

联会复合体——原发无精症发病中的重要角色

张 炜,张思仲,阿周存

(四川大学华西医院医学遗传研究室/生物治疗国家重点实验室,成都 610041)

摘要: 联会复合体(synaptonemal complex, SC)是一种减数分裂特异性超分子蛋白质结构,与减数分裂 I 中同源染色体的凝缩、配对、重组和分离密切相关。近年来,联会复合体的研究取得了一系列重要的进展,包括在其组成成分和功能上的一些新发现。在小鼠不育模型中联会复合体及其编码基因的异常可引起精子发生障碍。更重要的是,联会复合体编码基因之一 SCP3 单个碱基缺失导致的无精症已在人类原发不育患者中得到证实。对联会复合体基因 SCP1 的进一步研究也正在进行之中。

关键词: 联会复合体;减数分裂;原发无精症

中图分类号:R394

文献标识码:A

文章编号:0253-9772(2006)02-0231-05

Synaptonemal Complex——An Essential Role in Etiology of Idiopathic Azoospermia

ZHANG Wei, ZHANG Si-Zhong, A Zhou-Cun

(Department of Medical Genetics / State Key Laboratory of Biotherapy, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China)

Abstract: Synaptonemal complex (SC) which is a meiosis-specific supramolecular proteinaceous structure plays a crucial role in condensation, pairing, recombination and disjunction of homologous chromosomes at meiosis I. In recent years, a series of new developments on SC has been made, including new findings in both component and function of SC. Abnormalities of SC resulting from genetic mutation can directly induce arrest of spermatogenesis in rat model. More importantly, in human male patients with non-obstructive infertility the fact that genetic variation of SC (e. g. SCP3) is the causative factor of idiopathic azoospermia had been confirmed, and the investigation of SCP1 is under way.

Key words: synaptonemal complex (SC); meiosis; idiopathic azoospermia

近年来,生物医学虽在许多领域都取得了令人瞩目的进展,但男性不育仍然是全世界面临的一个重要难题。据统计,全球有大约 10%~15% 的夫妇不能通过正常的生理途径怀孕生育,而其中 20%~50% 是由于男方的原因所致^[1]。相当一部分男性不育的病因不明,这种不育称为男性原发不育,且伴有无精症或寡精症。在对男性原发不育病因的研究中

发现遗传缺陷在其中起着重要的作用。这些因素包括——性分化和发育异常,内分泌疾病,生殖细胞发生与功能障碍,染色体数目和结构异常等^[2]。其中,生殖细胞生成障碍常导致无精症或寡精症。由于生殖细胞的发生与成熟是一个极其复杂的过程,涉及众多的相关基因,一度给男性无精症的遗传学研究带来了不小的障碍。但超过 200 种不育小鼠模型的

收稿日期:2005-01-25;修回日期:2005-04-20

基金项目:国家自然科学基金(编号:30470960)与国家高科技研究发展计划(863 计划)(编号:2001AA216091)资助[Supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 30470960) and China High-tech Development Program (863 Project) (No. 2001AA216091)]

作者简介:张 炜(1975—),男,四川德阳人,硕士研究生,研究方向:医学遗传学。E-mail:zwweizhang@hotmail.com

通讯作者:张思仲(1935—),男,四川成都人,教授,博士生导师,研究方向:医学遗传学。E-mail:szhang@vip.163.com

建立,为系统研究无精症相关基因提供了有效的信息和技术平台。通过对这些小鼠模型的研究,越来越多的原发无精症相关基因已被陆续发现,并提示其人类同源基因也可能与人类男性原发无精症相关^[2~5]。不过,对于已发现的众多功能与精子发生和男性不育相关基因,尚未确定它们就是无精症的候选基因^[2,3]。

本文集中介绍在精子发生的减数分裂 I 中起重要作用的一种特殊结构——联会复合体 (synaptonemal complex, SC) 及其编码基因与原发无精症的关系。

1 联会复合体

减数分裂 (meiosis) 是一种特殊的细胞分裂形式。在减数分裂中染色体及其 DNA 复制一次,细胞连续分裂两次,结果生成单倍体的配子细胞。减数分裂分为减数分裂 I 和减数分裂 II。减数分裂 II 类似于正常的有丝分裂,而减数分裂 I 则是一个相当特殊的过程,其间姐妹染色单体并不分离,而是同源染色体分别移向细胞的两极。这一过程的完成依赖于许多精细的亚细胞结构并伴有一系列复杂的事件,包括同源染色体的配对、SC 的装配、基因重组和交叉 (chiasmata) 的形成^[6,7]。

SC 发现于约半个世纪前^[8,9],是一种呈框架状结构的蛋白质复合体,在进化上十分保守,见于绝大多数物种的减数分裂中。SC 蛋白质 (synaptonemal complex protein, SCP) 的表达具有严格的时间和空间特异性:它出现于减数分裂 I 前期的细线期 (leptotene),消失于双线期 (diplotene); SC 与染色体的凝缩,同源染色体的配对、重组以及双链断裂 (double-strand break, DSB) 的形成有关^[6,7,10,11]。正是由于 SC 在减数分裂 I 中所扮演的关键角色,因而认为它的结构和功能以及其编码基因的异常必将影响生殖细胞的正常发生,国内外均对 SC 进行了深入的研究^[6,7,10~12]。近年来,随着相关技术如电镜、电脑辅助三维重建技术、电镜断层摄影、荧光原位杂交 (fluorescence in situ hybridization, FISH)、荧光免疫细胞学 (fluorescent immunocytology) 和基因组原位杂交 (genomic in situ hybridization, GISH) 等技术的发展和运用,学者们对 SC 的形成、生化组成、超微结构、细胞内精细定位以及时空表达特异性等特点已有了比较清楚透彻的了解^[6,7,10,11]。

1.1 联会复合体的结构和蛋白质组成

SC 由两部分构成:两个平行的侧成分 (lateral element, LE) 和一个中央成分 (central element, CE);两个平行的侧成分由位于中间的中央成分连接起来构成一种类似于框架状的结构或称为拉链状结构^[10,11]。在减数分裂 I 前期的细线期早期,染色体开始凝缩,每条同源染色体的两条姐妹染色单体生成一种蛋白质样轴,称为轴成分 (axial element, AE),随着减数分裂的进行,两条同源染色体的轴成分 (AE) 由一种横纤丝 (transverse filament, TF) 连接起来,形成成熟的联会复合体 (SC),此时的轴成分 (AE) 就被称为 LE,而在横纤丝 (TF) 结构上则构成 SC 的中央成分 (CE);联会 (synapsis) 过程在减数分裂 I 前期的粗线期完成,此时一条同源染色体的四条染色单体在 SC 作用下沿着染色体的长轴紧密联系在一起,在双线期 (diplotene) SC 开始解聚,同源染色体开始分离^[11]。

对 SC 蛋白组成的研究显示,在哺乳动物,SC 蛋白 (synaptonemal complex protein, SCP) SCP2 和 SCP3 都具有结合 DNA 的基序,共同构成 SC 的 AE/LE^[13~17]。深入研究显示 SCP3 是 LE 的核心成分,它提供一种类似于分子框架的结构,供其他蛋白质如 SCP2 结合 AE/LE,同时 SCP3 还具有调节 DNA 结合,姐妹染色单体聚合,联会及重组的功能。SCP2 则主要参与 AE 结构的塑型^[15,18~20]。SCP1 构成 CE 的横纤丝结构 (TF),其中部有一较长的富含螺旋卷曲结构的区域,而两端则是一些较大的球形结构域。SCP1 通过其含螺旋卷曲结构的区域形成二聚体,这些二聚体的 C 末端连接于 LE,两个反向平行的二聚体通过其 N 末端在 SC 的中央区域相连,形成完整的横纤丝结构 (TF)^[11,13,21~24]。成熟的 SC 在重组中间产物形成成熟的交换体 (crossover) 过程中发挥重要的作用。全长的 SC 在轴向上产生一种类似于扭转限制的机制,而这种机制是介导染色体轴相互交换所必需的,同时成熟的 SC 还能起到稳定染色体配对的作用^[11,25]。

最近在 SC 组成的研究方面有了一些新的进展,一种名为 FKBP6 的蛋白质被认为是 SC 的又一种组成蛋白质,与 SCP1 协同发挥作用^[26]。FKBP 是一族具有肽基脯氨酸顺反异构酶 (PPIase) 活性的蛋白质,是免疫抑制剂 FK506 的受体蛋白^[27~29]。Xun 等在研究 Williams 综合征基因缺失时鉴定了一

种新的基因 *FKBP6*^[30]。Michael 等研究小鼠同源基因 *Fkbp6* 及 *Fkbp6* 蛋白时认为 *Fkbp6* 是 SC 的又一种组成成分, *Fkbp6* 的 mRNA 表达仅限于睾丸组织, 其部分或全部缺失直接导致小鼠精子发生障碍^[26]。

1.2 联会复合体与精子发生障碍

已经发现 SC 及其编码基因的异常可导致精子发生障碍。在研究 AE/LE 功能时发现, *Scp3* 纯合失活的雄性小鼠精母细胞中不能形成 AE/LE 及成熟的 SC, 生精过程停滞在减数分裂 I 前期的偶线期之前, 同时这些突变细胞多发生凋亡, 从而导致雄性小鼠无精症和不育, 但 *Scp3* 杂合性失活的雄性小鼠生育力不受影响^[31]。与之形成对比的是: 在缺乏 *Scp3* 的雌性小鼠虽然也不能形成 AE/LE, 但其卵细胞减数分裂基本不受影响, 仅有生育能下降和胚胎非整倍体细胞增加^[32]。

在 *Fkbp6* 基因敲除小鼠中, 雄鼠粗线期 (Pachytene) 的精母细胞中出现大量的配对错误, 成熟的精子细胞和精子缺如, 精子发生停滞在减数分裂 I 前期的粗线期之前, 异常细胞凋亡, 同时也有无精症和不育; 但除睾丸小于正常小鼠外, 尚未发现其他可能导致无精症的异常。这种人工敲除 *Fkbp6* 基因的小鼠的表现与自然突变产生的无精子 *as/as* 小鼠非常类似, 而进一步的研究发现, *as/as* 小鼠中存在 *Fkbp6* 基因第 8 外显子的缺失。这说明 *Fkbp6* 的部分或全部缺失能直接导致雄性小鼠无精^[26]。与 *Scp3*^{-/-} 雌性小鼠类似, *Fkbp6*^{-/-} 雌性小鼠也仅表现为生育能力下降而非完全不育^[26]。减数分裂异常在不同性别之间导致的配子发生的差异可能是因为不同性别特异性细胞周期检验点或关卡 (checkpoint) 的存在, 雄性生殖细胞发育过程停滞, 进而异常细胞发生凋亡, 而雌性生殖细胞发育则可以进行下去, 但非整倍体细胞增多^[26, 31, 33, 34]。比较 *Scp3*^{-/-} 和 *Fkbp6*^{-/-} 小鼠的发现: 前者精子发生停滞在偶线期之前, 而后者停滞在粗线期之前, 且不影响在减数分裂 I 前期的早期 AE 形成和联会, 这说明 *Fkbp6* 在 SC 形成及其功能中与 SCP3 不同; 并可能与监视联会过程和维持同源染色体的联会有关, 与 SCP1 有某种协同作用^[26, 31]。至今为止, SCP1 和 SCP2 的变异是否导致精子发生异常尚未见报道。

2 联会复合体与男性原发无精症

SC 在进化上的高度保守性表明它在人类生殖细胞发生过程中也可能起着关键的作用, 而通过对 SC 异常的小鼠模型的研究, 也为深入研究人类原发无精症与 SC 相关基因的关系提供了参考。学者们早已发现了在男性原发无精症患者中 SC 异常导致的减数分裂、生殖细胞发生障碍和男性不育^[35~40]。由于 *Scp3* 在雄性小鼠生精过程中所扮演的重要角色。^[31], Miyamoto 等在人类原发无精症患者中进行了该基因的突变筛查。在 19 名原发无精症患者中作者发现了 2 人 *SCP3* 基因 643A 碱基的杂合性缺失, 后者导致的移码突变使 *SCP3* 蛋白 C 端螺旋卷曲结构域的编码区域提前出现终止密码, 结果产生截短的 *SCP3*。患者的睾丸活检显示减数分裂过程受阻, 缺乏成熟精子。对截短的 *SCP3* 的进一步研究表明, 其蛋白质-蛋白质作用能力明显降低, 故作者认为 *SCP3* 基因的变异可直接导致无精症。这是至今为止证明除在小鼠模型上定点突变能引起雄性不育外, 在人类基因突变也可导致男性不育的少数例子之一。同时也是这类基因中第一个位于常染色体上的基因^[41]。Judis 等运用一些特异的用荧光素标记的抗体对一位原发无精症患者的睾丸活检组织进行分析。他们采用了显示 SC 的 *SCP3* 抗体, 显示着丝粒区域的 *CREST* 抗体, 显示交换体的一种 DNA 错配修复蛋白 (*MLH1*) 抗体, 以显示染色体的不同部位和减数分裂 I 的不同阶段; 当在荧光显微镜下直接观察患者生殖细胞在减数分裂 I 前期的全部发育过程时, 发现精子发生均停滞在粗线期之前, 未发现精子细胞和精子, 也未观察到 *SCP1* 及成熟的 SC^[42]。Sun 等运用同样的技术在另一名无精症患者中也发现了类似的改变^[43]。上述两个研究小组均认为是 *SCP1* 异常的结果^[42, 43]。此外, Xun 等在研究 Williams 综合征时不仅发现 *FKBP6* 的缺失, 同时男性 Williams 综合征患者多伴有生育障碍^[30], 而对小鼠联会复合体相关蛋白编码基因 *Fkbp6* 的进一步研究也提示 *FKBP6* 可能与人类原发无精症有关^[44]。

3 研究展望

尽管在伴有染色体异常的遗传性疾病中, 男性不育的病例并不罕见, 但至今, 有关能直接引起精子

发生异常和不育的特异性基因变异的报告仍然很少^[2]。减数分裂作为精子发生过程中一个特殊阶段一直是男性原发无精症研究中的热点,而 SC 因为其在减数分裂中所扮演的重要角色已成为研究的重点。在已知的 SC 蛋白及其编码基因中,迄今除已证实 SCP3 单碱基杂合性缺失可直接导致无精症外^[40],其他基因如 SCP1, SCP2, FKBP6 变异是否导致无精症,尚未见报道。应用免疫荧光技术及染色体表面铺展技术可直接观察生殖细胞在减数分裂 I 前期乃至整个减数分裂 I 的发育过程^[45],了解 SC 各成分有无缺失、功能是否异常以及是否存在尚未知的 SC 成分;而通过基因敲除技术构建的特异小鼠模型更可深入准确地分析这些成分及其编码基因的功能。可以相信,应用以上这些相关方法和平台以及免疫细胞遗传学技术,通过对大量无精症患者的突变筛查,SCP1 基因突变导致原发无精症将得到进一步证实,而对于 SCP2, FKBP6 的深入研究也必将得到一些新的有意义的结果,从而推动男性原发无精症致病基因及其异常的研究。

参 考 文 献 (References):

- [1] de Kretser D M. Male infertility. *The Lancet*, 1997, 349: 787~790.
- [2] Matzuk M M, Lamb D J. Genetic dissection of mammalian fertility pathway. *Nat Med*, 2002, 8 (Suppl. 1): 41~49.
- [3] Vogt P H. Molecular genetics of human male infertility: from genes to new therapeutic perspectives. *Curr Pharm Des*, 2004, 10 (5): 471~500.
- [4] Scherthan H. Knockout mice provide novel insights into meiotic chromosome and telomere dynamics. *Cytogenet Genome Res*, 2003, 103(3~4): 235~244.
- [5] de Rooij D G, de Boer P. Specific arrests of spermatogenesis in genetically modified and mutant mice. *Cytogenet Genome Res*, 2003, 103(3~4): 267~276.
- [6] Roeder G S. Meiotic chromosomes: it takes two to tango. *Gene Dev*, 1997, 11: 2600~2621.
- [7] Zickler D, Kleckner N. Meiotic chromosomes: integrating structure and function. *Annu Rev Genet*, 1999, 33: 603~754.
- [8] Fawcett D W. The fine structure of chromosomes in the meiotic prophase of vertebrate spermatocytes. *J Biophys Biochem Cytol*, 1956, 2 (4): 403~406.
- [9] Moses M J. Chromosomal structures in crayfish spermatocytes. *J Biophys Biochem Cytol*, 1956, 2 (2): 215~218.
- [10] Heyting C. Synaptonemal complex: structure and function. *Curr Opin Cell Biol*, 1996, 8: 389~396.
- [11] Page S L, Hawley R S. The genetics and molecular biology of the synaptonemal complex. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 2004, 20: 525~558.
- [12] LIN Ya-Kang. Advances in researches on synaptonemal complex. *Chinese Journal of Cell Biology*, 1995, 17(1): 22~26. 林亚康. 联合复合体的研究进展. *细胞生物学杂志*, 1995, 17(1): 22~26.
- [13] Dobson M J, Pearlman R E, Karaiskakis A, Spyropoulos B, Moens P B. Synaptonemal complex protein: occurrence, epitope mapping and chromosome disjunction. *J Cell Sci*, 1994, 107: 2749~2760.
- [14] Lammers J H, Offenbergh H H, van Aalderen M, Vink A C, Dietrich A J, Heyting C. The gene encoding a major component of the lateral elements of synaptonemal complex of the rat is related to X-linked lymphocyte-regulated genes. *Mol Cell Biol*, 1994, 14: 1137~1146.
- [15] Offenbergh H H, Schalk J A, Meuwissen R L, van Aalderen M, Kester H A, Dietrich A J, Heyting C. SCP2: a major protein components of the axial elements of synaptonemal complexes of the rat. *Nucleic Acids Res*, 1998, 26(11): 2572~2579.
- [16] Schalk J A, Dietrich A J, Vink A C, Offenbergh H H, van Aalderen M, Heyting C. Localization of SCP2 and SCP3 protein molecules within synaptonemal complexes of the rat. *Chromosoma*, 1998, 107: 540~548.
- [17] Schalk J A, Offenbergh H H, Peters E, Groot N P, Hoovers J M, Heyting C. Isolation and characterization of the human SCP2 cDNA and chromosomal localization of the gene. *Mamm Genome*, 1999, 10: 642~644.
- [18] Yuan L, Pelttari J, Brundell E, Bjorkroth B, Zhao J, Liu J G, Brismar H, Daneholt B, Hoog C. The synaptonemal complex protein SCP3 can form multistranded, cross-striated fibers in vivo. *J Cell Biol*, 1998, 142: 331~339.
- [19] Pelttari J, Hoja M R, Yuan L, Liu J G, Brundell E, Moens P, Santucci-Darmanin S, Jessberger R, Barbero J L, Heyting C, Hoog C. A meiotic chromosomal core consisting of cohesion complex proteins recruits DNA recombination proteins and promotes synapses in the absence of an axial element in mammalian meiotic cells. *Mol Cell Biol*, 2001, 21(16): 5667~5677.
- [20] Liebe B, Alsheimer M, Hoog C, Benavente R, Scherthan H. Telomere attachment, meiotic chromosome condensation, pairing, and bouquet stage duration are modified in spermatocytes lacking axial elements. *Mol Biol Cell*, 2004, 15(2): 827~837.
- [21] Meuwissen R L, Offenbergh H H, Dietrich A J, Riesewijk A, van Iersel M, Heyting C. A coiled-coil related protein specific for synapsed regions of meiotic prophase chromosomes. *EMBO J*, 1992, 11: 5091~5100.
- [22] Liu J G, Yuan L, Brundell E, Bjorkroth B, Daneholt B, Hoog C. Localization of the N-terminus of SCP1 to the central element of the synaptonemal complex and evidence for direct interactions between the N-termini of SCP1 molecules organized head-to-head. *Exp Cell Res*, 1996, 226: 11~19.

- [23] Schmekel K, Meuwissen R L, Dietrich A J, Vink A C, van Marle J, van Veen H, Heyting C. Organization of SCP1 Protein Molecules within Synaptonemal Complexes of the Rats. *Exp Cell Res*, 1996, 226: 20~30.
- [24] Meuwissen R L, Meerts I, Hoovers J M, Leschot N J, Heyting C. Human synaptonemal complex protein 1 (SCP1): isolation and characterization of the cDNA and chromosomal localization of the gene. *Genomics*, 1997, 39: 377~384.
- [25] Borner G V, Kleckner N, Hunter N. Crossover/noncrossover differentiation, synaptonemal complex formation and regulatory surveillance at the leptotene/zygotene transition of meiosis. *Cell*, 2004, 117: 29~45.
- [26] Crackower M A, Kolas N K, Noguchi J, Sarao R, Kikuchi K, Kaneko H, Kobayashi E, Kawai Y, Kozieradzki I, Landers R, Mo R, Hui C C, Nieves E, Cohen P E, Osborne L R, Wada T, Kunieda T, Moens P B, Penninger J M. Essential role of Fkbp6 in male fertility and homologous chromosome pairing in meiosis. *Science*, 2003, 300: 1291~1295.
- [27] Harding M W, Galat A, Uehling D E, Schreiber S L. A recaptor for the immunosuppressant FK506 is a *cis-trans* peptidyl-prolyl isomerase. *Nature*, 1989, 341: 758~760.
- [28] Siekierka J J, Hung S H, Poe M, Lin C S, Sigal N H. A cytosolic binding protein for the immunosuppressant FK506 has peptidyl-prolyl isomerase activity but is distinct from cyclophilin. *Nature*, 1989, 341: 755~757.
- [29] Galat A. Sequence diversification of the FK506-binding protein in several different genomes. *Eur J Biochem*, 2000, 267: 4945~4959.
- [30] Meng X, Lu X, Morris C A, Keating M T. A novel human gene *FKBP6* is deleted in Williams syndrome. *Genomics*, 1998, 52: 130~137.
- [31] Yuan L, Liu J G, Zhao J, Brundell E, Daneholt B, Hoog C. The murine SCP3 gene is required for synaptonemal complex assembly, chromosome synapsis and male fertility. *Mol Cell*, 2000, 5: 73~83.
- [32] Yuan L, Liu J G, Hoja M R, Wilbertz J, Nordqvist K, Hoog C. Female germ cell aneuploidy and embryo death in mice lacking the meiosis-specific protein SCP3. *Science*, 2002, 296: 1115~1118.
- [33] Hunt P A, Hassold T J. Sex matters in meiosis. *Science*, 2002, 296: 2181~2183.
- [34] Odorisio T, Rodriguez T A, Evans E P, Clarke A R, Burgoyne P S. The meiotic checkpoint monitoring synapsis eliminates spermatocytes via p53-independent apoptosis. *Nat Gen*, 1998, 18: 257~261.
- [35] Chaganti R S, German J. Human male infertility, probably genetically determined, due to defective meiosis and spermatogenic arrest. *Am J Hum Genet*, 1979, 31(5): 634~641.
- [36] Chaganti R S, Jhanwar S C, Ehrenbard L T, Kourides I A, Williams J J. Genetically determined asynapsis, spermatogenic degeneration, and infertility in men. *Am J Hum Genet*, 1980, 32(6): 833~848.
- [37] Navarro J, Vidal F, Templado C, Benet J, Marina S, Pomerol J M, Egozcue J. Meiotic chromosome studies and synaptonemal complex analyses by light and electron microscopy in 47 infertile or sterile males. *Hum Reprod*, 1986, 1(8): 523~527.
- [38] Speed R M, Chandley A C. Prophase of meiosis in human spermatocytes analysed by EM microspreading in infertile men and their controls and comparisons with human oocytes. *Hum Gene*, 1990, 84(6): 547~554.
- [39] Lange R, Krause W, Engel W. Analysis of meiotic chromosomes in testicular biopsies of infertile patients. *Hum Reprod*, 1997, 12(10): 2154~2158.
- [40] LIU Jing-Yu, WANG Xiao-Ran, ZENG Xian-Lu, SONG Yun-Chun. Synaptonemal complexes analysis in male fertility impairment in two men. *Hereditas* (Beijing), 2004; 26(1): 13~17. 刘静宇, 王晓然, 曾宪录, 宋运淳. 2例男性育性障碍患者的联会复合体分析. *遗传*, 2004, 26(1): 13~17.
- [41] Miyamoto T, Hasuike S, Yogev L, Maduro M R, Ishikawa M, Westphal H, Lamb D J. Azoospermia in patients heterozygous for a mutation in *SCP3*. *The Lancet*, 2003, 362: 1714~1719.
- [42] Judis L, Chan E R, Schwartz S, Seftel A, Hassold T. Meiosis I arrest and azoospermia in an infertile male explained by failure of formation of a component of the synaptonemal complex. *Fertil Steril*, 2004, 81: 205~209.
- [43] Sun F, Kozak G, Scott S, Trpkov K, Ko E, Mikhaail-Philips M, Bestor T H, Moens P, Martin R H. Meiotic defects in a man with non-obstructive azoospermia; case report. *Hum Reprod*, 2004, 19(8): 1770~1773.
- [44] Noguchi J, Kobayashi E, Akiyama K, Kawai Y, Ozawa M, Ohnuma K, Kikuchi K, Kaneko H, Kunieda T. Fine mapping of a region of rat chromosome 12 close to the aspermia(as) locus and comparison with the human orthologous regions. *Exp Anim*, 2004, 53(5): 429~435.
- [45] Lynn A, Koehler K E, Judis L, Chan E R, Cherry J P, Schwartz S, Seftel A, Hunt P A, Hassold T J. Covariation of synaptonemal complex length and mammalian meiotic exchange rates. *Science*, 2002, 296: 2222~2225.