

Перевод на английский язык <https://vavilov.elpub.ru/jour>

Контроль мейотического кроссинговера в селекции растений

С.Р. Стрельникова , Р.А. Комахин

Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии, Москва, Россия

 recombination@iab.ac.ru


Аннотация. Мейотический кроссинговер является основным механизмом конструирования нового аллельного состава индивидуальных хромосом и необходим для равнозначного распределения гомологичных хромосом между гаметам. Сложившиеся в ходе эволюции параметры мейотического кроссинговера определены естественным отбором и не полностью соответствуют задачам селекционных исследований. В настоящем обзоре суммированы результаты экспериментальных работ, направленных на повышение частоты кроссоверов и перераспределение их позиций вдоль хромосом с помощью генетических манипуляций на разных этапах мейотической рекомбинации. Обсуждаются последствия инактивации и/или сверхэкспрессии генов *SPO11*, продукты которых генерируют мейотические двуцепочечные разрывы в ДНК, для перераспределения позиций кроссоверов в геноме различных организмов. Обобщены результаты исследований по влиянию инактивации или сверхэкспрессии генов RecA-подобных рекомбиназ на мейотический кроссинговер, в том числе у культурного томата (*Solanum lycopersicum* L.) и его межвидовых гибридов. Обсуждаются последствия инактивации ключевых генов системы мисмэтч-репарации. Их подавление позволило достоверно повысить частоту мейотической рекомбинации между гомеологами у межвидового гибрида дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* × *S. paradoxus* и между гомологами у растений арабидопсиса (*Arabidopsis thaliana* L.). Рассматриваются попытки экстраполировать эти результаты на другие виды растений, у которых отмечены сниженные репродуктивных свойств и микросателлитная нестабильность в геноме. Отдельно описаны наиболее значимые результаты по увеличению частоты мейотической рекомбинации при инактивации генов-репрессоров кроссинговера *FANCM*, *TOP3a*, *RECQ4*, *FIGL1* и при сверхэкспрессии гена-энхансера кроссинговера *HEI10*. В некоторых экспериментах удалось практически на порядок повысить частоту мейотической рекомбинации и частично перераспределить позиции кроссоверов вдоль хромосом при полном сохранении плодовитости у арабидопсиса. Сходные результаты были получены для некоторых сельскохозяйственных культур. Ключевые слова: мейоз; ДНК; репарация; рекомбинация; кроссинговер; селекция.

Для цитирования: Стрельникова С.Р., Комахин Р.А. Контроль мейотического кроссинговера в селекции растений. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2023;27(2):99-110. DOI 10.18699/VJGB-23-15

Control of meiotic crossing over in plant breeding

S.R. Strelnikova , R.A. Komakhin

All-Russia Research Institute of Agricultural Biotechnology, Moscow, Russia

 recombination@iab.ac.ru

Abstract. Meiotic crossing over is the main mechanism for constructing a new allelic composition of individual chromosomes and is necessary for the proper distribution of homologous chromosomes between gametes. The parameters of meiotic crossing over that have developed in the course of evolution are determined by natural selection and do not fully suit the tasks of selective breeding research. This review summarizes the results of experimental studies aimed at increasing the frequency of crossovers and redistributing their positions along chromosomes using genetic manipulations at different stages of meiotic recombination. The consequences of inactivation and/or overexpression of the *SPO11* genes, the products of which generate meiotic double-strand breaks in DNA, for the redistribution of crossover positions in the genome of various organisms are discussed. The results of studies concerning the effect of inactivation or overexpression of genes encoding RecA-like recombinases on meiotic crossing over, including those in cultivated tomato (*Solanum lycopersicum* L.) and its interspecific hybrids, are summarized. The consequences of inactivation of key genes of the mismatch repair system are discussed. Their suppression made it possible to significantly increase the frequency of meiotic recombination between homeologues in the interspecific hybrid yeast *Saccharomyces cerevisiae* × *S. paradoxus* and between homologues in arabidopsis plants (*Arabidopsis thaliana* L.). Also discussed are attempts to extrapolate these results to other plant species, in which a decrease in reproductive properties and microsatellite instability in the genome have been noted. The most significant results on the meiotic recombination frequency increase upon inactivation of the *FANCM*, *TOP3a*, *RECQ4*, *FIGL1* crossover repressor genes and upon overexpression of the *HEI10* crossover enhancer gene are separately described. In some experiments, the increase of meiotic recombination frequency by almost an order of magnitude and partial redistribution of the crossover positions along chromosomes were achieved in arabidopsis while fully preserving fecundity. Similar results have been obtained for some crops.

Key words: meiosis; DNA; reparation; recombination; crossing over; plant breeding.

For citation: Strelnikova S.R., Komakhin R.A. Control of meiotic crossing over in plant breeding. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii* = *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2023;27(2):99-110. DOI 10.18699/VJGB-23-15

Введение

Мейоз – клеточное деление, лежащее в основе полового размножения, позволяющее видам сохранять стабильный набор хромосом в ряду поколений вследствие равнозначной сегрегации гомологичных хромосом в профазе I мейоза. В то же время мейоз является источником генетической изменчивости, которая формируется благодаря рекомбинации целых хромосом, обмену участками между гомологичными хромосомами во время кроссинговера и конверсионным событиям между неспаренными нуклеотидными основаниями на участке репарации запрограммированных двуцепочечных разрывов (ДЦР) в ДНК (Mercier et al., 2015).

Традиционная схема селекции сортов и гибридов растений основана на использовании мейотического кроссинговера в качестве основного механизма создания хромосом с новыми комбинациями аллелей, которые передаются потомству (Жученко, Король, 1985). Незаменяемость мейотического кроссинговера для селекции очевидна при интрогрессии отдельных хозяйственно ценных генов из хромосом дикорастущих видов в хромосомы культурных растений (De Muyt et al., 2009). Получение контроля над распределением точек мейотического кроссинговера и частотой кроссоверных обменов позволит более эффективно конструировать новый аллельный состав хромосом (Wijnker, de Jong, 2008; Lambing et al., 2017; Blary, Jenczewski, 2019).

Актуальность исследования мейотического кроссинговера подчеркивается множеством научных работ, посвященных общим вопросам мейоза (Kleckner, 1996; Harrison et al., 2010; Osman et al., 2011; Crismani et al., 2013), мейотической рекомбинации (Mézard et al., 2007; De Muyt et al., 2009; Gray, Cohen, 2016; Blary, Jenczewski, 2019; Bogdanov, Grishaeva, 2020), метаболическим путям и механизмам кроссинговера (Mézard et al., 2007, 2015; De Muyt et al., 2009; Mercier et al., 2015; Gray, Cohen, 2016; Wang, Copenhagen, 2018; Bogdanov, Grishaeva, 2020), генетическому контролю мейотического деления (Mercier et al., 2015; Gray, Cohen, 2016; Simanovsky, Bogdanov, 2018), идентификации и функциональному анализу генов, участвующих в мейозе (Mercier et al., 2015), эпигенетическому контролю мейотической рекомбинации (Yelina et al., 2015; Taagen et al., 2020), влиянию пloidности на мейотическую рекомбинацию (De Muyt et al., 2009; Lambing et al., 2017). В отличие от ранее опубликованных обзорных статей, представленная работа посвящена практическим вопросам контроля частоты и распределения кроссоверных обменов между гомологичными хромосомами в мейозе у растений.

Роль мейотического кроссинговера в эволюции и селекции

Современные взгляды на молекулярные механизмы кроссинговера в мейозе подробно изложены в ряде обзоров научной литературы (Mercier et al., 2015; Mézard et al., 2015; Gray, Cohen, 2016; Wang, Copenhagen, 2018). Историческая ретроспектива развития теории мейотической рекомбинации хромосомной ДНК на основе репарации ДЦР и экспериментального открытия «стержевого» на-

бора белков: SPO11, RAD51, ZMM-комплекса и других, ответственных за мейотический кроссинговер у большинства эукариот, подробно представлена в недавнем обзоре Ю.Ф. Богданова и Т.М. Гришаевой (Bogdanov, Grishaeva, 2020). Поэтому в нашей статье позволим себе кратко отметить, что мейотический кроссинговер контролируется мейоз-специфичными генами, а именно генами мейотической рекомбинации (Youds, Boulton, 2011; Bogdanov, Grishaeva, 2020). Эти гены, как правило, супрессированы в соматических клетках, делящихся митозом. Переход диплоидных клеток от деления с помощью митоза к делению путем мейоза происходит в результате актов негативной регуляции, поскольку гены, инициирующие мейоз, исключают генетическую программу митоза, и тогда включается молчавшая ранее генетическая программа мейоза (Turner, 2007; Bogdanov, Grishaeva, 2020).

У цветковых растений мейотический кроссинговер осуществляется в специализированных клетках (микро- и мегаспороцитах) и состоит из последовательных процессов, включающих создание запрограммированных ДЦР в ДНК и их репарацию по механизму гомологичной рекомбинации с предпочтительным использованием в качестве матрицы гомологичной хромосомы. Продуктами кроссинговера являются кроссоверные хромосомы, которые несут новые комбинации аллельных вариантов генов (Mieulet et al., 2018).

Место кроссоверного обмена проявляет себя в виде наблюдаемого в микроскоп перекрещивания между хромосомами, называемого хиазмой. Помимо кроссоверного обмена, хиазмы выполняют также структурную или механическую функцию: они удерживают хромосомы в виде бивалентов на протяжении профазы и метафазы I мейоза, в результате именно биваленты, а не индивидуальные хромосомы, выстраиваются на экваторе веретена деления в метафазе I, что создает возможность для сегрегации гомологичных хромосом в первом делении мейоза и гаплоидизации клеток (Bogdanov, Grishaeva, 2020).

Известно, что многие клеточные белки, необходимые для репарации ДЦР в ДНК соматических клеток, также участвуют в мейотическом кроссинговере. Однако их функции могут изменяться в зависимости от локализации, посттрансляционных модификаций и/или взаимодействий со специфичными для мейоза белками (Villeneuve, Hillers, 2001). Это означает, что в какой-то момент эволюции кроссинговер отклонился от функции репарации только соматических повреждений и приобрел специфичную для мейоза функцию. Следовательно, мейотический кроссинговер является эволюционной адаптацией соматических репарационных функций для успешного полового размножения при переходе от диплоидной к гаплоидной фазе жизненного цикла. Предполагается, что эволюционно сложившиеся параметры мейотического кроссинговера отрегулированы естественным отбором для сохранения максимальной приспособленности организмов к изменяющимся условиям окружающей среды в ряду половых поколений (Жученко, Король, 1985; Wijnker, de Jong, 2008). С этой точки зрения параметры эволюционно сложившегося механизма мейотического кроссинговера могут ограничивать селекционный процесс, который требу-

ет создания максимального генетического разнообразия среди полового потомства, даже в ущерб приспособленности к естественным условиям обитания.

Частота кроссоверов и их распределение вдоль хромосом – определяющие факторы, способствующие возникновению новой и доступной отбору генетической изменчивости в мейозе (Жученко, Король, 1985; Wijnker, de Jong, 2008). Во многих исследованиях показано, что положение мейотических кроссоверов вдоль хромосом неслучайно, строго предопределено, неравномерно и не зависит от размера генома (Mercier et al., 2015; Mézard et al., 2015; Lambing et al., 2017; Wang, Copenhagen, 2018; Blary, Jenczewski, 2019).

Согласно распространенному мнению, существует три концептуальных уровня регуляции частоты и распределения кроссоверов: обязательный кроссоверный обмен в биваленте (страховка кроссинговера), интерференция кроссинговера и кроссоверный гомеостаз (Simanovsky, Bogdanov, 2018; Bogdanov, Grishaeva, 2020). Возможная причина обязательного кроссоверного обмена в каждом биваленте – механическая функция хиазм (Roeder, 1997). Интерференция обеспечивает неслучайное распределение кроссоверов вдоль хромосомы и их расположение на более далеком расстоянии одного от другого, чем это ожидается при случайном распределении, если кроссоверов более одного на бивалент (Jones, Franklin, 2006).

Кроссоверный гомеостаз – это способность мейотических клеток сохранять присущий данному биологическому виду уровень числа кроссоверов на хромосому, даже если число ДЦР снижается на порядок (Bogdanov, Grishaeva, 2020). В частности, у почкующихся дрожжей (*Saccharomyces cerevisiae* (Desm.) Meyen ex E.C. Hansen) удалось достичь пятикратного снижения числа ДЦР на клетку, но при этом число кроссоверов оставалось нормальным и неизменным (Martini et al., 2006). В последнем случае неясно, верно ли это правило для всех организмов. Например, у самцов домового мыши (*Mus musculus*) уменьшение числа ДЦР на 20–50 % не приводит к снижению числа кроссоверов и фертильности (Cole et al., 2012a). Однако уменьшение числа ДЦР на 60 % уже провоцирует асинопсис гомологов и стерильность самцов мыши (Kauppi et al., 2013).

Таким образом, в селекционной практике относительно низкая частота мейотических кроссоверов и их детерминированность вдоль хромосом приводят к необходимости анализа значительных по объему популяций для выявления редких рекомбинантных генотипов, сочетающих искомые хозяйственно ценные гены. Утверждается также, что участки хромосом, которые редко используются для кроссинговера, создают дополнительные проблемы селекционерам, поскольку вредные мутации накапливаются в регионах с низкой рекомбинацией (Rodgers-Melnick et al., 2015).

Стимулирование мейотического кроссинговера на этапе создания двуцепочечных разрывов ДНК

Многочисленные и генетически запрограммированные ДЦР в молекулах ДНК являются предшественниками взаимного генетического обмена между гомологичными хромосомами в профазе I мейоза. Во время профазы I

мейоза вдоль хромосом создаются сотни ДЦР, генерируемых эволюционно консервативной эндонуклеазой SPO11 и некоторыми ассоциированными белками (Keeney et al., 1997; Wang, Copenhagen, 2018).

Гены *SPO11* описаны у всех эукариот, геном которых изучен, а их белковые продукты обладают сходством с субъединицей А ДНК-топоизомеразы VI архей (Nichols et al., 1999; Hartung, Puchta, 2001; Wu et al., 2004). У дрожжей, насекомых и позвоночных ген *SPO11* представлен одной копией, в то время как в геноме растений имеются три копии *SPO11* (Hartung, Puchta, 2001; Stacey et al., 2006). У арабидопсиса (*Arabidopsis thaliana* L.) гены *SPO11-1* и *SPO11-2* обязательны для мейотической рекомбинации (Grelon et al., 2001; Stacey et al., 2006), в то время как *SPO11-3* вовлечен в соматическую эндорепликацию (Hartung et al., 2002). Ранее было показано, что для полноценного формирования мейотических ДЦР необходима также и субъединица В ДНК-топоизомеразы VI (Robert et al., 2016; Vrielynck et al., 2016). Она образует комплекс с двумя ортологами, SPO11-1 и SPO11-2, и абсолютно необходима для образования гетеродимера SPO11-1/SPO11-2 у арабидопсиса (Vrielynck et al., 2016).

Предполагается, что механизм формирования мейотических ДЦР с участием белков SPO11 является консервативным, но его регулирование может различаться за счет набора вспомогательных белков, которые менее консервативны в организмах из разных царств (De Muyt et al., 2009).

Распределение ДЦР можно рассматривать как первый вероятный уровень определения будущих сайтов формирования кроссинговера. В частности, у почкующихся дрожжей в каждой клетке образуется от 160 до 200 точек ДЦР, и репарация большинства из них приводит к кроссинговеру (Mercier et al., 2015). У других организмов количество точек ДЦР значительно превышает количество точек кроссинговера. Например, у арабидопсиса насчитывают от 150 до 300 точек ДЦР, продуцирующих около 10 кроссоверных обменов на геном (Kurzbaue et al., 2012; Choi et al., 2013), у кукурузы (*Zea mays* L.) почти 500 точек ДЦР приводят к образованию около 20 кроссоверных обменов (Anderson et al., 2003). Как следствие, место реализации кроссинговера выбирается из широкого спектра потенциальных участков формирования ДЦР в геноме.

Существует мнение, что «горячие точки» кроссинговера тесно ассоциированы с «горячими точками» для формирования ДЦР (Wang, Copenhagen, 2018). Высокоразрешающий анализ у почкующихся дрожжей показывает, что «горячие точки» кроссинговера и мейотические ДЦР концентрируются в прилегающих к промоторам регионах с низкой плотностью нуклеосом (Mancera et al., 2008). У человека (*Homo sapiens*) и домового мыши «горячие точки» кроссинговера возникают в определенных последовательностях ДНК, связанных белком PRDM9, в генных и межгенных областях, не связанных с сайтами инициации транскрипции (Baudat et al., 2010; Smagulova et al., 2011).

PRDM9 – это ДНК-связывающий белок, катализирующий метилирование гистона H3 (модификация H3K4), которое инициирует образование ДЦР вдали от сайтов начала транскрипции (Baudat et al., 2010; Smagulova et al., 2011). У растений гомолог PRDM9 отсутствует, но «горя-

чие точки» кроссинговера существуют. «Горячие точки» у арабидопсиса характеризуются тем, что кроссинговер в них происходит до 50 раз активнее, чем в среднем по геному (Choi et al., 2013; Yelina et al., 2015). При этом «горячие точки» кроссинговера могли быть ассоциированы с активной транскрипцией РНК-полимеразы II, низкой плотностью нуклеосом, низким уровнем метилирования ДНК, а также межгенными областями, промоторами, сайтами начала и остановки транскрипции, транспозонами или участками инсерций-делеций. Поиск мотивов ДНК, связанных с «горячими точками» кроссинговера у арабидопсиса, выявил значительное их обогащение последовательностями ЦТТ, ЦЦН и поли-А (Choi et al., 2013; Wijker et al., 2013).

Хромосомные участки, ассоциированные с повышенной частотой кроссинговера, также были обнаружены у кукурузы (Liu et al., 2009), пшеницы (*Triticum aestivum* L.) (Saintenac et al., 2009, 2011) и культурного томата (*Solanum lycopersicum* L.) (Demirci et al., 2017), что свидетельствует о сохранении общих механизмов у разных видов растений. У большинства организмов ДЦР могут встречаться по всей длине хромосом, однако удивительно, что 80 % точек кроссинговера сконцентрировано примерно в 25 % участков генома (Blary, Jenczewski, 2019). Например, 82 % кроссоверов сосредоточено на дистальных концах хромосомы 3В пшеницы, что составляет 19 % от ее общей длины (Dartigier et al., 2017). Поэтому, несмотря на значительный объем частной информации, в настоящее время не удается выявить общую закономерность, единый или ключевой фактор локализации всех ДЦР в геноме (Bogdanov, Grishaeva, 2020). Успехи практической селекции могут быть напрямую связаны с расширением спектра участков генома для реализации кроссинговера, в том числе за счет создания дополнительных ДЦР в областях, которые редко используются для инициации ДЦР, или за счет перераспределения участков ДЦР.

Известно, что у *spo11Δ*-мутантов почкующихся дрожжей, лишенных собственных функциональных аллелей *SPO11*, экспрессия химерного гена *GAL4BD-SPO11* инициировала дополнительные ДЦР в сайте связывания белка Gal4 (Peciña et al., 2002). Позже было показано, что химерные белки SPO11, слитые с различными ДНК-связывающими белковыми модулями (факторами транскрипции, нуклеазой Cas9 и др.), способны стимулировать кроссинговер в регионах генома дрожжей с низкой естественной рекомбинационной активностью (Sarno et al., 2017). В последнем случае авторы предлагают свою стратегию для повышения генетической изменчивости гамет в селекции растений.

Однако использовать в селекционных работах высшие организмы с нокаутом собственных генов *SPO11* затруднительно. У арабидопсиса мутации гена *SPO11-1* приводят к полной потере синапсиса гомологов в профазе I и их случайной сегрегации, формированию значительного уровня нефункциональных гамет, уменьшению на порядок мейотической рекомбинации (Grelon et al., 2001). У мыши генотип *Spo11^{-/-}* с полным отсутствием ДЦР демонстрирует асинансис хромосом и стерильность (Baudat et al., 2010). Экспрессия рекомбинантной изоформы собственного гена *Spo11β* мыши позволила доказать, что уровень белка

SPO11 имеет решающее значение для синапсиса хромосом и благополучного завершения мейоза (Kauppi et al., 2013). У мутантов *mei-W68^l (spo11)* мухи дрозофилы (*Drosophila melanogaster*) экспрессия собственного гена *SPO11* восстанавливает фенотип дикого типа (Shingu et al., 2012). Экспрессия генов *SPO11-1* и *SPO11-2* арабидопсиса или *SPO11A*, *SPO11B* и *SPO11D* риса (*Oryza sativa* L.) приводит к увеличению количества ДЦР у мутантов *mei-W68^l*, но этого оказывается недостаточно для нормального завершения мейоза (Shingu et al., 2012). Совокупность представленных результатов показывает, что у высших организмов в рамках предложенной стратегии, вероятно, только сверхэкспрессия рекомбинантных генов *SPO11* могла стать способом перераспределения обменов между гомологичными хромосомами.

Ранее для проверки этого предположения были созданы трансгенные растения культурного томата, экспрессирующие гены *SPO11* из почкующихся дрожжей или арабидопсиса под контролем сильного конститутивного вирусного промотора 35S CaMV (Komakhina et al., 2020). С помощью генетического анализа было показано, что сверхэкспрессия обоих рекомбинантных генов *SPO11* частично нарушает моногенное наследование маркерных аллелей локуса *Wv:wv* хромосомы 2 среди потомства томата. Нарушение сегрегации в локусе *Wv:wv* могло стать результатом генной конверсии вследствие предпочтительного формирования ДЦР в одном из аллелей, *Wv* или *wv*, у трансгенных растений. Сверхэкспрессия генов *SPO11* снижала на 17–18 % частоту мейотической рекомбинации на участке между генами *wv* и *d* хромосомы 2 томата в сравнении с нетрансгенным контролем. При этом была обнаружена отрицательная корреляция между уровнем экспрессии рекомбинантных генов *SPO11* и частотой рекомбинации на анализируемом участке *wv-d* хромосомы 2.

К сожалению, влияние экспрессии рекомбинантных генов *SPO11* на частоту мейотической рекомбинации в других участках генома томата осталось неизученным. В целом показано, что успешно реализованная ранее в дрожжах стратегия индукции мейотической рекомбинации с помощью дополнительной *SPO11*-активности может иметь ограничения в клетках растений (Komakhina et al., 2020) и насекомых (Shingu et al., 2012).

Позднее было высказано дискуссионное мнение, что «горячие точки» ДЦР необязательно становятся «горячими точками» кроссинговера. Это мнение аргументировано тем, что небольшое абсолютное число ДЦР в «холодных областях» парадоксальным образом может превращаться в относительно высокую частоту реализованного кроссинговера (Bogdanov, Grishaeva, 2020).

Стимулирование мейотического кроссинговера на этапе поиска гомологии при репарации двуцепочечных разрывов ДНК

В мейозе ДЦР, возникающие в результате активности эндонуклеазы *SPO11*, подвергаются процессингу до 3'-одноцепочечных ДНК-концов, которые затем кооперативно связывают RecA-подобные рекомбиназы RAD51 и DMC1 (Brown, Bishop, 2014; Mercier et al., 2015). В результате образуются нуклеопротеиновые филаменты, осуществляющие инвазию одноцепочечного конца (single end

invasion) в сестринскую хроматиду или гомологичную хромосому (Girard et al., 2015). Инвазирующие в двуцепочечную молекулу ДНК 3'-одноцепочечные ДНК-концы затем подвергаются удлинению с помощью ДНК-синтеза и лигирования, что приводит к формированию D-петли (displacement loop), из которой формируется двойная структура Холлидея (double Holliday junction) (Brown, Bishop, 2014; Wang, Copenhagen, 2018).

Во время мейоза репарация ДЦР может смещаться в сторону преимущественного использования гомологичной хромосомы в качестве матрицы – процесс, называемый межгомологическим смещением (Brown, Bishop, 2014). Этот процесс является предпосылкой для кроссинговера между гомологичными хромосомами и требует участия специфического мейотического механизма, который предотвращает использование сестринских хроматид для репарации (Brown, Bishop, 2014). В частности, у арабидопсиса мейоз-специфичный белок DMC1, предположительно, ответственен за повышенную вероятность репарации ДЦР с использованием гомологичной хромосомы (Kurzbaue et al., 2012).

У почкующихся дрожжей и арабидопсиса в мейозе каталитическая активность RAD51 необязательна для формирования межгомологичного кроссинговера и подтверждает предпочтительную роль в этом процессе белка DMC1 (Cloud et al., 2012; Da Ines et al., 2013). У арабидопсиса белок RAD51 работает как резервный путь для восстановления ДЦР во время мейоза при нарушении в работе DMC1 (Kurzbaue et al., 2012). В отсутствие DMC1 мейотические ДЦР восстанавливаются белком RAD51 с использованием сестринской хроматиды в качестве матрицы, что приводит к отсутствию синapsиса между гомологами и появлению унивалентов (Couteau et al., 1999). Наличие белка DMC1 подавляет активность RAD51 у арабидопсиса (Uanschou et al., 2013); то же наблюдается в мейозе и у почкующихся дрожжей, у которых белок DMC1 подавляет активность RAD51 (Lao et al., 2013). Однако при этом у мутантов *fig11* арабидопсиса, демонстрирующих повышенную частоту кроссоверных обменов, в клетках на стадиях лептотена/зиготена мейоза обнаружено двукратное увеличение числа очагов RAD51, в то время как число очагов мейоз-специфичного DMC1 не изменяется или несущественно возрастает (Girard et al., 2015; Fernandes et al., 2018a). Последние результаты не исключают, что роль рекомбиназы RAD51 в мейотическом кроссинговере может быть несколько шире, чем принято считать.

В настоящее время предполагается, что выбор в пользу кроссинговера или его отсутствия совершается в ходе процессинга ДЦР и до формирования двойной структуры Холлидея (Hunter, Kleckner, 2001; Bogdanov, Grishaeva, 2020). Молекулярный механизм, который делает этот выбор, продолжает обсуждаться, но факт раннего выбора считают установленным (Hunter, Kleckner, 2001; Bishop, Zickler, 2004; Youds, Boulton, 2011; Gray, Cohen, 2016; Bogdanov, Grishaeva, 2020).

Структурные и биохимические различия между белками RAD51 и DMC1 не очень большие (Sheridan et al., 2008). Однако было обнаружено значительное количество белковых факторов, необходимых для правильной загрузки

ки, стабилизации и/или активации этих эукариотических рекомбиназ (Mercier et al., 2015).

Бактериальная рекомбиназа RecA имеет от 40 до 60 % гомологии с эукариотическими рекомбиназами, но, в отличие от них, универсальна и способна выполнять разные и даже уникальные функции без участия белков-помощников и с большей эффективностью (Baumann, West, 1998; Lanzov, 2007). Показано, что экспрессия гена *recA* из кишечной палочки (*Escherichia coli*) в три раза повышает количество ДЦР, восстановленных по механизму гомологичной рекомбинации, и более чем в два раза увеличивает число сестринских хроматидных обменов в соматических клетках растений табака (*Nicotiana tabacum* L.) (Reiss et al., 1996, 2000). Это позволило предположить, что экспрессия гена *recA* в клетках растений в профазе I мейоза способна также изменить число и распределение кроссоверных обменов между гомологичными хромосомами (Komakhin et al., 2010). Позже было выявлено, что экспрессия гена *recA* из *E. coli* под контролем сильного и конститутивного промотора CaMV35S у культурного томата приводит к увеличению частоты мейотической рекомбинации между генами *wv* и *d* хромосомы 2 на 50 % в сравнении с нетрансгенным контролем (Komakhin et al., 2012).

Молекулярный механизм, позволивший повысить частоту мейотической рекомбинации у трансгенного томата, на момент опубликования этих результатов остался неясен. Впоследствии стало известно, что дрожжевая топоизомераза Top3 негативно действует на мейотический кроссинговер, благодаря тому что специфически разрушает D-петли, сформированные дрожжевыми белками Rad51/Rad54 (Fasching et al., 2015). Однако D-петли, сформированные бактериальным белком RecA, оказались резистентными к разрушению белком Top3. Установлено, что растения арабидопсиса, несущие мутантные аллели *top3a*, демонстрируют увеличение от 1.5 до 2.5 раза частоты мейотической рекомбинации (Séguéla-Arnaud et al., 2015). Вероятно, в трансгенных растениях томата, экспрессирующих ген *recA*, повышение частоты мейотической рекомбинации могло быть следствием формирования бактериальным белком RecA D-петель, которые не могли быть разрушены белком TOP3а томата, что приводило к увеличению частоты рекомбинации.

Попытка применения данного экспериментального подхода для увеличения кроссоверных обменов между хромосомами разных видов томатов показала неоднозначный результат (Komakhin et al., 2019). В частности, ни в одной из трех комбинаций скрещивания культурного томата, экспрессирующего ген *recA*, и дикорастущих видов томатов *S. cheesmaniae*, *S. pimpinellifolium* и *S. habrochaites* не обнаружено достоверного увеличения частоты рекомбинации между маркерными генами хромосомы 2. Предполагается, что фактором, ограничивающим рекомбинацию между хромосомами из разных видов, является система мисмэтч-репарации (mismatch repair), устраняющая ошибочно спаренные основания в ДНК на участке репарации ДЦР (Chambers et al., 1996; Emmanuel et al., 2006; Strelnikova et al., 2021). Это предположение основано на том, что у межвидовых гибридов томатов из-за повышенного уровня полиморфизма ДНК между хромосомами разных видов следуют ожидать более активное противодействие

мисмэтч-репарации мейотическому кроссинговеру, чем у межлинейных гибридов культурного томата.

Стимулирование мейотического кроссинговера на этапе коррекции неспаренных оснований на участке репарации двуцепочечных разрывов ДНК

В ходе мейотического кроссинговера между гомологичными хромосомами могут локально возникать участки гетеродуплексной ДНК, содержащие неспаренные основания. Система мисмэтч-репарации устраняет эти участки.

Система мисмэтч-репарации – это высококонсервативный путь поддержания целостности ДНК, который существует у всех организмов. Первый шаг этого пути у эукариот – распознавание неспаренных оснований – осуществляют гомологи прокариотических белков MutS, а именно белки MSH. У эукариот их описано восемь – от MSH1 до MSH8; MSH7 встречается только у растений (Culligan, Hays, 2000), а MSH8 – у типа Euglenozoa (Sachadyn, 2010). Белки MSH распознают неспаренные основания в качестве гетеродимеров. Гетеродимер, обозначенный как MutSa (MSH2-MSH6), восстанавливает неспаренные основания или 1–2 нуклеотидные петли (Acharya et al., 1996; Genschel et al., 1998). Гетеродимер MutSb (MSH2-MSH3) распознает более крупные петли, содержащие до 14 нуклеотидов (Modrich, 1991; Marti et al., 2002). У растений образуется дополнительный гетеродимерный комплекс, известный как MutSc (MSH2-MSH7) (Culligan, Hays, 2000), который играет роль в мейотической рекомбинации (Lloyd et al., 2007). В мейозе система мисмэтч-репарации способна разрушать гетеродуплексную ДНК и подавлять кроссинговер (Cole et al., 2012b).

Инактивация гена *MSH2* у межвидовых гибридов дрожжей *S. cerevisiae* × *S. paradoxus* увеличивает до 5.5 раза частоту рекомбинации между гомеологичными хромосомами и повышает жизнеспособность спор (Hunter et al., 1996). У растений арабидопсиса нокаут гена *MSH2* (мутация *msh2-1*) увеличивает микросателлитную нестабильность и соматическую рекомбинацию, что указывает на снижение эффективности системы мисмэтч-репарации в клетках растений (Leonard et al., 2003). В другом исследовании показано, что мутация *msh2-1* увеличивает частоту мейотической рекомбинации на 40 % между маркерными генами флуоресцентных белков на изогенном фоне арабидопсиса (экотип *Landsberg erecta*) (Emmanuel et al., 2006).

Эти результаты позволили применить стратегию подавления мисмэтч-репарации с помощью ингибирования экспрессии генов *MSH2* и *MSH7* для повышения частоты кроссоверных обменов у других видов растений. В частности, у культурного томата тремя независимыми научными группами в разное время было выполнено ингибирование экспрессии генов *MSH2* и *MSH7* с помощью РНК-интерференции (RNAi) (Tam et al., 2011; Sarma et al., 2018; Strelnikova et al., 2021) или путем применения доминантно-негативной конструкции с геном мутантного белка *MSH2-DN2* из арабидопсиса (Tam et al., 2011).

Использование доминантно-негативной конструкции или ингибирование транскрипта *MSH7* с помощью RNAi

позволило несущественно (на 17.8 %) повысить частоту мейотической рекомбинации между гомеологами у культурного томата, гетерозиготного по хромосоме 8 из *S. lycopersicoides* Dunal (Tam et al., 2011). Одновременно сайленсинг транскрипта гена *MSH2* с помощью RNAi имел выраженные негативные последствия для фертильности растений томата (Sarma et al., 2018; Strelnikova et al., 2021), особенно при использовании сильного растительного промотора pro-SmAMP2 для контроля экспрессии RNAi-конструкции (Strelnikova et al., 2021). В последних экспериментах было убедительно показано, что высокоэффективная RNAi гена *MSH2* приводит к фенотипическим аномалиям у растений культурного томата: к задержке роста и цветения и формированию редуцированного количества семян (Sarma et al., 2018; Strelnikova et al., 2021). В тех случаях, когда RNAi гена *MSH2* имела умеренный характер, растения томата оказывались фертильными, но никакого увеличения частоты мейотической рекомбинации не обнаружено (Tam et al., 2011; Strelnikova et al., 2021).

Результаты демонстрируют, что у растений томата, в отличие от растений арабидопсиса, подавление гена *MSH2* с помощью RNAi для увеличения частоты мейотической рекомбинации имеет существенные ограничения. Вероятно, существует определенный уровень экспрессии гена *MSH2*, который является критическим для жизнеспособности растений томата. Возможно, это связано с тем, что, в отличие от растений арабидопсиса, у томата ген *MSH2* выполняет дополнительную клеточную функцию, необходимую для фертильности растений. Это может быть причиной того, что спонтанные или индуцированные мутанты *msh2* до сих пор не были описаны среди различных видов томатов.

Следует отметить, что репрессия мисмэтч-репарации имеет негативное влияние на стабильность генома и репродуктивные свойства многих других видов растений, кроме томата. Обнаружено, что нокаут-мутация гена *MSH2* у растений арабидопсиса через несколько поколений привела к интенсивному накоплению разнообразных мутаций в геноме, частичной потере фертильности и снижению количества семян (Leonard et al., 2003; Hoffman et al., 2004). Еще в одной работе было показано, что мутация в гене *MLH1*, который также является частью системы мисмэтч-репарации, вызывает появление репродуктивных дефектов у растений арабидопсиса (Dion et al., 2007).

Ингибирование экспрессии гена *MSH2* с помощью двух разных стратегий приводит к многочисленным фенотипическим аномалиям и микросателлитной нестабильности у соматических гибридов картофеля (Rakosy-Tican et al., 2019). RNAi гена *MSH7* у трансгенных растений ячменя (*Hordeum vulgare* L.) вызывает уменьшение количества семян и жизнеспособности пыльцы (Lloyd et al., 2007). У растений пшеницы мутация *msh7-3D* также снижает жизнеспособность пыльцы, но не влияет на фертильность растений (Serra et al., 2018). В целом эти результаты подтверждают, что стратегия стимулирования мейотической рекомбинации с помощью подавления мисмэтч-репарации у разных видов растений может приводить к нарушению репродуктивных функций.

Стимулирование мейотической рекомбинации на этапе разрешения D-петель

Как уже было упомянуто в разделе «Стимулирование мейотического кроссинговера на этапе создания двуцепочечных разрывов ДНК», у большинства эукариот количество ДЦР значительно превосходит количество кроссоверов. Это предполагает, что существуют негативные действующие метаболические механизмы, препятствующие разрешению части ДЦР по кроссоверному пути.

Выбор механизма репарации ДЦР в пользу кроссоверного или некроссоверного пути происходит на ранних этапах репарации ДЦР, когда одонитевой ДНК-белковый филамент инвазирует в гомологичную молекулу ДНК и вызывает образование в ней D-петли (Hunter, Kleckner, 2001; Bishop, Zickler, 2004; Bogdanov, Grishaeva, 2020). D-петли, возникающие на этапе поиска гомологии при помощи рекомбиназ RAD51 и DMC1, могут быть преобразованы различными метаболическими путями, приводящими либо к кроссоверам между гомологичными хромосомами, либо к нерцепрокному обмену (отсутствие кроссинговера) между ними.

В настоящее время наиболее полно описаны два пути реализации кроссинговера, которые ведут к появлению кроссоверов класса I или класса II (Gray, Cohen, 2016). Кроссоверы класса I – продукты активности группы белков, которые в совокупности называют ZMM (Zip1, Zip2, Zip3, Zip4, Msh4 и Msh5, Mer3), стабилизируют промежуточные D-петли, способствуя образованию двойной структуры Холлидея (Hunter, 2015). Белки MLH1 и MLH3 в сочетании с EXO1 способствуют преобразованию структуры Холлидея в кроссоверы класса I (Ranjha et al., 2014).

Кроссоверы класса I распределены вдоль хромосом случайным образом, поскольку они снижают вероятность образования смежного кроссовера в непосредственной близости (Wang et al., 2015). Это явление обычно называют интерференцией. Кроме этого, D-петли (в качестве интермедиата рекомбинации) могут быть преобразованы структурно-специфическими эндонуклеазами, включая фермент MUS81, продуцирующими кроссоверы класса II, которые не подвергаются интерференции (Berchowitz et al., 2007; Wang, Copenhagen, 2018; Bogdanov, Grishaeva, 2020). Известны двойные мутанты арабидопсиса по генам *msh4* и *mus81*, контролирующим соответственно пути I и II кроссинговера, которые, несмотря на это, демонстрируют остаточные 5–10 % кроссоверов (Higgins et al., 2008). Однако механизм, генерирующий эти остаточные кроссоверы, неясен, возможно, он активен только тогда, когда основные пути кроссинговера I и II нарушены (Osman et al., 2011; Mercier et al., 2015; Lambing et al., 2017).

Существуют организмы, у которых представлен только один из двух мажорных путей формирования кроссоверов. В частности, у делящихся дрожжей (*Schizosaccharomyces pombe* Lindner) и у плесневого грибка (*Aspergillus nidulans* P. Michel ex Haller) представлен только путь II, не подверженный интерференции. Напротив, у почвенной нематоды (*Caenorhabditis elegans* Dougherty) известен только интерферирующий путь I. У растений обнаружены оба пути кроссинговера, но в разном соотношении. Например, у арабидопсиса и томата кроссоверы класса I составляют от 70 до 90 %, а остальные – класса II

(Lhuissier et al., 2007; Higgins et al., 2008; Macaisne et al., 2011; Anderson et al., 2014).

В последнее время у арабидопсиса с помощью молекулярно-генетических исследований обнаружили белковые факторы, действующие против преобразования ДЦР в кроссоверы класса II: ДНК-геликаза FANCM (Fanconi anemia complementation group M) (Crismani et al., 2012; Girard et al., 2014), FIGL1 (AAA-АТФаза FIDGETIN-LIKE1) (Fasching et al., 2015; Girard et al., 2015), комплекс BTR из ДНК-геликаз RECQ4A и RECQ4B и топоизомеразы TOP3α (Séguéla-Arnaud et al., 2015).

Ранее в геноме арабидопсиса был обнаружен ген *Atlg35530*, мутация в котором позволяет супрессировать мутации *zip4(s)1* и *msh5*, ассоциированные с нарушениями мейотического деления (Crismani et al., 2012). Оказалось, что ген *Atlg35530* кодирует ДНК-геликазу, гомологичную геликазе человека FANCM. У дрожжей ортологи FANCM и их кофакторы образуют консервативный комплекс, который играет роль в формировании некроссоверных продуктов во время мейоза посредством разрушения D-петель (Gari et al., 2008). Растения арабидопсиса с мутантным геном *fancm* демонстрируют увеличение частоты мейотической рекомбинации от 2 до 3.6 раза во всех восьми изученных участках генома и неотличимы от растений дикого типа по росту и плодовитости (Crismani et al., 2012). Дополнительные кроссоверы не зависят от ZMM-белков и возникают по пути MUS81, характерного для класса II (Crismani et al., 2012; Girard et al., 2014).

Таким образом, впервые продемонстрировано, что FANCM в растениях является сильным негативным регулятором кроссинговера. Однако, как показала последующие исследования, мутация *fancm* оказалась эффективна только в инбредных линиях арабидопсиса экотипов Columbia-0 или Landsberg erecta; у гибридов комбинации Columbia-0 × Landsberg erecta мутация *fancm* не повышает частоту мейотической рекомбинации (Girard et al., 2015). Кроме этого, мутация *fancm* эффективно восстанавливает образование бивалентов у мутантов *zmm* в инбредных линиях Columbia-0, Landsberg erecta или Wassilewskija, но не у гибридов Columbia-0 × Landsberg erecta и Columbia-0 × Wassilewskija.

Позднее у растений арабидопсиса была идентифицирована консервативная AAA-АТФаза FIDGETIN-LIKE1 (FIGL1), которая также выступала в качестве негативно-го регулятора формирования кроссоверов (Girard et al., 2015). Известно, что FIGL1 принадлежит к подсемейству FIDGETIN и участвует в репарации ДНК (Yuan, Chen, 2013). У арабидопсиса FIGL1, как и FANCM (Crismani et al., 2012), ограничивает образование кроссоверов в масштабах всего генома (Girard et al., 2015). В частности, у одиночного мутанта *figl1-1* арабидопсиса частота мейотической рекомбинации возрастала в каждом из шести тестируемых участков в среднем на 72 % (в одиночных мутантах *fancm-1* – в среднем в три раза (Crismani et al., 2012)), при этом заметное увеличение частоты рекомбинации было отмечено в дистальных районах хромосом. Шестикратное возрастание частоты мейотической рекомбинации обнаружено у двойных мутантов *figl1-1 fancm-1* арабидопсиса в сравнении с растениями дикого типа в шести тестированных участках генома при сохранении

прогрессии мейотического деления и плодовитости (Girard et al., 2015).

Последние результаты показывают, что эффект от мутаций *figl1-1* и *fancm-1* демонстрирует синергизм, следовательно, они затрагивают разные метаболические пути для ограничения кроссинговера. Установлено также, что две мутации, *figl1* и *fancm*, у гибридов Columbia-0 × Landsberg erecta приводят к увеличению частоты мейотической рекомбинации в 2.5 раза в четырех протестированных участках по сравнению с гибридами дикого типа. Это было выше, чем у каждого из мутантов, *figl1* или *fancm*, в отдельности (1.8 и 1.2 раза соответственно), и подтверждает, что *figl1* и *fancm* имеют мультипликативный эффект также в гибридном генетическом окружении.

Предполагается, что у арабидопсиса белок FIGL1 негативно влияет на динамику двух консервативных рекомбиназ, DMC1 и RAD51, противодействуя инвазии одноцепочечных ДНК-концов в гомологичную хромосому, и таким образом препятствует взаимодействию между гомологичными хромосомами (Girard et al., 2015). Имеющиеся данные позволяют сделать вывод, что FIGL1 и FANCM представляют собой два последовательных барьера против кроссинговера, первый из которых ограничивает инвазию цепей ДНК в гомологичную хромосому, а второй за счет геликазной активности расплетает промежуточные структуры ДНК, возникающие при формировании D-петли (Girard et al., 2015). Эта модель поддерживается прямым доказательством физического взаимодействия белка FIGL1 через его домен FRBD с белками RAD51 и DMC1 и увеличением очагов DMC1 у мутантов *figl1* арабидопсиса (Fernandes et al., 2018a).

Комплексы BTR (BLOOM-TOP3-RMI1-RMI2) у человека и Sgs1-Top3-Rmi1 – у почкующихся дрожжей высоко консервативны и играют основную роль в формировании некросоверных продуктов путем разрешения двойной структуры Холлидея или за счет разрушения D-петель (Fasching et al., 2015). В частности, во время реакции две структуры Холлидея мигрируют навстречу друг другу с помощью геликазы BLOOM/Sgs1. Генерируемая таким образом структура затем удаляется с помощью топоизомеразы TOP3α/Top3 и ее кофакторов (Berchowitz et al., 2007; Higgins et al., 2008; Macaisne et al., 2011). Этот же комплекс белков способствует раскручиванию D-петель, в результате которого образуются исключительно некросоверные продукты (Crismani et al., 2012; Girard et al., 2014; Mercier et al., 2015).

У арабидопсиса в геноме представлено три члена комплекса BTR: *TOP3α* и *RMI1* в виде единичных генов, и гомолог *Sgs1* – в виде двух паралогичных генов, *RECQ4A* и *RECQ4B* (Séguéla-Arnaud et al., 2015, 2017). В последнем исследовании выявлено, что растения арабидопсиса, несущие разные мутантные аллели *top3α*, демонстрируют увеличение частоты мейотической рекомбинации от 1.5 до 2.5 раза. Двойные мутанты *recq4a recq4b* арабидопсиса показывают увеличение частоты мейотической рекомбинации в 6.2 раза в сравнении с растениями дикого типа (Séguéla-Arnaud et al., 2015). Причем увеличение частоты происходило за счет возникновения не подверженных интерференции кроссоверов класса II. Эффекты от мутаций *top3α* и *recq4a recq4b* у арабидопсиса усиливались на фоне

мутации *fancm*. Так, по сравнению с растениями дикого типа, частота мейотической рекомбинации увеличивается в среднем в 4.8 раза у двойного мутанта *top3α fancm* и в 9 раз – у тройного мутанта *recq4a recq4b fancm*. Эти результаты позволили авторам заявить о существовании как минимум двух независимых путей для негативной регуляции кроссинговера у арабидопсиса. С точки зрения селекционных исследований было важно, что, несмотря на существенное увеличение рекомбинации, мутанты *top3α fancm* и *recq4a recq4b fancm* нормально росли, были полностью фертильными и не демонстрировали дефектов мейотического деления (Séguéla-Arnaud et al., 2015, 2017).

J.B. Fernandes с коллегами (2018a) показали, что при объединении в одном растении арабидопсиса мутации *recq4* и мутации *figl1* частота кроссинговера увеличивается в 7.8 раза и генетическая карта удлиняется с 389 до 3037 сМ. Обнаружено также, что увеличение числа событий кроссинговера происходит неравномерно вдоль хромосом и возрастает от центромеры к теломере. Наконец, женская рекомбинация оказалась выше мужской в двойном мутанте *recq4 figl1* (3200 против 2720 сМ), хотя в растениях дикого типа рекомбинация в мужском мейозе намного выше, чем в женском (490 против 290 сМ). Результаты свидетельствуют о том, что факторы, делающие женский мейоз менее рекомбиногенным, чем мужской мейоз, не действуют в контексте этого двойного мутанта.

Практически одновременно с исследованиями роли FANCM у растений арабидопсиса была предпринята попытка повысить частоту мейотической рекомбинации у его близких родственников сельскохозяйственного назначения: диплоидных растений репы (*Brassica rapa* L.) и тетраплоидных растений рапса (*B. napus* L.) (Blary et al., 2018). В этой работе обнаружено, что миссенс-мутация *braA.fancm-1* в гене *BraA.FANCM* репы способна частично комплентировать мутацию *braA.msh4-1* в мейоз-специфичном гене *BraA.MSH4* репы, которая в свою очередь уменьшает число бивалентов в метафазе и приводит к появлению унивалентов.

Двойные мутанты репы *braA.fancm-1 braA.msh4-1* показывают 3-кратное увеличение числа кроссоверов, равное увеличению, выявленному ранее у арабидопсиса (Crismani et al., 2012). У мутантов растений рапса, несущих нонсенс-мутацию *bnA.fancm-1* в геноме А и миссенс-мутации *bnAC.fancm-1* или *bnAC.fancm-2* в геноме С, наблюдалось небольшое увеличение (в 1.3 раза) частоты мейотической рекомбинации. Авторы связывают этот результат с остаточной активностью мутантных вариантов FANCM из генома С у тетраплоидных растений рапса (геном ААСС) (Blary et al., 2018).

Влияние факторов FANCM, RECQ4 и FIGL1 на частоту мейотической рекомбинации исследовано также у важных сельскохозяйственных культур: риса, гороха (*Pisum sativum* L.) и культурного томата (Mieulet et al., 2018). Мутации генов-ортологов *recq4* увеличивают частоту мейотической рекомбинации от 2.7 до 3.7 раза у всех изученных видов растений. Мутации генов-ортологов *fancm* слабо увеличивают частоту мейотической рекомбинации – от 1.6 до 2.3 раза у гороха и риса, но не у томата, у которого не обнаружено изменений. Показано, что у

салата (*Lactuca sativa* L.) нокаут ортолога гена *FANCM* с помощью CRISPR/Cas9-геномного редактирования приводит к снижению жизнеспособности пыльцы и уменьшению количества семян (Li et al., 2021). У мутантов *fancm* салата в 78 % мейоцитов в метафазе I выявляются униваленты. Эти результаты демонстрируют, что *FANCM* в растениях салата, в отличие от растений арабидопсиса, вероятно, имеет дополнительную функцию в мейозе. Примечательно, что гомозиготный нокаут ортологов *figl1* у растений томата, гороха и риса вызывает стерильность (Zhang et al., 2017; Mieulet et al., 2018).

Таким образом, мутация *recq4* увеличивает частоту кроссинговера примерно в 3 раза во всех изученных сельскохозяйственных культурах (рис, горох и томат), поэтому манипулирование геном *RECQ4* может быть универсальным инструментом для увеличения мейотической рекомбинации у растений. Однако представленные результаты также свидетельствуют о том, что мейотические эффекты, обнаруженные у модельного объекта, не всегда воспроизводятся у сельскохозяйственных культур.

Показано, что на частоту интерферирующих кроссоверов класса I у арабидопсиса можно повлиять при помощи сверхэкспрессии гена *HEI10* (аналог *Human Enhancer of Invasion 10*), кодирующего мейоз-специфичную E3 лигазу, ассоциированную с количественной вариацией частоты кроссинговера между экотипами арабидопсиса (Ziolkowski et al., 2017). В частности, частота мейотической рекомбинации у трансгенных растений арабидопсиса обоих экотипов, Columbia-0 и Landsberg erecta, или их гибрида Columbia-0 × Landsberg erecta достоверно увеличивается и показывает положительную корреляцию с уровнем экспрессии трансгена *HEI10*. Популяция трансгенных растений на основе экотипа Columbia-0 со сверхэкспрессией гена *HEI10* содержала более чем в 2 раза больше кроссоверов, что было выявлено при использовании маркера для кроссоверов класса I – белка MLH1. Одновременное увеличение числа копий гена *HEI10* и нокаут генов *RECQ4A* и *RECQ4B* у арабидопсиса приводят к 5-кратному повышению мейотической рекомбинации в плечах хромосом и к 1.5-кратному – в прицентромерном гетерохроматине (Serra et al., 2018). Таким образом, комбинирование сверхэкспрессии гена *HEI10* при подавлении экспрессии генов *RECQ4A* и *RECQ4B* впервые позволило одновременно увеличить количество кроссоверов классов I и II.

Заключение

За последние два десятилетия выполнены многочисленные исследования, позволившие обнаружить ключевые элементы контроля мейотического кроссинговера, которые могут быть использованы для повышения частоты кроссоверных обменов и перераспределения их позиций по длине хромосом. Наиболее перспективными оказались эксперименты по сверхэкспрессии гена-энхансера кроссинговера *HEI10* и инактивации генов-репрессоров кроссинговера *FANCM*, *RECQ4* и *FIGL1* у растений арабидопсиса. Комбинирование этих экспериментальных подходов позволило существенно повысить частоту и распределение кроссоверов классов I и II. Результаты, полученные на арабидопсисе, открыли возможность манипуляции процессом мейотической рекомбинации на

сельскохозяйственных видах растений. Однако результаты, полученные на модельном объекте, не всегда воспроизводятся на сельскохозяйственных культурах. Очевидно, что необходимы дополнительные усилия для раскрытия особенностей функционирования ортологов этих генов в различных растительных геномах.

Список литературы / References

- Жученко А.А., Король А.Б. Рекомбинация в эволюции и селекции. М.: Наука, 1985.
[Zhuchenko A.A., Korol A.B. Recombination in Evolution and Breeding. Moscow: Nauka Publ., 1985. (in Russian)]
- Acharya S., Wilson T., Gradia S., Kane M.F., Guerrette S., Marsischky G.T., Kolodner R., Fishel R. hMSH2 forms specific mismatch-binding complexes with hMSH3 and hMSH6. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1996;93(24):13629-13634. DOI 10.1073/pnas.93.24.13629.
- Anderson L.K., Doyle G.G., Brigham B., Carter J., Hooker K.D., Lai A., Rice M., Stack S.M. High-resolution crossover maps for each bivalent of *Zea mays* using recombination nodules. *Genetics*. 2003;165(2): 849-865. DOI 10.1093/genetics/165.2.849.
- Anderson L.K., Lohmiller L.D., Tang X., Hammond D.B., Javernick L., Shearer L., Basu-Roy S., Martin O.C., Falque M. Combined fluorescent and electron microscopic imaging unveils the specific properties of two classes of meiotic crossovers. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2014;111(37):13415-13420. DOI 10.1073/pnas.1406846111.
- Baudat F., Buard J., Grey C., Fedel-Alon A., Ober C., Przeworski M., Coop G., de Massy B. PRDM9 is a major determinant of meiotic recombination hotspots in humans and mice. *Science*. 2010; 327(5967):836-840. DOI 10.1126/science.1183439.
- Baumann P., West S.C. Role of the human RAD51 protein in homologous recombination and double-stranded-break repair. *Trends Biochem. Sci.* 1998;23(7):247-251. DOI 10.1016/S0968-0004(98)01232-8.
- Berchowitz L.E., Francis K.E., Bey A.L., Copenhaver G.P. The role of *AtMUS81* in interference-insensitive crossovers in *A. thaliana*. *PLoS Genet*. 2007;3(8):e132. DOI 10.1371/journal.pgen.0030132.
- Bishop D.K., Zickler D. Early decision: meiotic crossover interference prior to stable strand exchange and synapsis. *Cell*. 2004;117(1): 9-15. DOI 10.1016/S0092-8674(04)00297-1.
- Blary A., Gonzalo A., Eber F., Bérard A., Bergès H., Bessoltane N., Charif D., Charpentier C., Cromer L., Fourment J., Genevriez C., Le Paslier M.-C., Lodé M., Lucas M.-O., Nesi N., Lloyd A., Chèvre A.-M., Jenczewski E. *FANCM* limits meiotic crossovers in *Brassica* crops. *Front. Plant Sci.* 2018;9:368. DOI 10.3389/fpls.2018.00368.
- Blary A., Jenczewski E. Manipulation of crossover frequency and distribution for plant breeding. *Theor. Appl. Genet.* 2019;132(3):575-592. DOI 10.1007/s00122-018-3240-1.
- Bogdanov Y.F., Grishaeva T.M. Meiotic recombination. The metabolic pathways from DNA double-strand breaks to crossing over and chiasmata. *Russ. J. Genet.* 2020;56(2):159-176. DOI 10.1134/S1022795420020039.
- Brown M.S., Bishop D.K. DNA strand exchange and RecA homologs in meiosis. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 2014;7(1):a016659. DOI 10.1101/cshperspect.a016659.
- Chambers S.R., Hunter N., Louis E.J., Borts R.H. The mismatch repair system reduces meiotic homeologous recombination and stimulates recombination-dependent chromosome loss. *Mol. Cell. Biol.* 1996; 16(11):6110-6120. DOI 10.1128/MCB.16.11.6110.
- Choi K., Zhao X., Kelly K.A., Venn O., Higgins J.D., Yelina N.E., Hardcastle T.J., Ziolkowski P.A., Copenhaver G.P., Franklin F.C.H., McVean G., Henderson I.R. *Arabidopsis* meiotic crossover hot spots overlap with H2A.Z nucleosomes at gene promoters. *Nat. Genet.* 2013;45(11):1327-1336. DOI 10.1038/ng.2766.
- Cloud V., Chan Y.-L., Grubb J., Budke B., Bishop D.K. Rad51 is an accessory factor for Dmcl-mediated joint molecule formation

- during meiosis. *Science*. 2012;337(6099):1222-1225. DOI 10.1126/science.1219379.
- Cole F., Kauppi L., Lange J., Roig I., Wang R., Keeney S., Jasin M. Homeostatic control of recombination is implemented progressively in mouse meiosis. *Nat. Cell Biol.* 2012a;14(4):424-430. DOI 10.1038/ncb2451.
- Cole F., Keeney S., Jasin M. Preaching about the converted: how meiotic gene conversion influences genomic diversity. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 2012b;1267(1):95-102. DOI 10.1111/j.1749-6632.2012.06595.x.
- Couteau F., Belzile F., Horlow C., Grandjean O., Vezon D., Douriaux M.-P. Random chromosome segregation without meiotic arrest in both male and female meiocytes of a *dmc1* mutant of *Arabidopsis*. *Plant Cell*. 1999;11(9):1623-1634. DOI 10.1105/tpc.11.9.1623.
- 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 10.1126/science.1220381.
- Crismani W., Girard C., Mercier R. Tinkering with meiosis. *J. Exp. Bot.* 2013;64(1):55-65. DOI 10.1093/jxb/ers314.
- Culligan K.M., Hays J.B. Arabidopsis MutS homologs – atMSH2, atMSH3, atMSH6, and a novel atMSH7 – form three distinct protein heterodimers with different specificities for mismatched DNA. *Plant Cell*. 2000;12(6):991-1002. DOI 10.1105/tpc.12.6.991.
- Da Ines O., Degroote F., Goubely C., Amiard S., Gallego M.E., White C.I. Meiotic recombination in *Arabidopsis* is catalysed by DMC1, with RAD51 playing a supporting role. *PLoS Genet.* 2013; 9(9):e1003787. DOI 10.1371/journal.pgen.1003787.
- Darrier B., Rimbart H., Balfourier F., Pingault L., Josselin A.-A., Servin B., Navarro J., Choulet F., Paux E., Sourdille P. High-resolution mapping of crossover events in the hexaploid wheat genome suggests a universal recombination mechanism. *Genetics*. 2017;206(3):1373-1388. DOI 10.1534/genetics.116.196014.
- De Muyt A., Pereira L., Vezon D., Chelysheva L., Gendrot G., Chambon A., Lainé-Choinard S., Pelletier G., Mercier R., Nogué F., Grelon M. A high throughput genetic screen identifies new early meiotic recombination functions in *Arabidopsis thaliana*. *PLoS Genet.* 2009;5(9):e1000654. DOI 10.1371/journal.pgen.1000654.
- Demirci S., van Dijk A.D.J., Sanchez Perez G., Aflitos S.A., de Ridder D., Peters S.A. Distribution, position and genomic characteristics of crossovers in tomato recombinant inbred lines derived from an interspecific cross between *Solanum lycopersicum* and *Solanum pimpinellifolium*. *Plant J.* 2017;89(3):554-564. DOI 10.1111/tjp.13406.
- Dion É., Li L., Jean M., Belzile F. An *Arabidopsis MLH1* mutant exhibits reproductive defects and reveals a dual role for this gene in mitotic recombination. *Plant J.* 2007;51(3):431-440. DOI 10.1111/j.1365-313X.2007.03145.x.
- Emmanuel E., Yehuda E., Melamed-Bessudo C., Avivi-Ragolsky N., Levy A.A. The role of *AtMSH2* in homologous recombination in *Arabidopsis thaliana*. *EMBO Rep.* 2006;7(1):100-105. DOI 10.1038/sj.embor.7400577.
- Fasching C.L., Cejka P., Kowalczykowski S.C., Heyer W.-D. Top3-Rmi1 dissolve Rad51-mediated D loops by a topoisomerase-based mechanism. *Mol. Cell.* 2015;57(4):595-606. DOI 10.1016/j.molcel.2015.01.022.
- Fernandes J.B., Duhamel M., Seguéla-Arnaud M., Froger N., Girard C., Choinard S., Solier V., Winne N.D., Jaeger G.D., 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.* 2018a;14(4):e1007317. DOI 10.1371/journal.pgen.1007317.
- Fernandes J.B., Séguéla-Arnaud M., Larchevêque C., Lloyd A.H., Mercier R. Unleashing meiotic crossovers in hybrid plants. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2018b;115(10):2431-2436. DOI 10.1073/pnas.1713078114.
- Gari K., Décaillot C., Stasiak A.Z., 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 10.1016/j.molcel.2007.11.032.
- Genschel J., Littman S.J., Drummond J.T., Modrich P. Isolation of MutS β from human cells and comparison of the mismatch repair specificities of MutS β and MutSa. *J. Biol. Chem.* 1998;273(31):19895-19901. DOI 10.1074/jbc.273.31.19895.
- Girard C., Chelysheva L., Choinard S., Froger N., Macaisne N., Lemhemdi A., Mazel J., Crismani W., Mercier R. AAA-ATPase FID-GETIN-LIKE 1 and helicase FANCM antagonize meiotic crossovers by distinct mechanisms. *PLoS Genet.* 2015;11(7):e1005369. DOI 10.1371/journal.pgen.1005369.
- 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 10.1093/nar/gku614.
- Gray S., Cohen P.E. Control of meiotic crossovers: from double-strand break formation to designation. *Annu. Rev. Genet.* 2016;50(1):175-210. DOI 10.1146/annurev-genet-120215-035111.
- Grelon M., Vezon D., Gendrot G., Pelletier G. *AtSPO11-1* is necessary for efficient meiotic recombination in plants. *EMBO J.* 2001; 20(3):589-600. DOI 10.1093/emboj/20.3.589.
- Harrison C.J., Alvey E., Henderson I.R. Meiosis in flowering plants and other green organisms. *J. Exp. Bot.* 2010;61(11):2863-2875. DOI 10.1093/jxb/erq191.
- Hartung F., Angelis K.J., Meister A., Schubert I., Melzer M., Puchta H. An archaeobacterial topoisomerase homolog not present in other eukaryotes is indispensable for cell proliferation of plants. *Curr. Biol.* 2002;12(20):1787-1791. DOI 10.1016/S0960-9822(02)01218-6.
- Hartung F., Puchta H. Molecular characterization of homologues of both subunits A (SPO11) and B of the archaeobacterial topoisomerase 6 in plants. *Gene*. 2001;271(1):81-86. DOI 10.1016/S0378-1119(01)00496-6.
- Higgins J.D., Buckling E.F., Franklin F.C.H., Jones G.H. 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 10.1111/j.1365-313X.2008.03403.x.
- Hoffman P.D., Leonard J.M., Lindberg G.E., Bollmann S.R., Hays J.B. Rapid accumulation of mutations during seed-to-seed propagation of mismatch-repair-defective *Arabidopsis*. *Genes Dev.* 2004;18(21):2676-2685. DOI 10.1101/gad.1217204.
- Hunter N. Meiotic recombination: the essence of heredity. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 2015;7(12):a016618. DOI 10.1101/cshperspect.a016618.
- Hunter N., Chambers S.R., Louis E.J., Borts R.H. The mismatch repair system contributes to meiotic sterility in an interspecific yeast hybrid. *EMBO J.* 1996;15(7):1726-1733. DOI 10.1002/j.1460-2075.1996.tb00518.x.
- Hunter N., Kleckner N. The single-end invasion: an asymmetric intermediate at the double-strand break to double-holliday junction transition of meiotic recombination. *Cell*. 2001;106(1):59-70. DOI 10.1016/S0092-8674(01)00430-5.
- Jones G.H., Franklin F.C.H. Meiotic crossing-over: obligation and interference. *Cell*. 2006;126(2):246-248. DOI 10.1016/j.cell.2006.07.010.
- Kauppi L., Barchi M., Lange J., Baudat F., Jasin M., Keeney S. Numerical constraints and feedback control of double-strand breaks in mouse meiosis. *Genes Dev.* 2013;27(8):873-886. DOI 10.1101/gad.213652.113.
- Keeney S., 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(3):375-384. DOI 10.1016/S0092-8674(00)81876-0.
- Kleckner N. Meiosis: how could it work? *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1996;93(16):8167-8174. DOI 10.1073/pnas.93.16.8167.
- Komakhin R.A., Komakhina V.V., Milyukova N.A., Goldenkova-Pavlova I.V., Fadina O.A., Zhuchenko A.A. Transgenic tomato plants expressing *recA* and *NLS-recA-licBM3* genes as a model for study-

- ing meiotic recombination. *Russ. J. Genet.* 2010;46(12):1440-1448. DOI 10.1134/S1022795410120069.
- Komakhin R.A., Komakhina V.V., Milyukova N.A., Zhuchenko A.A. Analysis of the meiotic recombination frequency in transgenic tomato hybrids expressing *recA* and *NLS-recA-licBM3* genes. *Russ. J. Genet.* 2012;48(1):23-31. DOI 10.1134/S1022795411110093.
- Komakhin R.A., Milyukova N.A., Strelnikova S.R., Krinitsina A.A., Komakhina V.V., Zhuchenko A.A. Inheritance of marker genes among progeny of interspecific tomato hybrids expressing the *recA* *Escherichia coli* gene. *Russ. J. Genet.* 2019;55(4):433-443. DOI 10.1134/S1022795419040069.
- Komakhina V.V., Krinitsina A.A., Milyukova N.A., Komakhin R.A. Expression of recombinant *SPO11* genes locally alters crossing over in tomato. *Russ. J. Genet.* 2020;56(9):1079-1089. DOI 10.1134/S1022795420090124.
- Kurzbauer M.-T., 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 10.1105/tpc.112.098459.
- Lambing C., Franklin F.C.H., Wang C.-J.R. Understanding and manipulating meiotic recombination in plants. *Plant Physiol.* 2017; 173(3):1530-1542. DOI 10.1104/pp.16.01530.
- Lanzov V.A. *RecA* homologous DNA transferase: functional activities and a search for homology by recombining DNA molecules. *Mol. Biol.* 2007;41(3):417-426. DOI 10.1134/S0026893307030077.
- Lao J.P., Cloud V., Huang C.-C., Grubb J., Thacker D., Lee C.-Y., Dresser M.E., Hunter N., Bishop D.K. Meiotic crossover control by concerted action of Rad51-Dmc1 in homolog template bias and robust homeostatic regulation. *PLoS Genet.* 2013;9(12):e1003978. DOI 10.1371/journal.pgen.1003978.
- Leonard J.M., Bollmann S.R., Hays J.B. Reduction of stability of *Arabidopsis* genomic and transgenic DNA-repeat sequences (microsatellites) by inactivation of atMSH2 mismatch-repair function. *Plant Physiol.* 2003;133(1):328-338. DOI 10.1104/pp.103.023952.
- Lhuissier F.G.P., Offenberger H.H., Wittich P.E., Vischer N.O.E., Heyting C. The Mismatch repair protein MLH1 marks a subset of strongly interfering crossovers in tomato. *Plant Cell.* 2007;19(3):862-876. DOI 10.1105/tpc.106.049106.
- Li X., Yu M., Bolaños-Villegas P., Zhang J., Ni D., Ma H., Wang Y. Fanconi anemia ortholog FANCM regulates meiotic crossover distribution in plants. *Plant Physiol.* 2021;186(1):344-360. DOI 10.1093/plphys/kiab061.
- Liu S., Yeh C.-T., Ji T., Ying K., Wu H., Tang H.M., Fu Y., Nettleton D., Schnable P.S. *Mu* transposon insertion sites and meiotic recombination events co-localize with epigenetic marks for open chromatin across the maize genome. *PLoS Genet.* 2009;5(11):e1000733. DOI 10.1371/journal.pgen.1000733.
- Lloyd A.H., Milligan A.S., Langridge P., Able J.A. *TaMSH7*: A cereal mismatch repair gene that affects fertility in transgenic barley (*Hordeum vulgare* L.). *BMC Plant Biol.* 2007;7(1):67. DOI 10.1186/1471-2229-7-67.
- 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 10.1242/jcs.088229.
- Mancera E., Bourgon R., Brozzi A., Huber W., Steinmetz L.M. High-resolution mapping of meiotic crossovers and non-crossovers in yeast. *Nature.* 2008;454(7203):479-485. DOI 10.1038/nature07135.
- Marti T.M., Kunz C., Fleck O. DNA mismatch repair and mutation avoidance pathways. *J. Cell. Physiol.* 2002;191(1):28-41. DOI 10.1002/jcp.10077.
- Martini E., Diaz R.L., Hunter N., Keeney S. Crossover homeostasis in yeast meiosis. *Cell.* 2006;126:285-295. DOI 10.1016/j.cell.2006.05.044.
- 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 10.1146/annurev-arplant-050213-035923.
- Mézard C., Tagliaro Jahns M., Grelon M. Where to cross? New insights into the location of meiotic crossovers. *Trends Genet.* 2015;31(7): 393-401. DOI 10.1016/j.tig.2015.03.008.
- Mézard C., Vignard J., Drouaud J., Mercier R. The road to crossovers: plants have their say. *Trends Genet.* 2007;23(2):91-99. DOI 10.1016/j.tig.2006.12.007.
- Mieulet D., Aubert G., Bres C., Klein A., Droc G., Vieille E., Rond-Coissieux C., Sanchez M., Dalmais M., Mauxion J.-P., Rothan C., Guiderdoni E., Mercier R. Unleashing meiotic crossovers in crops. *Nat. Plants.* 2018;4(12):1010-1016. DOI 10.1038/s41477-018-0311-x.
- Modrich P. Mechanisms and biological effects of Mismatch repair. *Annu. Rev. Genet.* 1991;25:229-253. DOI 10.1146/annurev.ge.25.120191.001305.
- Nichols M.D., DeAngelis K., Keck J.L., Berger J.M. Structure and function of an archaeal topoisomerase VI subunit with homology to the meiotic recombination factor Spo11. *EMBO J.* 1999;18(21): 6177-6188. DOI 10.1093/emboj/18.21.6177.
- Osman K., Higgins J.D., Sanchez-Moran E., Armstrong S.J., Franklin F.C.H. Pathways to meiotic recombination in *Arabidopsis thaliana*. *New Phytol.* 2011;190(3):523-544. DOI 10.1111/j.1469-8137.2011.03665.x.
- Peciña A., Smith K.N., Mézard C., Murakami H., Ohta K., Nicolas A. Targeted stimulation of meiotic recombination. *Cell.* 2002;111(2): 173-184. DOI 10.1016/S0092-8674(02)01002-4.
- Rakosy-Tican E., Lőrincz-Besenyi E., Molnár I., Thieme R., Hartung F., Sprink T., Antonova O., Famelaer I., Angenon G., Aurori A. New phenotypes of potato co-induced by mismatch repair deficiency and somatic hybridization. *Front. Plant Sci.* 2019;10:3. DOI 10.3389/fpls.2019.00003.
- Ranjha L., Anand R., Cejka P. The *Saccharomyces cerevisiae* Mlh1-Mlh3 heterodimer is an endonuclease that preferentially binds to Holliday junctions. *J. Biol. Chem.* 2014;289(9):5674-5686. DOI 10.1074/jbc.M113.533810.
- Reiss B., Klemm M., Kosak H., Schell J. *RecA* protein stimulates homologous recombination in plants. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1996;93(7):3094-3098. DOI 10.1073/pnas.93.7.3094.
- Reiss B., Schubert I., Köpchen K., Wendeler E., Schell J., Puchta H. *RecA* stimulates sister chromatid exchange and the fidelity of double-strand break repair, but not gene targeting, in plants transformed by *Agrobacterium*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2000;97(7): 3358-3363. DOI 10.1073/pnas.97.7.3358.
- Robert T., Nore A., Brun C., Maffre C., Crimi B., Guichard V., Bourbon H.-M., de Massy B. The TopoVIB-Like protein family is required for meiotic DNA double-strand break formation. *Science.* 2016;351(6276):943-949. DOI 10.1126/science.aad5309.
- Rodgers-Melnick E., Bradbury P.J., Elshire R.J., Glaubitz J.C., Acharya C.B., Mitchell S.E., Li C., Li Y., Buckler E.S. Recombination in diverse maize is stable, predictable, and associated with genetic load. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2015;112(12):3823-3828. DOI 10.1073/pnas.1413864112.
- Roeder G.S. Meiotic chromosomes: it takes two to tango. *Genes Dev.* 1997;11(20):2600-2621. DOI 10.1101/gad.11.20.2600.
- Sachadyn P. Conservation and diversity of MutS proteins. *Mutat. Res. Mol. Mech. Mutagen.* 2010;694(1):20-30. DOI 10.1016/j.mrfmmm.2010.08.009.
- Saintenac C., Falque M., Martin O.C., Paux E., Feuillet C., Sourdille P. Detailed recombination studies along chromosome 3B provide new insights on crossover distribution in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Genetics.* 2009;181(2):393-403. DOI 10.1534/genetics.108.097469.
- Saintenac C., Faure S., Remay A., Choulet F., Ravel C., Paux E., Balfourier F., Feuillet C., Sourdille P. Variation in crossover rates across a 3-Mb contig of bread wheat (*Triticum aestivum*) reveals the presence of a meiotic recombination hotspot. *Chromosoma.* 2011; 120(2):185-198. DOI 10.1007/s00412-010-0302-9.
- Sarma S., Pandey A.K., Sharma K., Ravi M., Sreelakshmi Y., Sharma R. MutS-Homolog2 silencing generates tetraploid meiocytes in

- tomato (*Solanum lycopersicum*). *Plant Direct*. 2018;2(1):e00017. DOI 10.1002/pld3.17.
- Sarno R., Vicq Y., Uematsu N., Luka M., Lapiere C., Carroll D., Bastianelli G., Serero A., Nicolas A. Programming sites of meiotic crossovers using Spo11 fusion proteins. *Nucleic Acids Res*. 2017; 45(19):e164. DOI 10.1093/nar/gkx739.
- 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 10.1093/nar/gkw1210.
- Séguéla-Arnaud M., Crismani W., Larchevêque C., Mazel J., Froger N., Choinard S., Lemhemdi A., Macaisne N., Leene J.V., Gevaert K., Jaeger G.D., 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 10.1073/pnas.1423107112.
- Serra H., Lambing C., Griffin C.H., Topp S.D., Nageswaran D.C., Underwood C.J., Ziolkowski P.A., Séguéla-Arnaud M., Fernandes J.B., Mercier R., Henderson I.R. Massive crossover elevation via combination of *HEI10* and *recq4a recq4b* during *Arabidopsis* meiosis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2018;115(10):2437-2442. DOI 10.1073/pnas.1713071115.
- Sheridan S.D., Yu X., Roth R., Heuser J.E., Sehorn M.G., Sung P., Egelman E.H., Bishop D.K. A comparative analysis of Dmc1 and Rad51 nucleoprotein filaments. *Nucleic Acids Res*. 2008;36(12):4057-4066. DOI 10.1093/nar/gkn352.
- Shingu Y., Tokai T., Agawa Y., Toyota K., Ahmed S., Kawagishi-Kobayashi M., Komatsu A., Mikawa T., Yamamoto M.-T., Wakasa K., Shibata T., Kusano K. The double-stranded break-forming activity of plant SPO11s and a novel rice SPO11 revealed by a *Drosophila* bioassay. *BMC Mol. Biol*. 2012;13(1):1. DOI 10.1186/1471-2199-13-1.
- Simanovsky S.A., Bogdanov Yu.F. Genetic control of meiosis in plants. *Russ. J. Genet*. 2018;54(4):389-402. DOI 10.1134/S1022795418030122.
- Smagulova F., Gregoretto I.V., Brick K., Khil P., Camerini-Otero R.D., Petukhova G.V. Genome-wide analysis reveals novel molecular features of mouse recombination hotspots. *Nature*. 2011;472(7343): 375-378. DOI 10.1038/nature09869.
- Stacey N.J., 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 10.1111/j.1365-313X.2006.02867.x.
- Strelnikova S.R., Krinitsina A.A., Komakhin R.A. Effective RNAi-mediated silencing of the *Mismatch repair MSH2* gene induces sterility of tomato plants but not an increase in meiotic recombination. *Genes*. 2021;12(8):1167. DOI 10.3390/genes12081167.
- Taagen E., Bogdanove A.J., Sorrells M.E. Counting on crossovers: controlled recombination for plant breeding. *Trends Plant Sci*. 2020;25(5):455-465. DOI 10.1016/j.tplants.2019.12.017.
- Tam S.M., Hays J.B., Chetelat R.T. Effects of suppressing the DNA mismatch repair system on homeologous recombination in tomato. *Theor. Appl. Genet*. 2011;123(8):1445-1458. DOI 10.1007/s00122-011-1679-4.
- Turner J.M.A. Meiosis 2007 – Where have we got to and where are we going? *Chromosome Res*. 2007;15(5):517-521. DOI 10.1007/s10577-007-1152-z.
- Uanschou C., Ronceret A., Harder M.V., Muyt A.D., Vezon D., Pereira L., Chelysheva L., Kobayashi W., Kurumizaka H., Schlögelhofer P., Grelon M. Sufficient amounts of functional HOP2/MND1 complex promote interhomolog DNA repair but are dispensable for intersister DNA repair during meiosis in *Arabidopsis*. *Plant Cell*. 2013;25(12):4924-4940. DOI 10.1105/tpc.113.118521.
- Villeneuve A.M., Hillers K.J. Whence meiosis? *Cell*. 2001;106(6):647-650. DOI 10.1016/S0092-8674(01)00500-1.
- Vrielynck N., Chambon A., Vezon D., Pereira L., Chelysheva L., Muyt A.D., Mézard C., Mayer C., Grelon M. A DNA topoisomerase VI-like complex initiates meiotic recombination. *Science*. 2016; 351(6276):939-943. DOI 10.1126/science.aad5196.
- 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 10.4161/15384101.2014.991185.
- Wang Y., Copenhaver G.P. Meiotic recombination: Mixing it up in plants. *Annu. Rev. Plant Biol*. 2018;69(1):577-609. DOI 10.1146/annurev-arplant-042817-040431.
- Wijnker E., de Jong H. Managing meiotic recombination in plant breeding. *Trends Plant Sci*. 2008;13(12):640-646. DOI 10.1016/j.tplants.2008.09.004.
- Wijnker E., James G.V., Ding J., Becker F., Klasen J.R., Rawat V., Rowan B.A., de Jong D.F., de Snoo C.B., Zapata L. The genomic landscape of meiotic crossovers and gene conversions in *Arabidopsis thaliana*. *eLife*. 2013;2:e01426. DOI 10.7554/eLife.01426.
- Wu H., Gao J., Sharif W.D., Davidson M.K., Wahls W.P. Purification, folding, and characterization of Rec12 (Spo11) meiotic recombinase of fission yeast. *Protein Expr. Purif*. 2004;38(1):136-144. DOI 10.1016/j.pep.2004.07.012.
- Yelina N.E., Lambing C., Hardcastle T.J., Zhao X., Santos B., Henderson I.R. DNA methylation epigenetically silences crossover hot spots and controls chromosomal domains of meiotic recombination in *Arabidopsis*. *Genes Dev*. 2015;29(20):2183-2202. DOI 10.1101/gad.270876.115.
- Youds J.L., Boulton S.J. The choice in meiosis – defining the factors that influence crossover or non-crossover formation. *J. Cell Sci*. 2011;124(4):501-513. DOI 10.1242/jcs.074427.
- Yuan J., Chen J. FIGNL1-containing protein complex is required for efficient homologous recombination repair. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2013;110(26):10640-10645. DOI 10.1073/pnas.1220662110.
- Zhang P., Zhang Y., Sun L., Sinumporn S., Yang Z., Sun B., Xuan D., Li Z., Yu P., Wu W., Wang K., Cao L., Cheng S. The rice AAA-ATPase OsFIGNL1 is essential for male meiosis. *Front. Plant Sci*. 2017;8:1639. DOI 10.3389/fpls.2017.01639.
- Ziolkowski P.A., Underwood C.J., Lambing C., Martinez-Garcia M., Lawrence E.J., Ziolkowska L., Griffin C., Choi K., Franklin F.C.H., Martienssen R.A., Henderson I.R. Natural variation and dosage of the HEI10 meiotic E3 ligase control *Arabidopsis* crossover recombination. *Genes Dev*. 2017;31(3):306-317. DOI 10.1101/gad.295501.116.

ORCID ID

S.R. Strelnikova orcid.org/0000-0003-2641-7069
R.A. Komakhin orcid.org/0000-0001-5963-8111

Благодарности. Работа выполнена за счет средств государственного задания № 0431-2022-0004.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила в редакцию 19.05.2022. После доработки 11.09.2022. Принята к публикации 26.09.2022.