

植物 DNA 双链断裂修复的保守性和特异性

唐丽¹ 李美茹² 李洪清^{1,*}

¹华南师范大学生命科学学院, 广东省植物发育生物工程重点实验室, 广州 510631; ²中国科学院华南植物园, 广州 510650

Conservation and Specificity of DNA Double-strand Break Repair in Plants

TANG Li¹, LI Mei-Ru², LI Hong-Qing^{1,*}

¹Guangdong Key Laboratory of Biotechnology for Plant Development, College of Life Sciences, South China Normal University, Guangzhou 510631, China; ²South China Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510650, China

提要 文章概述了植物 DNA 双链断裂(double-strand break, DSB)修复的研究进展。从酵母、脊椎动物、植物在此领域已取得的成果来看,真核生物 DSB 修复在过程和参与蛋白方面均有一定的进化保守性;另一方面,植物的 DSB 修复有其特异之处。

关键词 DNA 双链断裂修复; 同源重组; 非同源末端连接

植物在生长过程中会因为紫外光照射以及对重金属离子的吸收和病菌感染(Lucht等2002)等一些外界因素不断地产生各种形式的 DNA 损伤。其中,最为严重的 DNA 损伤形式是 DNA 双链断裂(double-strand break, DSB)。即使只有一个 DSB 没有得到及时修复,就可能导致部分遗传信息丢失、染色体断裂甚至细胞死亡;而 DSB 修复错误则可能引起染色体重排、细胞凋亡活化等。DSB 还可能由植物体内的一些内在因素引起,如细胞代谢中产生活性氧自由基、转座子跳跃,修复其他形式的 DNA 损伤等。此外,减数分裂过程中也产生 DSB,它有起始同源重组的作用。

与脊椎动物相比,植物的 DSB 修复有两大特点,这也是研究植物 DSB 修复的部分意义所在。第一,与动物的各器官在胚胎时期形成不同,植物的地上部分是在发育的过程中由茎端分生组织逐渐分化而来的。由于作为生殖器官的花形成于发育的后期,体细胞中包括 DSB 修复在内的各种原因引起的基因突变可能会遗传到下一代,并且植物的 DSB 修复比脊椎动物的 DSB 修复更易引发各种基因突变,因此,相对于脊椎动物而言,DSB 修复对植物的基因组进化的影响可能更大。第二,在现已发现的 DSB 修复基因中,绝大多数对脊椎动物的生存是必需的,从而严重阻碍了对它们具体功能的活体鉴定。与此相反,多种 DSB 修

复基因的突变则不危及植物的存活,植物的这种优势使得不仅可以从细胞水平,而且可能从整个生物体水平鉴定 DSB 修复基因的功能。另外,DSB 修复基因在高等真核生物中有结构和功能的保守性,因而植物在研究高等真核生物 DSB 修复机制方面可能成为比动物更为理想的材料。

一般认为,温度和日照长短的变化、高盐等一些影响植物生长的环境条件,对植物基因组的稳定性影响不大。然而,近两年的研究结果表明,它们均能不同程度地诱发 DSB (Boyko 等 2005, 2006),并可能还有组织特异性。例如,拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)在高盐条件下,DSB 在维管组织中的发生频率明显高于其它组织(Boyko 等 2006)。因此,研究各种缓和的环境变化以及胁迫条件对植物 DSB 的诱发作用将有助于了解多变的环境对植物基因组稳定性及进化的影响。

1 DSB修复的机制

DSB 的高效修复对于维持基因组的稳定及生物体的存活都相当重要。DSB 发生时,细胞周期检验点被激活,细胞周期暂时停止,直至由非同源末端连接(non-homologous end joining, NHEJ)或

收稿 2006-07-24 修定 2006-11-16

资助 国家自然科学基金(30370137)。

*通讯作者(E-mail: hqli@scnu.edu.cn, Tel: 020-85211375-8514)。

同源重组(homologous recombination, HR)完成DSB的修复。当DSB已不能修复时,细胞进入凋亡途径,从而可以避免生物体受到更大的损伤。

NHEJ和HR是2种既相互关联又相互竞争的DSB修复途径,它们的基本区别在于是否依赖同源DNA序列。NHEJ又称异常重组(illegitimate recombination),它的发生不依赖同源DNA序列。如果2条DNA链有短的同源核苷酸序列(通常在10 bp以下),这些序列能通过碱基配对促进NHEJ的发生。NHEJ在对2个DSB末端简单加工后就直接连接它们,因而常伴随缺失突变、插入突变及基因重排(Weterings和Gent 2004),修复精确度低。相对而言,HR对DSB的修复更为精确,因为它以同源DNA序列(大于75 bp)为模板在DSB处合成DNA,但对同源DNA序列的依赖性也同时限制了它的发生频率。模板可以是姐妹染色单体上相同位置的序列、同一染色体上的另一重复序列、同源染色体上的等位序列或非同源染色体上的异位序列,当模板属于后3种情况时,HR就有可能造成基因杂合性丢失和基因重排等问题(Dudas和Chovanec 2004)。

DSB的修复机制从酵母到植物、动物基本上都是保守的。针对DSB修复结果的多样性,现已提出了4种DSB修复过程的基本模式,分别是,双链断裂修复(double-strand break repair, DSBR)模式、单链退火(single-strand annealing, SSA)模式、合成依赖性链退火(synthesis-dependent strand annealing, SDSA)模式和单链侵入(one-sided invasion, OSI)模式。其中,DSBR模式仅能解释HR事件,该模式预计发生HR的2个DSB末端都要有同源序列。但有实验证明,1个DSB末端有同源序列就足以引发HR(Puchta 1998),这一现象能用OSI模式解释,即OSI模式能解释NHEJ和HR相结合的事件,该模式常用来解释基因打靶。SSA和SDSA模式均能解释NHEJ事件和HR事件。当同一染色体上的2个正向重复DNA序列十分临近DSB发生处时,多以SSA模式修复DSB,该模式导致正向重复序列间的遗传信息丢失(图1-a)。在SDSA模式中,作为模板的同源区域的遗传信息相当于被复制了一遍后转移到DSB位点,因而模

板同源区域的遗传信息不受影响,但改变了基因的拷贝数,从而导致基因的转换(图1-c)。

2 植物的DSB修复

目前,细菌、真菌和动物的DSB修复机制已从分子水平得到了较为完善的阐明。相比之下,植物DSB修复的研究起步较晚,但近年来,尤其在2000年拟南芥基因组测序工作完成之后,反义遗传学技术的应用加速了这一研究领域的进展。不同的生物细胞修复DSB的主要途径不同,酵母细胞主要以HR修复DSB;脊椎动物和植物的体细胞主要以NHEJ修复DSB,它们的性母细胞主要以HR修复减数分裂中发生的DSB。因此,基于HR的植物基因打靶效率相当低($10^{-5} \sim 10^{-4}$)也就不足为奇。

植物基因组散布着大量的重复序列,这些序列间若发生HR,极易引起基因转换和大范围的缺失突变。相比之下,NHEJ影响范围小,加之植物基因组大部分序列无功能,所以它破坏功能基因的机率小得多。从这个意义上讲,植物以NHEJ作为DSB修复的主要途径优于HR。HR则主要发生在分裂旺盛的植物细胞的S期,姐妹染色单体上相同位置的序列被优先选作DSB修复的模板,因此,在此时期发生的HR对DSB修复的精确度相当高。

2.1 NHEJ事件 NHEJ最早见于哺乳动物中,目前认为是高等真核生物体细胞的DSB修复和外源DNA整合进基因组的主要途径。参与NHEJ的主要因子有Ku蛋白(包括分子量分别为70和80 kDa的Ku70和Ku80)、DNA依赖蛋白激酶催化亚基(catalytic subunit of the DNA-dependent protein kinase, DNA-PKcs)、Xrcc4、DNA连接酶IV(ligase IV, Lig4)以及由Mre11、Rad50和Nbs1组成的MRN复合体。

脊椎动物中NHEJ的过程是,DSB发生后,Ku70和Ku80形成二聚体识别、结合在2个DSB末端,招募DNA-PKcs形成DNA依赖蛋白激酶(DNA-dependent protein kinase, DNA-PK),将2个DSB末端束缚在一起,引起下游蛋白的磷酸化和细胞周期的停止(Walker等2001)。之后,DSB末端经MRN复合体等加工后,最终由Lig4-Xrcc4复合体催化形成磷酸二酯键,完成DSB的修复(Lee

等1998)。

2.1.1 植物中参与NHEJ的主要因子 自2000年拟南芥基因组测序完成以来, 已鉴定出拟南芥中参与NHEJ的主要基因。3种拟南芥突变体 *atku70*、*atku80*和 *atlig4* (Tamura等2002; West等2000, 2002)同脊椎动物的对应突变体一样, 对DSB诱变剂——紫外光、电离辐射、博莱霉素(bleomycin, BLM)超敏感, 提示植物的 *KU70*、*KU80*、*LIG4* 基因和动物的对应基因一样, 在体细胞DSB修复的主要途径——NHEJ中, 可能发挥着不可替代的作用。不同的是, 脊椎动物中一旦 *KU70*或 *KU80*发生突变, 发育出现严重畸形, *LIG4*发生突变则产生致死效应; 而拟南芥的这3种突变体不仅可以存活, 而且生长发育正常。酵母双杂交和免疫共沉淀实验显示, *AtKu70*和 *AtKu80*之间以及 *AtXrcc4*和 *AtLig4*之间能形成复合体; 进一步的研究显示, *AtKu70*-*AtKu80*二聚体具有依赖单链DNA的ATP酶活性以及依赖ATP的解旋酶活性 (Tamura等2002; West等2000)。MRN复合体不仅参与NHEJ, 也在HR中发挥作用, 植物中MRN复合体的研究进展在下文2.2.1中介绍。

2.1.2 NHEJ与植物基因组进化 作为植物体细胞DSB修复主要途径的NHEJ常导致各种基因突变, 而这些基因突变又可能通过配子遗传到下一代, 因此NHEJ可能影响到植物基因组的进化。从理论上讲, 各种原因引起的复制、插入等突变可使基因组扩大, 而各种原因引起的缺失突变可抵消此作用或使基因组缩小 (Petrov等2000)。

植物中, 即使2个物种的亲缘关系很近, 它们的基因组大小也有很大差别。例如, 烟草 (*Nicotiana tabacum* L.)的基因组大小是拟南芥的20倍以上。Kirik等(2000)在比较拟南芥和烟草中由NHEJ引起的缺失突变时发现, 烟草中约有40%的缺失突变伴随着插入突变, 即在那些DSB位点处, 既有原DNA序列的缺失又有新DNA序列的插入, 类似的现象在玉米 (*Zea mays* L.)中也有报道; 而拟南芥中则没有检测到这一现象, 且范围更大的缺失突变发生得更为频繁, 这样在NHEJ过程中, 烟草净丢失的DNA序列数量不到拟南芥净丢失的1/3。尽管目前在众多植物中, 只对拟南芥和烟草的NHEJ结果做了直接对比, 但这种DSB

修复的种属特异性可能普遍存在, 并可能影响植物基因组的进化。另外, 相对于脊椎动物而言, 植物的NHEJ更易引发突变。例如, 人类体细胞在NHEJ过程中, 有50%~55%的DSB得到精确的修复; 烟草体细胞在NHEJ过程中, 仅有15%~30%的DSB得到精确的修复。而烟草体细胞由于NHEJ净丢失的DNA序列数量是人类体细胞净丢失DNA序列数量的2倍以上 (Pelczar等2003)。

综上所述, 虽然植物和脊椎动物的体细胞都以NHEJ为DSB修复的主要途径, NHEJ的发生机制基本相同, 且参与NHEJ的主要因子在这2类生物中保守, 但植物与脊椎动物之间以及不同种的植物之间, DSB修复结果千差万别, 这可能影响到基因组的进化, 是植物与脊椎动物之间以及不同种植物之间基因组大小和序列有异的重要原因之一。

2.2 HR事件 近10多年来, 研究HR事件的方法出现了两大更新。其一是采用稀有的限制内切酶 (如 *I-SceI*、*HO*) 在基因组的特异位点高效地引入DSB。此方法可将HR频率提高1~2个数量级。其二是以2个含有重复序列的报告基因片段 (如 *GUS*、*LUC*) 为重组底物转化植株, 在转基因植株中发生在这2个重复序列间的HR事件可产生完整的报告基因 (图1-a、c), 用相应的检测方法就可直观地显示出这些发生了HR的细胞 (图1-d)。采用上述手段研究发现, 植物体细胞中不同类型的HR具有不同的发生频率及特点。染色体间HR频率仅在 10^{-4} 左右, 多以SDSA模式发生, 导致基因的转换 (Gisler等2002; Puchta 1999; Molinier等2004) (图1-c)。当DSB发生在同一染色体内的2个正向重复序列间时, 约有1/3的DSB以SSA模式的HR修复, 重复序列间的遗传信息丢失 (Siebert和Puchta 2002) (图1-b)。近几年的研究还发现, 大肠杆菌 (*Escherichia coli*) 的主要重组酶基因 *RecA* (Reiss等2000)、核酸内切酶基因 *RuvC* (Shalev等1999) 在烟草中的超量表达均可使烟草的HR频率提高1个数量级。本实验室近年来的研究发现, 大肠杆菌的解旋酶基因 *RecQ* 在水稻 (*Oryza sativa* L.) 中的超量表达可使水稻的HR频率提高20倍以上 (Li等2004a), 这些都为提高植物的基因

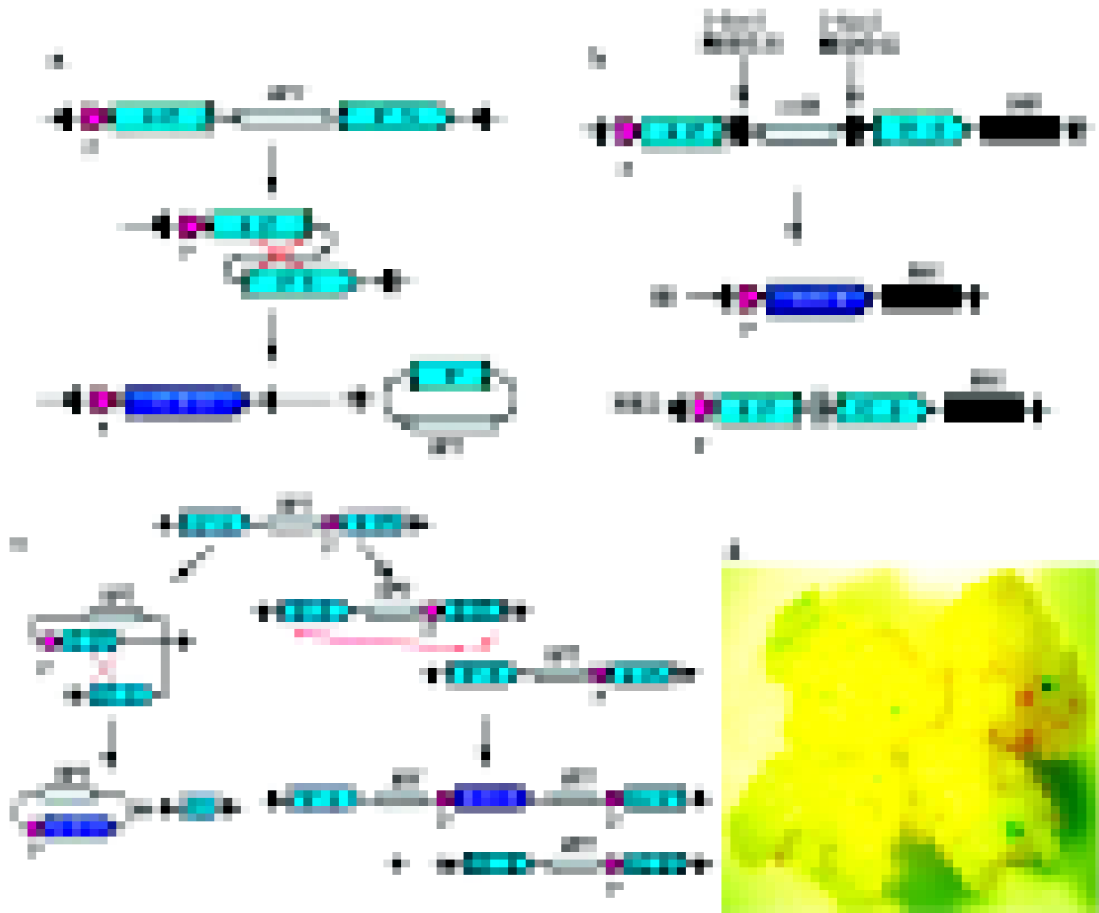


图1 重组底物检测重组事件的机制

a: 检测染色体内HR事件的重组底物设计。它主要由2个含正向重复序列(U')的GUS片段(GU'、U'S)组成,中间插入潮霉素抗性基因(HPT)作为遗传转化的筛选标记。如果U'间发生HR,主要以SSA模式发生,HPT丢失,GUS恢复活性(Schuermann等2005)。b: 用于比较染色体内HR和NHEJ频率的重组底物设计。以抗除草剂基因(BAR)作为遗传转化的筛选标记。在2个正向重复序列(U')间插入2个I-SceI酶切位点和作为负选择标记的胞嘧啶脱氨酶基因(cytosine deaminase, *codA*)。I-SceI酶的表达使U'间发生DSB,同时*codA*从基因组上删除,致使细胞抗5-氟尿嘧啶。因此,抗5-氟尿嘧啶的细胞均发生过DSB,在这些细胞中,GUS恢复活性的细胞以HR修复DSB;GUS未恢复活性的细胞以NHEJ修复DSB(Siebert和Puchta 2002)。c: 检测染色体间HR事件的重组底物设计。此类HR事件主要以SDSA模式发生,导致基因转换,即c右侧表示的重组过程。此重组底物如果发生染色体内HR,则U'留在基因组中,GUS和HPT形成环状结构游离于基因组之外,即c左侧表示的重组过程,只有当此环状结构再次整合到基因组中GUS才能稳定表达,此类事件的发生仅为极个别(Molinier等2004)。以上HR事件均可通过GUS组织化学染色检测到。d: 将含a所示重组底物的水稻愈伤组织进行GUS染色,部分细胞呈阳性。P: 35S启动子;黑色三角形: T-DNA的左右边界。

打靶效率提供了新的思路。

酵母中已发现的主要重组蛋白有Rad51、Rad52、Rad54、Rad55、Rad57、Rad59以及MRX复合体的组分Mre11、Rad50、Xrs2,其中不少蛋白是在筛选对电离辐射敏感(radiation-sensitive)或减数分裂重组缺陷(meiotic recombination-deficient)的酵母细胞时发现的,其命名沿用了原来的名称(Rad、Mre)。

酵母中HR的过程是,DSB末端经MRX复合

体的作用,加工成3'端突出的黏性末端(Dudas和Chovanec 2004)。随后,Rad52结合在此3'黏性末端上。如果这2个3'端黏性末端有同源序列,Rad52即可促进它们退火,DSB修复是以SSA模式进行的;如果它们无同源序列,Rad52即招募Rad54、Rad55、Rad57协助Rad51结合在3'端黏性末端上,而形成Rad51-ssDNA(single-strand DNA)核线结构,之后,Rad51-ssDNA侵入DNA的同源区域,DSB修复是以SDSA模式进行的

(Symington 2002; Sung 1994)。

由此可见, 酵母中 2 个的主要重组过程 (SSA 和 SDSA 模式) 都依赖于 Rad52。DSB 发生后, DSB 末端就成了 HR 和 NHEJ 的共同底物, 酵母和脊椎动物通过 Rad52 与 Ku70-Ku80 二聚体竞争性地结合 DSB 末端来调节 HR 与 NHEJ 之间的竞争 (Van Dyck 等 1999)。值得注意的是, 植物中尚未发现 *RAD52* 基因, 可能与植物 HR 频率低有关。以下介绍植物中主要的重组蛋白, 并比较它们与酵母、脊椎动物中相应蛋白的异同。

2.2.1 MRN 复合体 近年来, 在拟南芥中已鉴定出 AtMre11 和 AtRad50, 免疫共沉淀实验提示它们在体内能形成复合体 (Daoudal-Cotterell 等 2002), 在拟南芥基因库中也发现了潜在的 *NBS1* 同源基因 (At3g02680)。这些提示, 相对于酵母的 MRX 复合体来说, 植物的对应复合体与脊椎动物的 MRN 复合体亲缘关系更近些。拟南芥突变体 *atrads50* 和 *atmre11* 能存活, 而脊椎动物的对应基因发生突变会使胚胎死亡, 但 *atmre11* 和 *atrads50* 生长发育存在明显缺陷, 其对 DSB 诱变剂超敏感且高度不育, 提示植物的 MRN 复合体在体细胞 DSB 修复的主要途径 NHEJ 和性母细胞减数分裂中 DSB 修复的主要途径 HR 中, 可能发挥着重要作用 (Gallego 等 2001; Bundock 和 Hooykaas 2002)。在 *atmre11* 中, 有丝分裂旺盛的体细胞含有大量双着丝点染色体和断裂染色体, 这可能是造成 *atmre11* 生长发育异常的主要原因 (Puizina 等 2004); *atrads50* 和 *atmre11* 的性母细胞在减数分裂中, 染色体大量断裂且同源染色体不能正常联会 (synapsis) (Bleuyard 等 2004; Puizina 等 2004), 这些都为植物的 MRN 复合体参与体细胞 DSB 修复及减数分裂 HR 提供了直接的分子水平证据。

MRN 复合体在 DSB 修复过程中的多重作用至今尚未完全阐明。例如, *AtRAD50* 发生突变后, 拟南芥的染色体 HR 频率提高了 8~10 倍 (Gherbi 等 2001), 与酵母 *rad50* 突变体相似。酵母 *rad50* 突变体中, HR 频率升高, 而 NHEJ 频率下降, 推测酵母中 NHEJ 对 MRX 复合体的依赖性较 HR 更大, *RAD50* 突变首先抑制 NHEJ, 因而 HR 有了更多的重组底物 DNA (Moore 和 Haber 1996)。虽然, 目前还没有分析植物中 *RAD50* 突变后 NHEJ

频率变化情况的报道, 但 *atrads50* 的超重组表型提示植物的 HR 和 NHEJ 之间可能存在同样的竞争。

2.2.2 Rad51 类蛋白家族 Rad51 类蛋白家族的成员包括 Rad51、Dmc1 及 Rad51 的一些旁系同源蛋白 (paralogs)。HR 事件的核心是同源序列的识别和交换, 酵母和脊椎动物的 Rad51 蛋白与细菌的主要重组酶 RecA 高度同源, 且具有上述 2 种活性 (Dudas 和 Chovanec 2004), 因而认为是 HR 的核心酶。

Rad51 对于脊椎动物的存活是必需的 (Lim 和 Hasty 1996)。然而, 在植物中, 拟南芥 *atrads51* 突变体不仅能存活, 而且营养生长的表型正常, 有丝分裂也未见明显异常 (Li 等 2004b), 表明 *RAD51* 并非植物体细胞修复 DSB 的必需基因。迄今为止, 还没有报道直接证明植物的 Rad51 参与体细胞中 DSB 的修复。*atrads51* 突变体的性母细胞在减数分裂中, 染色体大量断裂且同源染色体不能正常联会, 因而不能产生有活性的配子 (Li 等 2004b), 说明 *RAD51* 是植物减数分裂 HR 的必需基因。

在酵母和脊椎动物中, Dmc1 是减数分裂特异性的 Rad51 同源蛋白。这类蛋白现已在拟南芥和百合 (*Lilium* L.) 中得到了鉴定, 分别命名为 AtDmc1 (Klimyuk 和 Jones 1997) 和 Lim15 (Kobayashi 等 1994)。与 AtRad51 不同, AtDmc1 失活仅引起减数分裂中同源染色体联会异常, 不影响染色体的完整性 (Couteau 等 1999)。

酵母中已发现 2 种 Rad51 的旁系同源蛋白: Rad55 和 Rad57。在脊椎动物中未见有与此对应的蛋白的报道, 但已鉴定出其它 5 种 Rad51 的旁系同源蛋白, 即 Rad51B、Rad51C、Rad51D、Xrcc2 和 Xrcc3。它们能形成两大复合体: BCDX2 复合体 (由 Rad51B、Rad51C、Rad51D 和 Xrcc2 组成) 和 CX3 复合体 (由 Rad51C、Xrcc3 组成)。研究这些基因突变的脊椎动物细胞时发现, 它们对 HR 和维持染色体的稳定相当重要 (Johnson 等 1999; Liu 等 1998)。以上任何 1 种 *Rad51* 旁系同源基因发生突变都会导致脊椎动物的胚胎死亡, 严重影响了它们在减数分裂中功能的研究。

拟南芥的基因测序提示, 拟南芥含有类似于脊椎动物的 5 种 *RAD51* 的旁系同源基因, 现已鉴

定出 *AtRAD51B*、*AtRAD51C*、*AtXRCC2* 和 *AtXRCC3*。酵母双杂交实验显示, *AtRad51C* 和 *AtXrcc3* 之间、*AtRad51C* 和 *AtRad51B* 之间的相互作用很明显 (Osakabe等2002, 2005), 这提示植物中存在 CX3 复合体, 还可能存在 BCDX2 复合体。*atrad51b*、*atrad51c*、*atxrcc2*和*atxrcc3*这4种拟南芥突变体可以存活, 但对 DNA 交联剂丝裂霉素 C (mitomycin C, MMC) 超敏感, 说明对应的 4 种基因在植物 DNA 交联修复中发挥着功能; 这些突变体对 DSB 诱导剂 (如 BLM 和电离辐射) 的敏感度却不高 (Bleuyard等2005; Bleuyard和White 2004; Osakabe 等 2005; Abe 等 2005), 据此推测上述 4 种对应的基因可能只参与植物 DSB 修复的次要途径 HR。另一方面, 以上表型与脊椎动物对应基因发生突变的细胞表型相似 (Johnson等1999; Liu等1998), 这提示植物和脊椎动物的 *RAD51* 旁系同源基因在 DNA 损伤修复中有一定的保守功能。在上述4种拟南芥突变体中, 仅*atrad51c*和*atxrcc3*不育, 细胞学检测表明它们的性母细胞在减数分裂中, 同源染色体在偶线期联会正常, 但在粗线期以后染色体出现断裂, 阻碍配子的正常形成 (Bleuyard和White 2004; Li等2005; Abe等2005), 这也提示植物在减数分裂前期的 HR 过程中, CX3 复合体的作用晚于 MRX 复合体、Rad51 和 Dmc1。

3 结语

就现有研究结果来看, 植物和脊椎动物的修复机制基本相同, 且已发现的 DSB 修复基因绝大多数在序列上有一定的同源性, 在功能上有一定的保守性; 另一方面, 植物的 DSB 修复又有其自身特点。

尽管植物 DSB 修复的研究进展迅速, 但其详细的分子机制尚待更深入的研究。例如, 何种因素决定了植物和动物中的 NHEJ 频率远高于 HR 频率? 为什么在动物中有突变致死效应的 DSB 修复基因在植物中的对应基因突变却不危及植物的生存? DSB 修复发生在染色质水平上, 但在植物中发现参与此过程中染色质重构的因子还很少, 在 DSB 修复过程中还有哪些因子调控染色质的构型变化? 植物细胞响应 DSB 的信号转导机制究竟怎样? 所有这些问题都有待进一步探讨。

参考文献

- Abe K, Osakabe K, Nakayama S, Endo M, Tagiri A, Todoriki S, Ichikawa H, Toki S (2005). *Arabidopsis RAD51C* gene is important for homologous recombination in meiosis and mitosis. *Plant Physiol*, 139 (2): 896~908
- Bleuyard JY, Gallego ME, Savigny F, White CI (2005). Differing requirements for the *Arabidopsis* Rad51 paralogs in meiosis and DNA repair. *Plant J*, 41 (4): 533~545
- Bleuyard JY, Gallego ME, White CI (2004). Meiotic defects in the *Arabidopsis rad50* mutant point to conservation of the MRX complex function in early stages of meiotic recombination. *Chromosoma*, 113 (4): 197~203
- Bleuyard JY, White CI (2004). The *Arabidopsis* homologue of Xrcc3 plays an essential role in meiosis. *EMBO J*, 23 (2): 439~449
- Boyko A, Filkowski J, Kovalchuk I (2005). Homologous recombination in plants is temperature and day-length dependent. *Mutat Res*, 572 (1~2): 73~83
- Boyko A, Hudson D, Bhomkar P, Kathiria P, Kovalchuk I (2006). Increase of homologous recombination frequency in vascular tissue of *Arabidopsis* plants exposed to salt stress. *Plant Cell Physiol*, 47 (6): 736~742
- Bundock P, Hooykaas P (2002). Severe developmental defects, hypersensitivity to DNA-damaging agents, and lengthened telomeres in *Arabidopsis MRE11* mutants. *Plant Cell*, 14 (10): 2451~2462
- Couteau F, Belzile F, Horlow C, Grandjean O, Vezon D, Doutriaux MP (1999). Random chromosome segregation without meiotic arrest in both male and female meiocytes of a *dmc1* mutant of *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 11 (9): 1623~1634
- Daoudal-Cotterell S, Gallego ME, White CI (2002). The plant Rad50-Mre11 protein complex. *FEBS Lett*, 516 (1~3): 164~166
- Dudas A, Chovanec M (2004). DNA double-strand break repair by homologous recombination. *Mutat Res*, 566 (2): 131~167
- Gallego ME, Jeanneau M, Granier F, Bouchez D, Bechtold N, White CI (2001). Disruption of the *Arabidopsis RAD50* gene leads to plant sterility and MMS sensitivity. *Plant J*, 25 (1): 31~41
- Gherbi H, Gallego ME, Jalut N, Lucht JM, Hohn B, White CI (2001). Homologous recombination *in planta* is stimulated in the absence of Rad50. *EMBO Rep*, 2 (4): 287~291
- Gisler B, Salomon S, Puchta H (2002). The role of double-strand break-induced allelic homologous recombination in somatic plant cells. *Plant J*, 32 (3): 277~284
- Johnson RD, Liu N, Jasin M (1999). Mammalian XRCC2 promotes the repair of DNA double-strand breaks by homologous recombination. *Nature*, 401 (6751): 397~399
- Kirik A, Salomon S, Puchta H (2000). Species-specific double-strand break repair and genome evolution in plants. *EMBO J*, 19 (20): 5562~5566
- Klimyuk VI, Jones JD (1997). *AtDMC1*, the *Arabidopsis* homologue of the yeast *DMC1* gene: characterization, transposon-

- induced allelic variation and meiosis-associated expression. *Plant J*, 11 (1): 1~14
- Kobayashi T, Kobayashi E, Sato S, Hotta Y, Miyajima N, Tanaka A, Tabata S (1994). Characterization of cDNAs induced in meiotic prophase in lily microsporocytes. *DNA Res*, 1 (1): 15~26
- Lee SE, Moore JK, Holmes A, Umezu K, Kolodner RD, Haber JE (1998). *Saccharomyces* Ku70, Mre11/Rad50, and RPA proteins regulate adaptation to G2/M arrest after DNA damage. *Cell*, 94 (3): 399~409
- Li HQ, Terada R, Li MR, Iida S (2004a). RecQ helicase enhances homologous recombination in plants. *FEBS Lett*, 574 (1~3): 151~155
- Li W, Chen C, Timofejeva L, Markmann-Mulisch U, Schmelzer E, Ma H, Reiss B (2004b). The *Arabidopsis AtRAD51* gene is dispensable for vegetative development but required for meiosis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 101 (29): 10596~10601
- Li W, Yang X, Lin Z, Timofejeva L, Xiao R, Makaroff CA, Ma H (2005). The *AtRAD51C* gene is required for normal meiotic chromosome synapsis and double-stranded break repair in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 138 (2): 965~976
- Lim DS, Hasty P (1996). A mutation in mouse *rad51* results in an early embryonic lethal that is suppressed by a mutation in *p53*. *Mol Cell Biol*, 16 (12): 7133~7143
- Liu N, Lamerdin JE, Tebbs RS, Schild D, Tucker JD, Shen MR, Brookman KW, Siciliano MJ, Walter CA, Fan WF et al (1998). XRCC2 and XRCC3, new human Rad51-family members, promote chromosome stability and protect against DNA cross-links and other damages. *Mol Cell*, 1 (6): 783~793
- Lucht JM, Mauch-Mani B, Steiner HY, Mettraux JP, Ryals J, Hohn B (2002). Pathogen stress increases somatic recombination frequency in *Arabidopsis*. *Nat Genet*, 30 (3): 311~314
- Molinier J, Ries G, Bonhoeffer S, Hohn B (2004). Interchromatid and interhomolog recombination in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell*, 16 (2): 342~352
- Moore JK, Haber JE (1996). Cell cycle and genetic requirements of two pathways of nonhomologous end-joining repair of double strand breaks in *Saccharomyces cerevisiae*. *Mol Cell Biol*, 16 (5): 2164~2173
- Osakabe K, Abe K, Yamanouchi H, Takyuu T, Yoshioka T, Ito Y, Kato T, Tabata S, Kurei S, Yoshioka Y et al (2005). *Arabidopsis* Rad51B is important for double-strand DNA breaks repair in somatic cells. *Plant Mol Biol*, 57 (6): 819~833
- Osakabe K, Yoshioka T, Ichikawa H, Toki S (2002). Molecular cloning and characterization of *RAD51*-like genes from *Arabidopsis thaliana*. *Plant Mol Biol*, 50 (1): 71~81
- Pelczar P, Kalck V, Kovalchuk L (2003). Different genome maintenance strategies in human and tobacco cells. *J Mol Biol*, 331 (4): 771~779
- Petrov DA, Sangster TA, Johnston JS, Hartl DL, Shaw KL (2000). Evidence for DNA loss as a determinant of genome size. *Science*, 287 (5455): 1060~1062
- Puchta H (1998). Repair of genomic double-strand breaks in somatic plant cells by one-sided invasion of homologous sequences. *Plant J*, 13 (3): 331~339
- Puchta H (1999). Double-strand break-induced recombination between ectopic homologous sequences in somatic plant cells. *Genetics*, 152 (3): 1173~1181
- Puizina J, Siroky J, Mokros P, Schweizer D, Riha K (2004). Mre11 deficiency in *Arabidopsis* is associated with chromosomal instability in somatic cells and Spo11-dependent genome fragmentation during meiosis. *Plant Cell*, 16 (8): 1968~1978
- Reiss I, Schubert K, Kopchen E, Wendeler E, Schell J, Puchta H (2000). 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*, 97 (7): 3358~3363
- Schuermann D, Molinier J, Fritsch O, Hohn B (2005). The dual nature of homologous recombination in plants. *Trends Genet*, 21 (3): 172~181
- Shalev G, Sitrit Y, Avivi-Ragolski N, Lichtenstein C, Levy AA (1999). Stimulation of homologous recombination in plants by expression of the bacterial resolvase RuvC. *Proc Natl Acad Sci USA*, 96 (13): 7398~7402
- Siebert R, Puchta H (2002). Efficient repair of genomic double strand breaks via homologous recombination between directly repeated sequences in the plant genome. *Plant Cell*, 14 (5): 1121~1131
- Sung P (1994). Catalysis of ATP-dependent homologous DNA pairing and strand exchange by yeast RAD51 protein. *Science*, 265 (5176): 1241~1243
- Symington LS (2002). Role of *RAD52* epistasis group genes in homologous recombination and double-strand break repair. *Microbiol Mol Biol Rev*, 66 (4): 630~670
- Tamura K, Adachi Y, Chiba K, Oguchi K, Takahashi H (2002). Identification of Ku70 and Ku80 homologues in *Arabidopsis thaliana*: evidence for a role in the repair of DNA double-strand breaks. *Plant J*, 29 (6): 771~781
- Van Dyck E, Stasiak AZ, West SC, Stasiak A (1999). Binding of double-strand breaks in DNA by human Rad52 protein. *Nature*, 398 (6729): 728~731
- Walker JR, Corpina RA, Goldberg J (2001). Structure of the Ku heterodimer bound to DNA and its implications for double-strand break repair. *Nature*, 412 (6847): 607~614
- West CE, Waterworth WM, Jiang Q, Bray CM (2000). *Arabidopsis* DNA ligase IV is induced by gamma-irradiation and interacts with an *Arabidopsis* homologue of the double-strand break repair protein XRCC4. *Plant J*, 24 (1): 67~78
- West CE, Waterworth WM, Story GW, Sunderland PA, Jiang Q, Bray CM (2002). Disruption of the *Arabidopsis AtKu80* gene demonstrates an essential role for AtKu80 protein in efficient repair of DNA double-strand breaks *in vivo*. *Plant J*, 31 (4): 517~528
- Weterings E, Gent DC (2004). The mechanism of non-homologous end-joining: a synopsis of synapsis. *DNA Rep*, 3 (11): 1425~1435