



哺乳动物减数分裂联会复合体的结构、功能与人类不孕不育

蒋涵玮^{1,2,3,4,5}, 樊岁兴^{1,2,3,4,5}, 史庆华^{1,2,3,4,5*}

1. 合肥综合性国家科学中心大健康研究院, 合肥 230027;
2. 中国科学技术大学附属第一医院生殖与遗传分院, 合肥 230027;
3. 合肥微尺度物质科学国家研究中心, 合肥 230027;
4. 中国科学技术大学基础医学院, 合肥 230027;
5. 安徽省生物医学与健康实验室, 合肥 230027

* 联系人, E-mail: qshi@ustc.edu.cn

收稿日期: 2023-08-17; 接受日期: 2023-10-11; 网络版发表日期: 2024-01-10

国家自然科学基金(批准号: U21A20204, 31900398, 32100689)、国家重点研发计划(批准号: 2021YFC2700200, 2022YFC2702601)、合肥综合性国家科学中心大健康研究院健康与医学研究所全球遴选项目(批准号: DJK-LX-2022010)和科大新医学联合基金(批准号: YD9100002034)资助

摘要 同源染色体联会, 即联会复合体的形成, 是减数第一次分裂的关键事件之一. 联会复合体作为减数分裂前期染色体行为的结构基础, 对减数分裂程序性DSB的产生、修复及重组交换的形成都有必不可少的支持和调控作用. 当因为联会复合体相关蛋白突变导致联会复合体不能正常形成时, 将导致多种减数分裂异常, 从而激活不同的减数分裂前期检验点, 诱发减数分裂停滞、配子不能产生和不孕不育. 本综述将重点针对小鼠减数分裂联会复合体相关的重要发现进行回顾, 总结联会复合体的组成、结构、组装过程以及在减数分裂中的作用, 分析迄今发现的联会复合体相关蛋白突变与人类不孕不育的关系, 并展望联会复合体相关的研究方向和重点.

关键词 减数分裂, 联会复合体, 哺乳动物, 人类不孕不育

减数分裂是有性生殖生物配子发生过程中的一种特殊分裂方式, 其细胞内的染色体仅复制一次, 但细胞却分裂两次, 从而产生染色体数目减半的配子^[1]. 在绝大多数生物中, 同源染色体分离发生于减数第一次分裂. 为实现同源染色体的精确分离, 同源染色体必须能正确地排列在减数第一次分裂中期的赤道板上. 而实现这一过程, 则需要在同源染色体之间建立起稳定的物理连接. 同源染色体之间物理连接的建立主要依赖于同源染色体之间的重组交换(crossover, CO)和姐

妹染色体单体间的黏连(cohesion). 重组交换的正常完成则依赖于减数分裂前期同源染色体的识别、配对和联会, 以及减数分裂特异的程序性DNA双链断裂(DNA double strand break, DSB)的产生和修复. 而姐妹染色单体间的黏连则依赖于黏连复合物(cohesin complex)的募集和维持. 这些事件都受到严格的调控, 其中任何异常都可能激活减数分裂检验点, 导致减数分裂停滞、配子无法形成和不孕不育.

为确保在同源染色体之间建立稳定的物理连接,

引用格式: 蒋涵玮, 樊岁兴, 史庆华. 哺乳动物减数分裂联会复合体的结构、功能与人类不孕不育. 中国科学: 生命科学, 2024, 54: 4–15
Jiang H W, Fan S X, Shi Q H. The structure and function of mammalian synaptonemal complex and human infertility (in Chinese). Sci Sin Vitae, 2024, 54: 4–15, doi: 10.1360/SSV-2023-0182

每对同源染色体之间必须发生至少一次重组交换, 且同一对同源染色体间的多个重组交换之间的距离不能过于靠近, 这一现象被称为重组调控^[2,3]. 重组调控依赖于减数第一次分裂前期程序性DSB产生和修复的调控以及联会复合体(synaptonemal complex, SC)的形成(图1), 其中, 程序性DSB的产生和修复是同源染色体相互识别和配对的基础, 更是重组交换的来源^[4]. 联会复合体的形成则在同源染色体配对之后, 进一步稳定了同源染色体之间的连接, 并为重组的形成提供稳定的微环境^[5].

同源染色体联会形成联会复合体是减数第一次分裂的核心事件之一, 是减数分裂前期染色体行为的结构基础^[6], 对减数分裂程序性DSB的产生、修复及重组交换的形成都有必不可少的支持和调控作用^[5,7,8]. 联会复合体不能正常形成则可能导致多种减数分裂异常, 从而激活不同的减数分裂前期检验点, 诱发减数分裂停滞、配子不能产生和不孕不育^[9-12]. 本综述将重点针对小鼠减数分裂联会复合体相关的重要发现进行回顾, 总结联会复合体的组成、结构、组装过程以及在减数分裂中的作用, 分析迄今发现的联会复合体相关蛋白突变与人类不孕不育的关系, 并展望联会复合体相关的研究方向和重点.

1 联会复合体的结构和组装

1.1 联会复合体的结构

联会复合体是减数分裂前期细胞核内的一种非永久性细胞器. 自Fawcett^[13]和Moses^[14]于1956年首次发

现联会复合体后, 其结构、功能、组装和解体等一直广受关注. 目前普遍认为, 联会复合体呈拉链状结构, 包括两条平行排列的侧轴(lateral element, LE)和附着于侧轴上呈环状排布的同源染色体、位于两条侧轴之间的中央区域(central region, CR)和中轴(central element, CE), 以及连接侧轴与中轴的横向纤维(transverse filament, TF)^[15](图2). 在多数生物中, 联会复合体侧轴之间的距离, 即中央区域的宽度为90~150 nm^[16].

1.2 联会复合体侧轴的组装

联会复合体的组装起始于侧轴的形成. 在进入减数分裂后, 黏连蛋白首先开始在染色体上组装, 部分黏连蛋白使染色体出现环状结构, 另一部分黏连蛋白则将姐妹染色单体连接在一起, 这些黏连蛋白相互连接, 并逐渐在每对姐妹染色单体间形成多个短棒状的黏连蛋白轴, 染色质则呈环状附着在这些呈短棒状的黏连蛋白轴上^[17,18], 而侧轴蛋白随后被募集到黏连蛋白所在区域^[19], 这一时期被称为细线期. 随着细胞周期的进行, 侧轴蛋白和黏连蛋白一起向两侧延伸, 最终形成贯穿整条染色体的侧轴, 减数分裂则进入偶线期. 目前已知的侧轴蛋白包括SYCP2(synaptonemal complex protein 2)和SYCP3(synaptonemal complex protein 3)^[11,12], 其中, SYCP2可以通过其上的多个DNA结合区域直接结合染色体DNA^[20]. 而SYCP2的C端则通过其卷曲螺旋(coiled-coil)结构与SYCP3互作而募集SYCP3; 卷曲螺旋结构破坏后, SYCP3不能被募集, 侧轴无法形成, 而无法被募集的SYCP3则在细胞核内形成聚集体^[12]. 与此一致的是, 利用超高分辨显

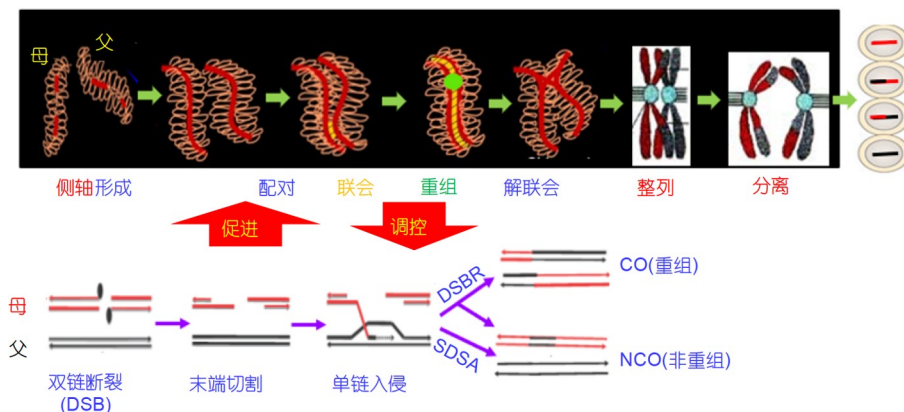


图1 重组和联会是减数分裂中的两大关键事件

Figure 1 Homologous recombination and synapsis are two key events in meiosis

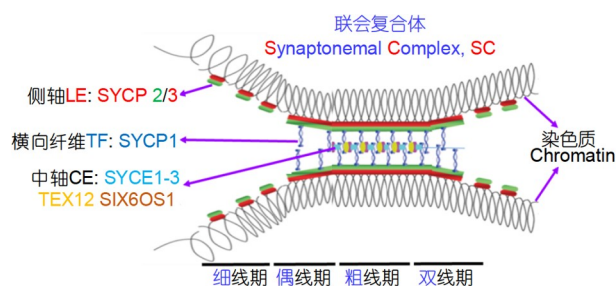


图2 联会复合体的结构和组装(修改自文献[15], 已获得《生理学报》版权许可)

Figure 2 The structure and assembly of synaptonemal complex (modified from ref. [15] with copyright permission from *Acta Physiologica Sinica*)

显微镜对侧轴相关蛋白的定位分析显示, SYCP2的N端定位与黏连蛋白更为接近, 而其C端则与SYCP3共定位^[21](图3), 提示SYCP2通过其N端与染色体和黏连蛋白连接, 通过其C端募集SYCP3. 与SYCP2不同, SYCP3在体外具有自发组装形成纤维状结构的能力^[22]. 研究表明, SYCP3主要由位于N端的Ntip、C端的Ctip, 以及位于中段的 α Core组成^[23]. 在SYCP3自组装为纤维状结构时, 其首先通过自身 α Core结构域发生多聚化, 形成四聚体. 随后, 这些SYCP3四聚体通过Ntip和Ctip结构相互连接, 进而延伸为纤维状结构^[23]. 因此, 通常认为在SYCP3被募集后, 可以在以其N末端的DNA结合区域与染色体DNA结合的基础上, 通过自身多聚化将同一染色体邻近区域联系在一起, 进而确保侧轴的完整性并促进侧轴的延伸.

1.3 联会复合体中央区域的组装

在偶线期细胞中, 同源染色体开始在不同区域发生配对. 在配对区域, 联会复合体的中央区域开始组装, 并最终形成连接同源染色体侧轴全长的结构——联会复合体, 这一过程则被称为联会(图2). 联会开始于横向纤维SYCP1(synaptonemal complex protein 1)的组装, 横向纤维随后募集中轴蛋白中的联会起始因子SYCE3(synaptonemal complex central element protein 3), SYCE1(synaptonemal complex central element protein 1)和SIX6OS1(Six6 opposite strand transcript 1), 从而把同源染色体连接在一起, 即联会起始^[24,25]. 在联会起始完成后, 联会延伸因子SYCE2(synaptonemal complex central element protein 2)和TEX12(testis expressed 12)被募集, 并将各个联会起始区段连接在一起, 形成

稳定、连续并贯穿侧轴全长的联会复合体, 该过程即联会的延伸^[24]. 在细胞内所有的同源染色体(除性染色体的非假常染色体区)都完成联会后, 减数分裂由偶线期进入粗线期.

横向纤维SYCP1由位于中央的 α 螺旋和位于两端的尾部结构组成. 联会时, SYCP1的N末端在联会复合体中轴区域形成头对头的多聚结构, 而C末端则在侧轴位置形成肩并肩的多聚结构^[26]. 早期的研究认为, SYCP1通过其C端与SYCP2 C端的卷曲螺旋结构互作而被募集^[23]. 然而, 新近的研究表明, 在SYCP2敲除小鼠中, 侧轴蛋白不能被募集, 但SYCP1依然可以被募集到黏连蛋白轴上, 说明SYCP1的募集可能依赖黏连蛋白而非SYCP2^[8]. 与此一致的是, 超高分辨显微镜的观察结果显示, SYCP1的C端更多地定位于黏连蛋白所在的区域而非SYCP3和SYCP2所在区域^[21](图3), 提示SYCP1虽然与SYCP2互作, 但这一互作与SYCP1的募集无关.

横向纤维SYCP1被募集后, 其N端募集SYCE3^[27,28], 而SYCE3则可以通过与SYCE1的直接互作, 进而募集SYCE1和SIX6OS1^[29](图4)并最终形成能将同源染色体侧轴连接在一起的稳定结构, 实现联会的起始. 值得注意的是, 横向纤维和各个联会起始因子的募集虽然有先后顺序, 但是, 必须在这些蛋白被全部募集并且形成能将同源染色体稳定连接的中央区域以完成联会起始后, 才能更稳定地结合在染色体轴上(图4). 而当其中任何一种蛋白缺失导致联会无法起始时, 都会导致横向纤维和所缺失的蛋白上游的各种联会起始因子在侧轴上的稳定性下降, 从而只能在侧轴上形成分散且亮度较低的点状信号, 但几乎无法形成稳定的同源染色体连接^[25,29-31](图4). 虽然已经发现了众多联会起始因子, 并且已了解这些联会起始因子的募集顺序, 但是, 对于这些联会起始因子究竟如何通过相互作用而起始联会, 却并不完全清楚.

联会成功起始后, 联会区域会向两边扩展, 从而将已起始联会的区域连接到一起, 并同时促进联会复合体中轴的进一步组装, 最终形成贯穿同源染色体全长的中央区域, 实现完全联会. 目前普遍认为, 联会延伸是由联会延伸因子SYCE2和TEX12所介导的^[24,32,33]. SYCE2和TEX12被募集后, 可以通过自身的多聚化形成纤维状结构, 进而促进联会的延伸^[32]. 值得注意的是, 联会起始和联会延伸有着严格的顺序, 只有在联

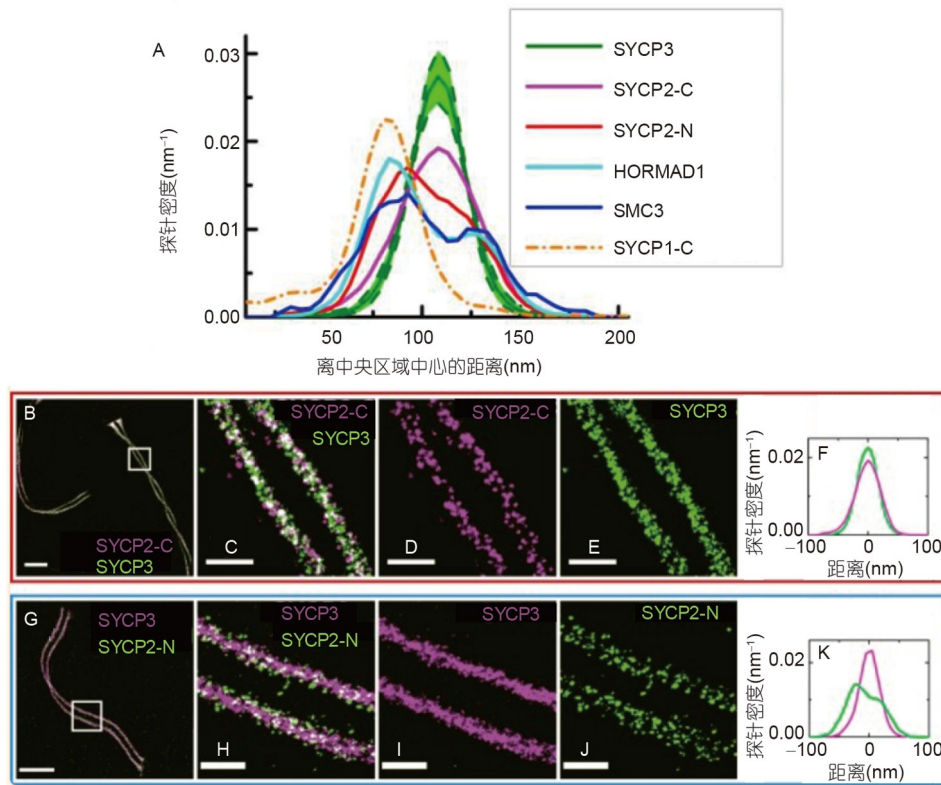


图 3 超高分辨显微镜下侧轴定位蛋白和横向纤维蛋白的定位关系(修改自文献[21](开放获取))

Figure 3 The localization of axial proteins and transverse filament under stochastic optical reconstruction microscopy (STORM) (modified from ref. [21] (Open Access))

会起始完成之后, 联会延伸因子才能被募集. 然而, 目前已发现的联会起始因子中, 只有SYCE3与联会延伸因子SYCE2具有直接的相互作用^[34], 而在*Syce1*突变小鼠中, SYCE3虽然能被初步募集, 却无法募集SYCE2^[29], 提示SYCE3与SYCE2的相互作用不是联会延伸的充分条件.

2 联会复合体的主要功能

程序性DSB的产生和修复与同源染色体联会形成联会复合体是减数第一次分裂中的两大核心事件. 其中, 程序性DSB的产生和修复, 使同源染色体之间可以相互识别和配对, 进而起始联会, 而重组交换则是程序性DSB修复的一类产物. 联会复合体的形成, 则为程序性DSB的产生、修复以及最终形成交换和非交换产物提供了支持和调控.

在细线期, 侧轴形成的同时, 黏连蛋白轴可以募集HORMA结构域蛋白HORMAD1(HORMA domain

containing 1)^[8], 而HORMAD1则可以通过与IHO1(interactor of HORMAD1 protein 1)的互作, 募集程序性DSB产生的关键蛋白IHO1和程序性DSB产生效应蛋白, 从而促进程序性DSB的产生^[35]. 当HORMAD1缺失而导致IHO1无法被募集到侧轴上时, 会导致程序性DSB显著减少^[35]. 有趣的是, 近来的研究发现, 当侧轴蛋白缺失时, 虽然HORMAD1依然可以通过与黏连蛋白的互作而被募集, 但是IHO1却不能被正常募集^[8]. 提示: 侧轴蛋白同样参与对IHO1的募集. 与此一致的是, 当侧轴蛋白缺失时, 程序性DSB的数目同样显著下降^[8]. 因此, 侧轴为程序性DSB产生过程中相关效应蛋白的募集提供了锚定位点进而促进了减数分裂程序性DSB的形成.

除侧轴外, 联会复合体的中央区域同样对程序性DSB的产生具有重要的调控作用. 在偶线期, 伴随联会的进行, 沿侧轴定位的HORMAD1被移除, 而被HORMAD1所募集的DSB效应蛋白同样从侧轴上解离, 从而阻止程序性DSB产生^[35,36]. 这一机制保证了程

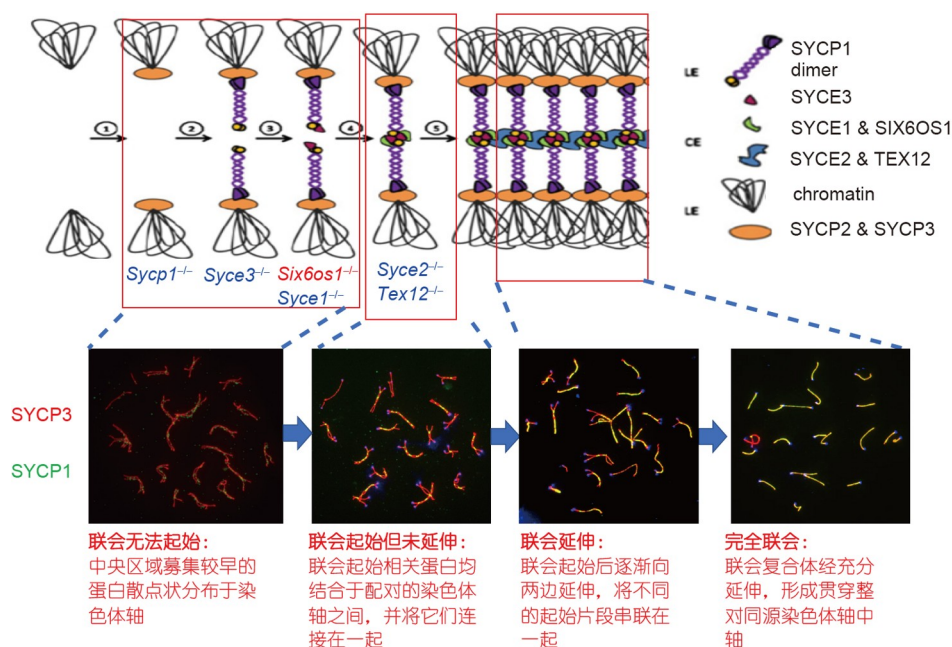


图4 联会的起始和延伸(修改自文献[24], 已获得Elsevier版权许可)

Figure 4 The initiation and elongation of synapsis (modified from ref. [24] with copyright permission from Elsevier)

序性DSB仅在未联会的区域产生, 防止DSB在减数分裂前期反复产生, 进而确保了配子基因组的稳定性。

联会复合体的形成对程序性DSB的修复同样存在重要的调控作用。在减数分裂中, 程序性DSB必须通过同源重组途径、以同源染色体为模板进行修复。程序性DSB经末端加工形成的DNA单链, 按碱基互补的原则入侵同源染色体上的DNA分子, 形成单链入侵(single end invasion, SEI)的重组中间体, 从而在同源染色体之间建立连接, 促进同源染色体的精确配对^[17]。在SEI重组中间体形成后, 若同源重组修复沿SDSA(synthesis-dependent strand annealing)途径不间断地进行, 则可能导致由重组中间体维持的同源染色体之间的连接消失, 进而使同源染色体的配对状态无法维持。因此, 在SEI完成后, 还需要联会复合体的组装, 以便在同源染色体之间建立以中央区域蛋白维持的物理连接, 进而确保在SEI重组中间体解离并完成DSB修复过程中同源染色体配对状态的维持。为确保同源染色体间的连接由重组中间体顺利过渡到联会复合体中央区域, 有人认为, 在减数分裂细胞中, 可能存在未知的机制, 使重组修复暂时停滞于SEI重组中间体阶段, 以等待联会的发生^[10,37,38]。在联会复合体中轴蛋白突变的小鼠中, 同源染色体可以配对, 但联

会无法完成, 程序性DSB的修复停滞于SEI重组中间体阶段^[10,37]。

在完成联会的区域, 停滞于SEI重组中间体状态的同源重组可以继续, 其中大部分SEI重组中间体通过SDSA途径解离, 少部分被RNF212(ring finger protein 212)所稳定^[39,40]。这些被RNF212所稳定的重组中间体随后在HEI10(human enhancer of invasion 10), MLH3(MutL homolog 3)和PRR19(proline rich 19)等蛋白的作用下经过进一步的筛选^[41~43], 形成dHJ(double Holliday Junction)并被MLH1-MLH3和EXO1所切割, 最终产生重组交换产物^[41,44], 其余的则被去稳定, 并通过SDSA途径形成非交换产物^[43]。在小鼠中, 每个精母细胞会产生约250个程序性DSB, 并产生相同数目的SEI重组中间体, 然而最终却只有约25个SEI重组中间体会形成重组交换的产物^[4]。这一过程也受到联会复合体的调控, 有证据表明, RNF212虽然可以被SEI重组中间体所募集, 但是在粗线期大多数RNF212的募集都依赖于联会^[39]。提示联会复合体可以通过募集RNF212, 稳定部分重组中间体, 进而促进重组交换的发生。然而, 联会复合体如何募集RNF212, 以及它是否还通过与RNF212无关的途径调控重组交换的发生, 尚有待进一步研究。

3 联会复合体蛋白突变与人类不孕不育

减数分裂异常是人类不孕不育的重要致病原因。本团队对5393例无精子症患者睾丸组织的病理学分析(<http://mcg.ustc.edu.cn/sdap1/case/index.php>)以及文献报道都显示,至少8%的男性不育患者存在减数分裂缺陷^[45,46]。联会复合体作为减数分裂染色体行为的结构基础,其相关蛋白的突变往往会导致减数分裂异常,并引发不孕不育。

研究表明,小鼠的配子发生减数分裂,联会复合体侧轴与中轴蛋白的突变会导致不同的减数分裂表型,其中侧轴蛋白SYCP2和SYCP3的突变表型也存在明显的性别差异,这些突变往往导致雄性小鼠减数分裂停滞和完全不育,却只导致雌性小鼠生育力下降和每窝产仔数减少^[11,12]。中轴蛋白突变在雌雄小鼠中均会导致减数分裂完全停滞于晚偶线期或类粗线期^[10,25,37,38]。这些差异的产生,可能是由于侧轴和中轴蛋白突变对于程序性DSB产生和修复的影响不同,以及雌雄小鼠中被激活的检验点不同。在人类不孕不育患者中,侧轴和中轴蛋白的突变也同样具有不同的效应,而且已报道的侧轴蛋白突变都是杂合突变,而中轴蛋白突变全部都是纯合或复合杂合突变(表1)。

3.1 联会复合体侧轴蛋白突变与人类不孕不育

在人类不孕不育患者中,已报道的侧轴蛋白突变多数位于SYCP3上。在最早的突变报道中,研究人员在19例减数分裂停滞的男性不育患者中对SYCP3的突变进行了检测,发现其中两例患者携带SYCP3杂合突变c.643delA^[47]。该突变可能导致SYCP3的翻译提前终止而产生缺失C末端Ctip结构域的截短蛋白(p.I215Lfs*2),该结构域的缺失可能影响SYCP3自组装过程中纤维的延伸,而不影响SYCP3的多聚化^[22],这可能就是该突变表现出显性负效应的原因。与此一致的是,在另一篇关于SYCP3突变的报道中,发现了4个碱基缺失的SYCP3突变(c.524_527delTTAA),而携带该突变的患者仅表现出严重的少精子症,而非无精子症^[48]。该突变可能影响了SYCP3的 α Core,因此导致突变蛋白更难掺入SYCP3纤维。在女性不孕患者中,也同样有SYCP3突变的报道。但携带SYCP3杂合突变的女患者往往表现为复发性流产^[49-51]。如在2009年,研究人员通过对26名复发性流产患者的DNA测序发现了SYCP3

的两个杂合突变(c.553-16_19del和c.657T>C)^[51],这两个突变均可能导致SYCP3 mRNA的错误剪接,进而影响其C末端的Ctip结构,破坏SYCP3的多聚化。但上述SYCP3突变的效应及相关推测都缺乏小鼠体内功能实验的验证。

迄今,仅有一篇关于SYCP2突变导致人类不孕不育的报道。在该报道中,研究人员在一例携带染色体易位的无精子症患者(46,XY,t(20;22)(q13.3;q11.2)精母细胞中发现SYCP2的异常高表达,并推测这可能是由于易位影响了SYCP2的增强子^[52]。为验证SYCP2高表达对减数分裂的影响,研究人员在酵母中过表达了SYCP2,发现SYCP2过表达导致侧轴无法正常形成,提示SYCP2的表达异常可能导致人类不孕不育。同样,在该报道中,研究人员还发现了一系列可能与无精子症相关的SYCP2突变,但是这些突变的致病效应还有待功能实验的证实^[52]。

3.2 联会复合体中央区域蛋白突变与人类不孕不育

横向纤维SYCP1的突变会导致男性不育(表1)。2022年,研究人员在一个有三位少精子症患者的近亲婚配家系中,发现了SYCP1的移码突变(c.2892delA)^[53]。该突变在三位患者中均为纯合,在其父母中均为杂合。根据预测,该突变可能导致SYCP1翻译提前终止,并表达C末端缺失10个氨基酸的SYCP1截短蛋白(p.K967Nfs*2)。然而,由于缺少体内功能实验的验证,该突变是否及如何影响精子发生减数分裂并导致少精子症,尚有待研究。

在联会起始因子中,与人类不孕不育有关的,仅有SYCE1和SIX6OS1的突变被不同的研究组所报道,而SYCE3的突变尚未被报道(表1)。在SYCE1上发现的与人类不孕不育相关的突变最多,且均为纯合或复合杂合突变,包括拷贝数变异^[54,55]、全基因的丢失^[56,57]和多种碱基缺失突变,如c.197-2A>G, c.271+2T>C, c.375-2A>G和c.689_690del^[29,58-61]。其中,SYCE1完全丢失的致病机制与Syce1敲除小鼠相同,即导致联会不能起始。而移码和剪接位点突变则可能导致SYCE1截短蛋白产生。其中, c.375-2A>G和c.271+2T>C突变均可导致SYCE1与C14ORF39(SIX6OS1)的N端互作的区域缺失,而SIX6OS1的N端与SYCE1的互作则是联会起始必需的^[29]。c.197-2A>G和c.689_690del所产生的截短蛋白都缺失了第241位氨基酸以后的区段。而

表 1 人类不育患者中发现的联会复合体组成蛋白(潜在)致病突变^{a)}

Table 1 (Potential) pathogenic mutations on synaptonemal complex proteins identified from infertile patients^{a)}

基因	突变	杂合/纯合	患者生殖表型	患者减数分裂表型	体外功能验证方法和结果	体内功能验证方法和结果	文献
SYCP3	c.643delA	杂合	非梗阻性无精子症	减数分裂停滞	1. 与WT的SYCP3互作减弱 2. 细胞内表达影响SYCP3纤维化(单独表达及与WT的SYCP3共同表达)	无	Miyamoto等人 ^[47]
	c.524_527delTTAA	杂合	严重少精子症	未检测	无	无	Oud等人 ^[48]
	c.754A>G	杂合		未检测	无	无	Stouffs等人 ^[49]
	c.548T>C	杂合		未检测	无	无	Stouffs等人 ^[49]
	c.553-16_19del	杂合	习惯性流产	未检测	细胞内表达影响SYCP3纤维化(单独表达及与WT的SYCP3共同表达)	无	Bolor等人 ^[51]
	c.657T>C	杂合		未检测	细胞内表达影响SYCP3纤维化(单独表达及与WT的SYCP3共同表达)	无	Bolor等人 ^[51]
SYCP2	46,XY,t(20;22)(q13.3;q11.2)(染色体易位导致SYCP2过表达)	杂合	严重少精子症	患者SYCP2异常高表达	无	酵母中过表达SYCP2的同源蛋白RED1导致侧轴无法形成	Schilit等人 ^[52]
	c.2022_2025del	杂合	隐匿精子症	未检测	无	无	Schilit等人 ^[52]
	c.2793_2797del	杂合		未检测	无	无	Schilit等人 ^[52]
	c.3067_3071del	杂合	无精子症	减数分裂停滞	无	无	Schilit等人 ^[52]
SYCP1	c.2892delA	纯合	严重少精子症	精子中有大量未修复DSB, 推测为减数分裂DSB修复障碍导致	无	无	Nabi等人 ^[53]
SYCE1	seq[GRCh37] del(10)(10q26.3) chr10: g.135111754_135427143del 及 c.689_690 del:p.F230fs 复合杂合突变	杂合, 但另一个等位基因有功能丧失突变		未检测	无	无, 但预期与KO鼠一致	Huang等人 ^[54]
	seq[GRCh37] del(10)(10q26.3) chr10: g.135340247_135379115del (纯合)	纯合		减数分裂停滞	无	无, 但预期与KO鼠一致	Huang等人 ^[54]
	CNV	多种不同类型CNV		未检测	无	无	Huang等人 ^[55]
	全基因缺失	纯合	非梗阻性无精子症	减数分裂停滞	无	无, 但预期与KO鼠一致	Krausz等人 ^[56] , An等人 ^[57]
	c.197-2A>G	纯合		未检测	无	无, 但导致65位氨基酸之后全部缺失, 缺失大部分功能结构域, 预期与敲除鼠相同	Sánchez-Sáez等人 ^[29] , Maor-Sagie等人 ^[59]
	c.375-2A>G	纯合		未检测	无	无, 但导致125~155位氨基酸缺失, 破坏其核心结构域, 预期与敲除鼠表型相同	Pashaei等人 ^[58] , Sánchez-Sáez等人 ^[29]
	c.271+2T>C	纯合		未检测	无	无, 但突变导致4号外显子缺失, 破坏SYCE1上第一个与C14ORF39 (SIX6OS1)的互作区域, 预期与SIX6OS1的N端截短突变纯合小鼠表型相同	Hou等人 ^[60]
	c.689_690del和c.475G>A	复合杂合突变	早发性卵巢功能不全	未检测	c.475G>A和c.689_690del破坏SYCE1与SYCP1的互作	c.689_690del突变导致的截短蛋白p.Phe230-Serfs*21缺失区段大于pQ241*, 而后者对应的突变小鼠联会无法起始	Hou等人 ^[60]
	c.613C>T	纯合	早发性卵巢功能不全; 卵巢早衰	未检测	无	携带类似突变的小鼠表达截短的SYCE1蛋白pQ241*, 且联会无法起始, 雌鼠与患者表型一致	Sanchez-Saez等人 ^[29] , Liat de Vries等人 ^[62]

(表1续1)

基因	突变	杂合/纯合	患者生殖表型	患者减数分裂表型	体外功能验证方法和结果	体内功能验证方法和结果	文献
SIX6OS1	c.204_205del	纯合		无法联会, 中轴完全缺失	体外检测可产生截短蛋白	预期的截短蛋白缺失大部分功能结构域, 可能完全丧失功能, 与敲除鼠一致. 且可产生更长截短蛋白的小鼠减数分裂停滞	Fan等人 ^[9]
	c.958G>T	纯合	非梗阻性无精子症	不完全联会	体外检测可产生截短蛋白	携带相似突变小鼠无法完全联会, 与病人表型一致	Fan等人 ^[9]
	c.1180-3C>G	纯合		不完全联会, 患者中检测到突变蛋白	无	未检测	Fan等人 ^[9]
	c.135_136del	纯合		未检测	体外验证仍可与SYCE1互作但突变蛋白不稳定	预期的截短蛋白短于c.204_205del突变产生的截短蛋白, 而c.204_205del导致小鼠无法联会和减数分裂停滞	Hou等人 ^[60]
	c.204_205del	纯合	早发性卵巢功能不全	未检测	体外检测可产生截短蛋白	预期的截短蛋白缺失大部分功能结构域, 可能完全丧失功能, 与敲除鼠一致. 且可产生更长截短蛋白的小鼠减数分裂停滞	Fan等人 ^[9]
	c.508C>T	纯合		未检测	无	突变导致翻译提前终止, 预期产生截短蛋白p.Arg170*, 该截短蛋白短于c.958G>T产生的截短蛋白, 而c.958G>T导致小鼠不能完全联会	Hou等人 ^[60]
SYCE3	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF
TEX12	c.196-200del	纯合	非梗阻性无精子症	未检测	无	突变导致蛋白丧失多数功能结构域, 预期与敲除小鼠相同	Bui等人 ^[63]
SYCE2	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF

a) NF表示无相关数据

SYCE1的截短突变(p.Q241*)已被证实丧失了与SYCE3的互作以及与SIX6OS1的部分互作, 进而导致联会无法起始, 最终引起小鼠不育和人类卵巢早衰 (premature ovarian failure, POF)^[29,62].

2022年, 本团队^[9]报道了在人类无精子症患者中发现的*C14orf39*(*SIX6OS1*)的三种纯合突变, c.204_205del, c.958G>T和c.1180-3C>G. 这三种突变均导致SIX6OS1翻译提前终止, 并产生不同长度的SIX6OS1截短蛋白. 其中, 携带c.204_205del的患者表型与*Six6os1*敲除小鼠相似, 提示该突变导致了SIX6OS1蛋白功能完全丧失; 携带c.958G>T和c.1180-3C>G纯合突变的患者则表现为同源染色体不能完全联会. 模拟患者c.958G>T突变的C末端缺失小鼠(c.907_910del)呈现与患者非常相似的减数分裂异常, 提示该突变可能激活联会检验点进而诱发减数分裂停滞和无精子症.

新近, 研究人员在一个近亲结婚所生的两位非梗阻性无精子症患者中, 发现了*TEX12*纯合移码突变(c.196_200del)^[63]. 该突变导致TEX12功能的完全丧失,

而这也与*Tex12*敲除导致小鼠同源染色体的联会无法延伸, 减数分裂停滞于偶线期的报道一致. 对于另一个联会延伸因子SYCE2, 迄今还没有不孕不育患者的突变报道.

值得注意的是, 与女性患者相比, 在男性不育患者中, 联会复合体突变的报道似乎更为常见, 这可能是因为在男性减数分裂过程中, 即使是不严重的联会异常, 也有可能影响性泡的形成, 进而导致性染色体无法被正常沉默, 激活性染色体沉默检验点, 导致减数分裂停滞. 而在女性中, 联会异常不严重的卵母细胞则更可能完成减数分裂, 并最终形成卵子.

4 小结与展望

联会复合体, 因为其在配子发生减数分裂中的重要作用, 一直广受关注, 而与联会复合体相关的研究, 也一直是减数分裂研究的热点. 当前, 对联会复合体的研究主要集中在: 利用最新的方法和手段研究联会复合体的组成、结构和功能及其分子调控, 探索联会复

合体蛋白突变导致人类不孕不育关系的病理机制。

从联会复合体被发现, 研究人员即开始对其分子组成和结构的研究。在早期的研究中, 研究人员主要利用透射电子显微镜对硝酸银或磷钨酸染色的性腺组织切片或表面铺展的减数分裂细胞进行观察, 研究多种生物的联会复合体结构和组成^[64-67]。之后, 随着基因克隆、基因打靶技术的建立和荧光免疫染色的发展, 研究人员开始构建并利用各种联会复合体蛋白/基因敲除小鼠, 来研究各种联会复合体蛋白在联会复合体中的定位、作用, 并利用分子互作检测这些蛋白之间及自身可能的互作模式^[10-12,25,63]。近年来, 随着结构生物学的发展、超高分辨显微技术和CRISPR/Cas9等技术的建立, 对联会复合体组成和结构的研究也迎来了新的发展机遇。利用结构生物学技术, 越来越多联会复合体蛋白的结构被揭示, 这为了解联会复合体蛋白的互作模式提供了新线索^[22,26,32,34]。利用CRISPR/Cas9技术可以快速构建联会复合体蛋白重要结构域的突变小鼠, 为在体内验证这些结构域在联会复合体形成过程中的功能提供了有力的技术支持^[29]。利用超高分辨显微技术, 可以更直观且更清晰地看到不同联会复合体蛋白的定位关系, 进而促进对联会复合体结构的认识^[21]。

虽然人们已经知道联会复合体在减数分裂程序性

DSB产生、修复和重组交换形成及其调控中具有重要作用, 但到目前为止, 人们对联会复合体如何发挥这些功能尚缺乏深入的认识。例如, 侧轴蛋白如何促进IHO1的募集, SC中央区域的组装如何移除HORMAD1, 以及通过何种机制导致程序性DSB的修复停滞于SEI重组中间体阶段, SC如何调控重组交换的形成等。而这些问题, 也是减数分裂两大关键事件(联会和重组)动态偶联的纽带, 也是了解减数分裂动态调控的关键。目前, CRISPR/Cas9和蛋白质组学技术等的发展, 为发现联会复合体与重组蛋白的互作、定位互作区段, 并通过制作相应的基因突变小鼠进行体内验证提供了可能。

最后, 对于人类不孕不育患者中, 联会复合体蛋白突变的发现和病理机制研究, 同样可以帮助人们发现联会复合体蛋白的重要结构域, 了解不同联会复合体蛋白突变的效应, 促进人们对联会复合体结构、功能、组装和去组装的深入认识, 发现减数分裂调控的新环节。总之, 随着新突变的发现、新技术的研发和应用, 有望在未来数年内发现联会复合体的新组分, 构建联会复合体组装和去组装的新模型, 解析联会复合体与程序性DSB产生和修复的分子偶联, 也为联会复合体异常所致人类不孕不育的诊治带来新希望。

参考文献

- 1 Kleckner N. Meiosis: how could it work? *Proc Natl Acad Sci USA*, 1996, 93: 8167-8174
- 2 Nambiar M, Chuang Y C, Smith G R. Distributing meiotic crossovers for optimal fertility and evolution. *DNA Repair*, 2019, 81: 102648
- 3 Smith G R, Nambiar M. New solutions to old problems: molecular mechanisms of meiotic crossover control. *Trends Genet*, 2020, 36: 337-346
- 4 Baudat F, Imai Y, de Massy B. Meiotic recombination in mammals: localization and regulation. *Nat Rev Genet*, 2013, 14: 794-806
- 5 Hollingsworth N M. A new role for the synaptonemal complex in the regulation of meiotic recombination. *Genes Dev*, 2020, 34: 1562-1564
- 6 Jiang H W, Li T, Fan S X, et al. Chromosome behavior and the molecular basis of meiosis (in Chinese). *Sci Sin Vitae*, 2017, 47: 16-25 [蒋涵玮, 李涛, 樊岁兴, 等. 减数分裂染色体的行为及其分子基础. 中国科学: 生命科学, 2017, 47: 16-25]
- 7 Shinohara M, Oh S D, Hunter N, et al. Crossover assurance and crossover interference are distinctly regulated by the ZMM proteins during yeast meiosis. *Nat Genet*, 2008, 40: 299-309
- 8 Fujiwara Y, Horisawa-Takada Y, Inoue E, et al. Meiotic cohesins mediate initial loading of HORMAD1 to the chromosomes and coordinate SC formation during meiotic prophase. *PLoS Genet*, 2020, 16: e1009048
- 9 Fan S, Jiao Y, Khan R, et al. Homozygous mutations in C14orf39/SIX6OS1 cause non-obstructive azoospermia and premature ovarian insufficiency in humans. *Am J Hum Genet*, 2022, 109: 1343
- 10 de Vries F A T, de Boer E, van den Bosch M, et al. Mouse *Sycp1* functions in synaptonemal complex assembly, meiotic recombination, and XY body formation. *Genes Dev*, 2005, 19: 1376-1389
- 11 Yuan L, Liu J G, Zhao J, et al. The murine *SCP3* gene is required for synaptonemal complex assembly, chromosome synapsis, and male fertility. *Mol Cell*, 2000, 5: 73-83

- 12 Yang F, Fuente R D L, Leu N A, et al. Mouse SYCP2 is required for synaptonemal complex assembly and chromosomal synapsis during male meiosis. *J Cell Biol*, 2006, 173: 497–507
- 13 Fawcett D W. The fine structure of chromosomes in the meiotic prophase of vertebrate spermatocytes. *J Cell Biol*, 1956, 2: 403–406
- 14 Moses M J. Chromosomal structures in crayfish spermatocytes. *J Cell Biol*, 1956, 2: 215–218
- 15 Jiang H W, Jiang X H, Ye J W, et al. Synaptonemal complex: the fundamental structure of meiosis (in Chinese). *Acta Physiol Sin*, 2020, 72: 84–90 [蒋涵玮, 江小华, 叶经纬, 等. 联会复合体: 减数分裂的结构基础. *生理学报*, 2020, 72: 84–90]
- 16 Cahoon C K, Hawley R S. Regulating the construction and demolition of the synaptonemal complex. *Nat Struct Mol Biol*, 2016, 23: 369–377
- 17 Ur S N, Corbett K D. Architecture and dynamics of meiotic chromosomes. *Annu Rev Genet*, 2021, 55: 497–526
- 18 Lu Y J, Zhou C Y, Xiong B. Functional diversity of chromosome cohesion proteins (in Chinese). *Sci Sin Vitae*, 2022, 52: 1844–1857 [卢亚娟, 周长银, 熊波. 染色体黏合蛋白功能的多样性. *中国科学: 生命科学*, 2022, 52: 1844–1857]
- 19 Grey C, de Massy B. Chromosome organization in early meiotic prophase. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9: 688878
- 20 Feng J, Fu S, Cao X, et al. Synaptonemal complex protein 2 (SYCP2) mediates the association of the centromere with the synaptonemal complex. *Protein Cell*, 2017, 8: 538–543
- 21 Xu H, Tong Z, Ye Q, et al. Molecular organization of mammalian meiotic chromosome axis revealed by expansion STORM microscopy. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2019, 116: 18423–18428
- 22 Bollschweiler D, Radu L, Joudeh L, et al. Molecular architecture of the SYCP3 fibre and its interaction with DNA. *Open Biol*, 2019, 9: 190094
- 23 Syrjänen J L, Pellegrini L, Davies O R. A molecular model for the role of SYCP3 in meiotic chromosome organisation. *eLife*, 2014, 3: e02963
- 24 Fraune J, Schramm S, Alsheimer M, et al. The mammalian synaptonemal complex: protein components, assembly and role in meiotic recombination. *Exp Cell Res*, 2012, 318: 1340–1346
- 25 Gómez-H L, Felipe-Medina N, Sánchez-Martín M, et al. C14ORF39/SIX6OS1 is a constituent of the synaptonemal complex and is essential for mouse fertility. *Nat Commun*, 2016, 7: 13298
- 26 Dunce J M, Dunne O M, Ratcliff M, et al. Structural basis of meiotic chromosome synapsis through SYCP1 self-assembly. *Nat Struct Mol Biol*, 2018, 25: 557–569
- 27 Dunne O M, Davies O R. Molecular structure of human synaptonemal complex protein SYCE1. *Chromosoma*, 2019, 128: 223–236
- 28 Hernández-Hernández A, Masich S, Fukuda T, et al. The central element of the synaptonemal complex in mice is organized as a bilayered junction structure. *J Cell Sci*, 2016, 129: 2239–2249
- 29 Sánchez-Sáez F, Gómez-H L, Dunne O M, et al. Meiotic chromosome synapsis depends on multivalent SYCE1-SIX6OS1 interactions that are disrupted in cases of human infertility. *Sci Adv*, 2020, 6: eabb1660
- 30 Schramm S, Fraune J, Naumann R, et al. A novel mouse synaptonemal complex protein is essential for loading of central element proteins, recombination, and fertility. *PLoS Genet*, 2011, 7: e1002088
- 31 Costa Y, Speed R, Ollinger R, et al. Two novel proteins recruited by synaptonemal complex protein 1 (SYCP1) are at the centre of meiosis. *J Cell Sci*, 2005, 118: 2755–2762
- 32 Dunce J M, Salmon L J, Davies O R. Structural basis of meiotic chromosome synaptic elongation through hierarchical fibrous assembly of SYCE2-TEX12. *Nat Struct Mol Biol*, 2021, 28: 681–693
- 33 Hamer G, Gell K, Kouznetsova A, et al. Characterization of a novel meiosis-specific protein within the central element of the synaptonemal complex. *J Cell Sci*, 2006, 119: 4025–4032
- 34 Crichton J H, Dunce J M, Dunne O M, et al. Structural maturation of SYCP1-mediated meiotic chromosome synapsis by SYCE3. *Nat Struct Mol Biol*, 2023, 30: 188–199
- 35 Stanzione M, Baumann M, Papanikos F, et al. Meiotic DNA break formation requires the unsynapsed chromosome axis-binding protein IHO1 (CCDC36) in mice. *Nat Cell Biol*, 2016, 18: 1208–1220
- 36 Lee M S, Higashide M T, Choi H, et al. The synaptonemal complex central region modulates crossover pathways and feedback control of meiotic double-strand break formation. *Nucleic Acids Res*, 2021, 49: 7537–7553
- 37 Bolcun-Filas E, Costa Y, Speed R, et al. SYCE2 is required for synaptonemal complex assembly, double strand break repair, and homologous recombination. *J Cell Biol*, 2007, 176: 741–747
- 38 Cooke H J, Saunders P T K. Mouse models of male infertility. *Nat Rev Genet*, 2002, 3: 790–801
- 39 Reynolds A, Qiao H, Yang Y, et al. RNF212 is a dosage-sensitive regulator of crossing-over during mammalian meiosis. *Nat Genet*, 2013, 45:

269–278

- 40 Rao H B D P, Qiao H, Bhatt S K, et al. A SUMO-ubiquitin relay recruits proteasomes to chromosome axes to regulate meiotic recombination. [Science](#), 2017, 355: 403–407
- 41 Manhart C M, Alani E. Roles for mismatch repair family proteins in promoting meiotic crossing over. [DNA Repair](#), 2016, 38: 84–93
- 42 Bondarieva A, Raveendran K, Telychko V, et al. Proline-rich protein PRR19 functions with cyclin-like CNTD1 to promote meiotic crossing over in mouse. [Nat Commun](#), 2020, 11: 3101
- 43 Qiao H, Prasada Rao H B D, Yang Y, et al. Antagonistic roles of ubiquitin ligase HEI10 and SUMO ligase RNF212 regulate meiotic recombination. [Nat Genet](#), 2014, 46: 194–199
- 44 Gioia M, Payero L, Salim S, et al. Exo1 protects DNA nicks from ligation to promote crossover formation during meiosis. [PLoS Biol](#), 2023, 21: e3002085
- 45 Krausz C, Escamilla A R, Chianese C. Genetics of male infertility: from research to clinic. [Reproduction](#), 2015, 150: R159–R174
- 46 Hann M C, Lau P E, Tempest H G. Meiotic recombination and male infertility: from basic science to clinical reality? [Asian J Androl](#), 2011, 13: 212–218
- 47 Miyamoto T, Hasuike S, Yorgev L, et al. Azoospermia in patients heterozygous for a mutation in *SYCP3*. [Lancet](#), 2003, 362: 1714–1719
- 48 Oud M S, Ramos L, O'Bryan M K, et al. Validation and application of a novel integrated genetic screening method to a cohort of 1,112 men with idiopathic azoospermia or severe oligozoospermia. [Hum Mutat](#), 2017, 38: 1592–1605
- 49 Stouffs K, Vandermaelen D, Tournaye H, et al. Mutation analysis of three genes in patients with maturation arrest of spermatogenesis and couples with recurrent miscarriages. [Reprod Biomed Online](#), 2011, 22: 65–71
- 50 Sazegari A, Kalantar S M, Pashaiefar H, et al. The T657C polymorphism on the *SYCP3* gene is associated with recurrent pregnancy loss. [J Assist Reprod Genet](#), 2014, 31: 1377–1381
- 51 Bolor H, Mori T, Nishiyama S, et al. Mutations of the *SYCP3* gene in women with recurrent pregnancy loss. [Am J Hum Genet](#), 2009, 84: 14–20
- 52 Schilit S L P, Menon S, Friedrich C, et al. *SYCP2* translocation-mediated dysregulation and frameshift variants cause human male infertility. [Am J Hum Genet](#), 2020, 106: 41–57
- 53 Nabi S, Askari M, Rezaei-Gazik M, et al. A rare frameshift mutation in *SYCP1* is associated with human male infertility. [Mol Hum Reprod](#), 2022, 28: gaac009
- 54 Huang Y, Tian R, Xu J, et al. Novel copy number variations within *SYCE1* caused meiotic arrest and non-obstructive azoospermia. [BMC Med Genomics](#), 2022, 15: 137
- 55 Huang N, Wen Y, Guo X, et al. A screen for genomic disorders of infertility identifies *MAST2* duplications associated with nonobstructive azoospermia in humans. [Biol Reprod](#), 2015, 93: 61
- 56 Krausz C, Riera-Escamilla A, Moreno-Mendoza D, et al. Genetic dissection of spermatogenic arrest through exome analysis: clinical implications for the management of azoospermic men. [Genet Med](#), 2020, 22: 1956–1966
- 57 An M, Liu Y, Zhang M, et al. Targeted next-generation sequencing panel screening of 668 Chinese patients with non-obstructive azoospermia. [J Assist Reprod Genet](#), 2021, 38: 1997–2005
- 58 Pashaei M, Rahimi Bidgoli M M, Zare-Abdollahi D, et al. The second mutation of *SYCE1* gene associated with autosomal recessive nonobstructive azoospermia. [J Assist Reprod Genet](#), 2020, 37: 451–458
- 59 Maor-Sagie E, Cinnamon Y, Yaacov B, et al. Deleterious mutation in *SYCE1* is associated with non-obstructive azoospermia. [J Assist Reprod Genet](#), 2015, 32: 887–891
- 60 Hou D, Yao C, Xu B, et al. Variations of *CI4ORF39* and *SYCE1* identified in idiopathic premature ovarian insufficiency and nonobstructive azoospermia. [J Clin Endocrinol Metab](#), 2022, 107: 724–734
- 61 Feng K, Ge H, Chen H, et al. Novel exon mutation in *SYCE1* gene is associated with non-obstructive azoospermia. [J Cell Mol Medi](#), 2022, 26: 1245–1252
- 62 de Vries L, Behar D M, Smirin-Yosef P, et al. Exome sequencing reveals *SYCE1* mutation associated with autosomal recessive primary ovarian insufficiency. [J Clin Endocrinol Metab](#), 2014, 99: E2129–E2132
- 63 Bui M D, Luong T L A, Tran H D, et al. A novel frameshift microdeletion of the *TEX12* gene caused infertility in two brothers with nonobstructive azoospermia. [Reprod Sci](#), 2023, 30: 2876–2881
- 64 Sotelo J R, García R B, Wettstein R. Serial sectioning study of some meiotic stages in *Scapteriscus borrelli* (Grylloidea). [Chromosoma](#), 1973, 42:

307–333

- 65 Dresser M E, Moses M J. Silver staining of synaptonemal complexes in surface spreads for light and electron microscopy. *Exp Cell Res*, 1979, 121: 416–419
- 66 Albini S M, Jones G H, Wallace B M N. A method for preparing two-dimensional surface-spreads of synaptonemal complexes from plant meiocytes for light and electron microscopy. *Exp Cell Res*, 1984, 152: 280–285
- 67 Shi Q H, Shi L M. A new micro-spreading technique for demonstrating synaptonemal complexes in mammalian spermatocytes (in Chinese). *Zool Res*, 1989, 10: 4 [史庆华, 施立明. 一种新的制备哺乳动物精母细胞联会复合体的微铺展技术. *动物学研究*, 1989, 10: 4]

The structure and function of mammalian synaptonemal complex and human infertility

JIANG HanWei^{1,2,3,4,5}, FAN SuiXing^{1,2,3,4,5} & Shi QingHua^{1,2,3,4,5}

1 Institute of Health and Medicine, Hefei Comprehensive National Science Center, Hefei 230027, China;

2 Division of Reproduction and Genetics, First Affiliated Hospital of USTC, Hefei 230027, China;

3 Hefei National Research Center for Physical Sciences at the Microscale, the CAS Key Laboratory of Innate Immunity and Chronic Disease, Hefei 230027, China;

4 School of Basic Medical Sciences, Division of Life Sciences and Medicine, University of Science and Technology of China, Hefei 230027, China;

5 Biomedical Sciences and Health Laboratory of Anhui Province, Hefei 230027, China

The assembly of synaptonemal complex between homologous chromosomes is a critical event in meiosis prophase I. As the structural foundation for meiotic chromosome behaviors, synaptonemal complex plays an essential role in supporting and regulating the initiation and repair of programmed DSBs to generate crossovers. Mutations that disrupt the assembly of synaptonemal complex would cause various meiotic defects and activate different meiotic checkpoints to result in spermatogenesis arrest and infertility. In this review, we will summarize the important discoveries related to synaptonemal complex during meiosis in mammals. We will elaborate the composition, structure, assembly and meiotic functions of synaptonemal complex; analyze the relationship between human infertility and mutations on synaptonemal complex components; as well as prospect the direction and hotspot for future research in this area.

meiosis, synaptonemal complex, mammal, human infertility

doi: [10.1360/SSV-2023-0182](https://doi.org/10.1360/SSV-2023-0182)