因 *OsDMC1* 的克隆. *科学通报*, 2001, 46(10): 838 ~ 843
- 46 Hawley R S, Arbel T. Yeast genetics and the fall of the classical view of meiosis. *Cell*, 1993, 72: 301 ~ 303
- 47 Baudat F, Manova K, Yuen J P, et al. Chromosome synapsis defects and sexually dimorphic meiotic progression in mice lacking Spo11. *Mol Cell*, 2000, 6: 989 ~ 998
- 48 Nasmyth K. Separating sister chromatids. *Trands in Biol Science*, 1999, 24: 98 ~ 104
- 49 Toth A, Ciosk R, Uhlmann F, et al. Yeast cohesin complex requires a conserved protein, Eco1p(Ctf7), to establish cohesion between sister chromatids during DNA replication. *Genes Dev*, 1999, 13: 320 ~ 333
- 50 Blat Y, Kleckner N. Cohesions bind to preferential sites along yeast chromosome III, with differential regulation along arms versus the centric region. *Cell*, 1999, 98: 249 ~ 259
- 51 Megee P C, Koshland D. Coordination of cohesion and kinetochore assembly at the budding yeast centromere. *Science*, 1999, 285: 254 ~ 257
- 52 Papano M, Tam S W, Theodoras A M, et al. Role of the ubiquitin-proteasome pathway in regulating abundance of the cyclin-dependent kinase inhibitor p27. *Science*, 1995, 269: 682 ~ 685
- 53 朱经春, 王台, 陈克成. 泛肽系统的组成和功能: 系统的组成、底物识别与蛋白质泛肽化. *植物学通报*, 1999, 16: 208 ~ 218
- 54 朱经春, 王台, 陈克成. 泛肽系统的组成和功能: 生物学功能与在生物技术中的应用. *植物学通报*, 1999, 16: 359 ~ 364
- 55 Yu H, Peters J, King R W, et al. Identification of a cullin homology region in a subunit of the anaphase-promoting complex. *Science*, 1998, 279: 1219 ~ 1221
- 56 Zachariae W, Shevchenko A, Andrews P D, et al. Mass spectrometric analysis of the anaphase-promoting complex from yeast: Identification of a subunit related to cullins. *Science*, 1998, 279: 1216 ~ 1219
- 57 Ciosk R, Zachariae W, Michaelis C, et al. An ESP1/PDS1 complex regulate loss of sister chromatid cohesion at the metaphase to anaphase transition in yeast. *Cell*, 1998, 93: 1067 ~ 1076
- 58 Uhlmann F, Lottspeich F, Nasmyth K. Sister-chromatid separation at anaphase onset is promoted by cleavage of the cohesin subunit Scc1. *Nature*, 1999, 400: 37 ~ 42
- 59 Uhlmann F, Wernic D, Poupart M A, et al. Cleavage of cohesin by the CD clan protease separin triggers anaphase in yeast. *Cell*, 2000, 103: 375 ~ 386
- 60 Losada A, Hirano M, Hirano T. Identification of *Xenopus* SMC protein complexes required for sister chromatid cohesion. *Genes Dev*, 1998, 12: 1986 ~ 1997
- 61 Cohen-Fix O. Sister chromatid separation; filling apart at the seams. *Curr Biol*, 2000, 10: R816 ~ R819
- 62 Klein F, Mahr P, Galova M, et al. A central role for cohesions in sister chromatid cohesion, formation of axial elements and recombination during yeast meiosis. *Cell*, 1999, 98: 91 ~ 103
- 63 Kamieniecki R, Shanks R M Q, Dawson D S. Slk19p is necessary to prevent separation of sister chromatids in meiosis I. *Curr Biol*, 2000, 10: 1182 ~ 1190
- 64 Watanabe Y, Nurse P. Cohesin Rec8 is required for reductional chromosome segregation at meiosis. *Nature*, 1999, 400: 461 ~ 464
- 65 Franz P F, Armstrong S, Jong J H, et al. Integrated cytogenetic map of chromosome arm 4sof *A. thaliana*: Structural organization of heterochromatic knob and centromere region. *Cell*, 2000, 100: 367 ~ 376
- 66 Feldman R M R, Correll C C, Kaplan K B, et al. A complex of Cdc4p, Skp1p and Cdc53p/Cullin catalyzes ubiquitination of the phosphorylated CDK inhibitor Sic1p. *Cell*, 1997, 91: 221 ~ 230
- 67 Gallego M E, White C I. *RAD50* function is essential for telomere maintenance in *Arabidopsis*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98: 1711 ~ 1716
- 68 Wood R D, Mitchell M, Sgouros J, et al. Human DNA repair genes. *Science*, 2001, 291: 1284 ~ 1289
- 69 Bishop D K, Park D, Xu L, et al. *DMC1*: A meiosis-specific yeast homolog of *E. coli* recA required for recombination, synaptonemal complex formation and cell cycle progression. *Cell*, 1992, 69: 439 ~ 456
- 70 Yang M, Hu Y, Lodhi M, et al. The *Arabidopsis SKP1-LIKE1* gene is essential for male meiosis and may control homologue separation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999, 96: 11416 ~ 11421

(2001-08-24 收稿, 2001-12-07 收修改稿)