

水稻双着丝粒染色体有性繁殖过程中的遗传稳定性

龚志云^{†*}, 刘秀秀[†], 张明亮, 薛超, 于恒秀, 裔传灯, 顾铭洪

扬州大学江苏省作物遗传生理重点实验室, 教育部植物功能基因组学重点实验室, 扬州 225009

[†] 同等贡献

* 联系人, E-mail: zygong@yzu.edu.cn

2013-05-28 收稿, 2013-07-04 接受, 2013-10-17 网络版发表

国家自然科学基金(30600345)、霍英东教育基金会第十三届高等院校青年教师基金(131030)和江苏省研究生科研创新计划(CXLX12_0922)资助

摘要 T0135 是 2009 年从中籼 3037 第 11 染色体短臂端三体($2n+11S$)自交后代中发现的形态变异株. 选用第 11 号染色体着丝粒区域的特异分子细胞学标记 5S rDNA 进行染色体荧光原位杂交(fluorescent *in situ* hybridization, FISH)分析, 发现 T0135 是第 11 染色体短臂双着丝粒染色体. 为了研究该双着丝粒染色体有性繁殖过程中的遗传稳定性, 对 T0135 有性繁殖后代进行 FISH 分析, 观察后代中染色体类型并进行统计, 发现后代染色体类型与亲本类型相同的占 94%, 即双着丝粒染色体能进行正常的减数分裂, 通过着丝粒特异组蛋白(centromere specific histone H3, CENH3)免疫检测确定在双着丝粒染色体中只有一个有 CENH3 信号, 说明该双着丝粒材料中只有一个行使正常功能的着丝粒, 另外一个着丝粒处于失活状态.

关键词

水稻
双着丝粒染色体
FISH
CENH3
有性繁殖

着丝粒是真核生物染色体重要的结构与功能元件, 不仅每条染色体必须有着丝粒, 而且每条染色体只能有一个功能着丝粒^[1], 才能保证染色体在有丝分裂与减数分裂中的正常传递, 以维持物种染色体组成的稳定性. 着丝粒是由 DNA 和蛋白质组成的复合体. 着丝粒 DNA 序列进化速率极高, 在不同物种中, 组成着丝粒的 DNA 序列是没有同源性的^[2,3]. 除芽殖酵母的着丝粒由 125 bp 左右的特异 DNA 序列构成^[4,5]以外, 大多数生物的着丝粒均由高度重复的 DNA 序列构成^[6-10], 这些重复单元在每条染色体上拷贝数也不同, 最多的染色体上可以达到几兆碱基, 而最少的染色体上只有几万碱基, 并且在这些重复序列间或插入一些逆转座子成分, 一起组成着丝粒特异 DNA 序列.

与着丝粒 DNA 的快速进化相反, 着丝粒区域另外一个重要组成成分着丝粒特异蛋白在真核生物中

相对保守^[11,12]. 最新研究表明, 与着丝粒 DNA 结合的蛋白有 50 多种^[13], 目前研究最清楚的是着丝粒特异组蛋白 H3(centromere specific histone H3, CENH3), CENH3 决定动粒组装位置, 仅存在于活性着丝粒中^[11,14-19]. 在果蝇和老鼠中, 当 CENH3 缺失时, 染色体不能正常传递^[20,21]. 因此, CENH3 是真核生物内动粒的基本组成成分之一, 是功能着丝粒的基础, 也是活性着丝粒的识别标记.

在真核生物中, 染色体重排会导致产生双着丝粒染色体. 双着丝粒染色体的行为首先由 McClintock^[22,23]在玉米中阐述, 认为它们本质上是不稳定的, 经常发生连续两轮后期桥的形成和断裂, 并且在后代中没有发现双着丝粒染色体的存在. 但近年来在小麦、玉米中都有双着丝粒染色体的报道^[24-27], 这种双着丝粒染色体在大多数情况下可以正常传递下去. 虽然目前对于双着丝粒染色体能正常传递的

引用格式: 龚志云, 刘秀秀, 张明亮, 等. 水稻双着丝粒染色体有性繁殖过程中的遗传稳定性. 科学通报, 2013, 58: 3409-3415

英文版见: Gong Z Y, Xue C, Liu X X, et al. Centromere inactivation in a dicentric rice chromosome during sexual reproduction. Chin Sci Bull, 2013, 58: 4602-4607, doi: 10.1007/s11434-013-6061-2

机理不是非常清楚,但有研究表明其与 CENH3 有密切关系^[28].另外在哺乳动物中也有双着丝粒染色体存在,其在有丝分裂中是相当稳定的^[29].人类的双着丝粒染色体可通过减数分裂传递^[30,31],这种现象是由于其中一个着丝粒失活^[32].

水稻是世界上重要的粮食作物之一,同时也是单子叶植物的模式生物.近年来随着水稻全基因组测序的完成,对水稻各染色体组中不同染色体着丝粒的组成也进行了深入分析,其中栽培稻的着丝粒由串联重复序列组成,重复单元为 155 bp 的 CentO,另外还有插入到该串联重复序列中或者分布其两侧的着丝粒特异逆转座序列 CRR (centromere-specific retrotransposon of rice)^[10],由 CentO 构成的串联重复序列是每一着丝粒的核心.12条染色体上的 CentO 拷贝数有很大差别,从 60 kb 到 2 Mb 不等^[10].但是通过与水稻 CENH3 结合的荧光免疫反应研究表明,水稻每一着丝粒结合的 CENH3 是十分相近的,说明不同染色体着丝粒功能 DNA 结合区域是特定的^[33].目前在水稻中还没有双着丝粒染色体的报道.

本实验室在多年研究水稻非整倍体过程中,分离并获得第 11 染色体双着丝粒染色体(T0135).为了明确该双着丝粒染色体的行为和传递稳定性,我们对 T0135 进行分子细胞学分析,以探明该双着丝粒染色体在水稻有性繁殖过程中遗传稳定性.

1 材料与方法

(i) 试验材料. 试验于 2012 年在扬州大学实验农场进行. T0135 是 2009 年从中粳 3037 第 11 染色体短臂端三体($2n+11S$)自交后代中发现的形态变异株.

(ii) 根尖染色体制备. 取新鲜根尖置于 0.002 mol/L 的 8-羟基喹啉中,在 20℃ 下处理 2 h. 用卡诺固定液(甲醇:冰醋酸=3:1)清洗 3 次后再用固定液固定,室温下处理 24 h. 将固定后的材料置于-20℃ 中备用. 从固定液中取出固定好的根尖,用蒸馏水清洗 3 次. 切取 2 mm 左右的白色根尖部位置于酶解液(2%纤维素酶与 1%果胶酶),37℃ 酶解 70~90 min. 酶解完全的根尖经固定液清洗 2 次后,用固定液再次固定 5 min 以上,可置于-20℃ 冷却待用. 将充分冰冻的根尖取出,置于一张载玻片上,滴加适量固定液于根尖上. 用镊子迅速敲碎根尖,再在载玻片上滴加少量固定液,于酒精灯上点燃,使其充分燃烧,斜置载玻片晾

干待用.

(iii) 染色体荧光原位杂交(fluorescent *in situ* hybridization, FISH)分析. 取已酶解好的根尖,敲片. 加入 70%甲酰胺 50 μ L, 盖上盖玻片. 将玻片置于 95℃ 的杂交炉中 1 min 45 s. 取出置于 70%的乙醇中,振荡脱色 5 min, 然后分别置于 90%, 100%乙醇中振荡脱色各 5 min, 取出晾干. 配置杂交液(含水稻第 11 号染色体着丝粒区域特异探针 5S rDNA), 100℃ 水浴 5 min, 然后置于冰中 5 min 以上. 每玻片滴加 20 μ L 杂交液, 置于杂交盒中, 放入 37℃ 恒温箱过夜处理. 取出后用 1×PBS(磷酸缓冲液)振荡脱色 3 次, 每次 5 min. FISH 信号通过抗地高辛抗体偶联罗丹明偶联物(anti-digoxigenin-rhodamine)或抗生物素抗体(avidin-fluorescein)检测, 染色体用 DAPI (4',6-diamidino-2-phenylindole)染色. Olympus BX60 镜检中获得清晰图像后, 以气冷式数码相机(CCD, Olympus DP80)摄像.

(iv) 蛋白质抗体免疫荧光检测. 采集 T0135 新鲜根尖, 用 4%(w/v)多聚甲醛室温固定 40 min, 切取 1 mm 左右的根尖置于酶解液中, 37℃ 保温 30 min 后用蒸馏水洗涤后将根尖取出放于载玻片上, 滴 1 滴 1×PBS, 将根尖捣碎后加盖玻片, 压片; 压好的载玻片迅速放于液氮中冷冻 2~3 min, 用刀片迅速揭去盖玻片后自然晾干. 向每张载玻片上滴加 20 μ L 含有 anti-CENH3 抗体的 1×TNB 溶液, 盖上盖玻片, 放入湿盒内于 37℃ 保温过夜; 1×PBS 洗片 3 次, 每次 5 min, 加 50 μ L 含有 Goat anti rabbit 568 抗体(Invitrogen)的 1×TNB 溶液, 放入湿盒内于 37℃ 避光保温 60 min; 1×PBS 洗片 3 次, 每次 5 min, 晾干后, 加 10 μ L 含有 DAPI 的抗褪色剂, 盖上盖玻片, 在 Olympus BX60 荧光显微镜下观察拍照.

2 结果与分析

2.1 T0135 的获得及分子细胞学鉴定

T0135 是从水稻品种中粳 3037(图 1(a))第 11 染色体短臂端三体($2n+11S$)^[34]自交后代中发现的形态变异株. 与正常中粳 3037 相比, 该材料田间性状表现为植株矮小、叶色深, 结实率为 34.5%(图 1(d)). 对其进行细胞学鉴定, 表明该变异株体细胞中有 26 条染色体, 比正常中粳 3037 多 2 条. 5S rDNA 是水稻第 11 染色体特异分子细胞学标记^[35]. FISH 分析表明, 该标记与水稻着丝粒特异 DNA 序列 CentO 在第 11

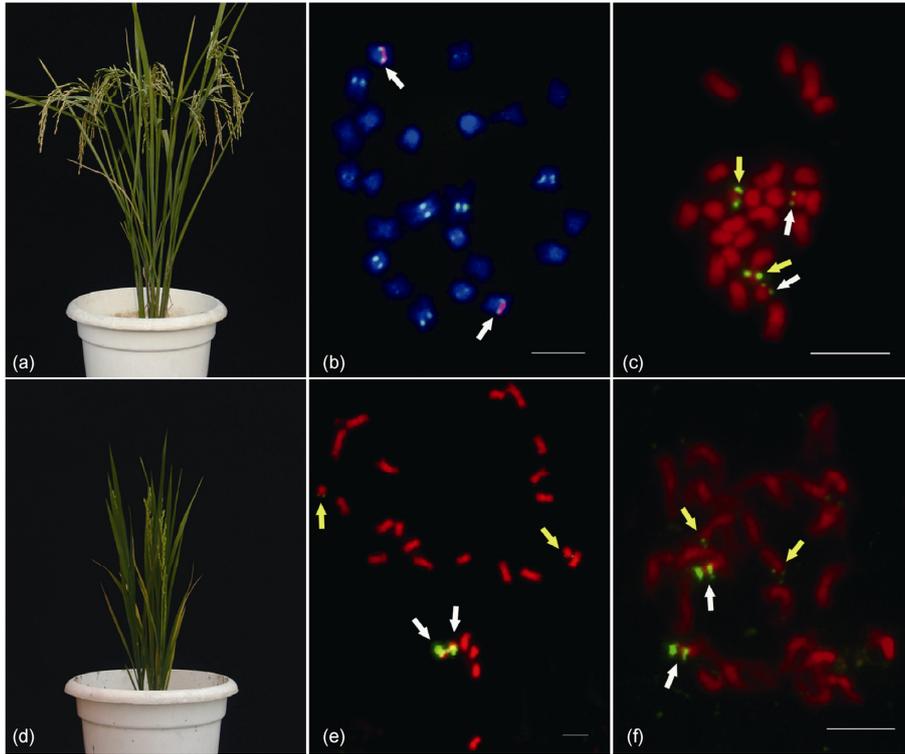


图 1 正常中粳 3037 和双着丝粒材料 T0135 植株形态及 FISH 分析

图中染色体用 DAPI 染色，所有标尺均为 5 μm。 (a) 正常中粳 3037 植株形态； (b) 正常株有丝分裂中期染色体，绿色为 CentO，红色为 5S rDNA，箭头指示第 11 染色体(11L·11S)； (c) 第 11 染色体发生断裂植株有丝分裂中期染色体，绿色为 5S rDNA，白色箭头指示第 11 染色体长臂(11L·)，黄色箭头指示第 11 染色体短臂(11S·)； (d) 变异株 T0135 植株形态； (e) 变异株 T0135 有丝分裂中期染色体，绿色为 5S rDNA，白色箭头指示第 11 染色体短臂的双着丝粒染色体(11S·11S·)，黄色箭头指示第 11 染色体长臂(11L·)； (f) 变异株 T0135 有丝分裂前中期染色体，绿色为 5S rDNA，白色箭头指示第 11 染色体短臂的双着丝粒染色体(11S·11S·)，黄色箭头指示第 11 染色体长臂(11L·)

染色体着丝粒区域重叠在一起(图 1(b))，并且 5S rDNA 靠近短臂端，在第 11 染色体发生着丝粒断裂形成 2 个端着丝粒染色体中，第 11 染色体的长臂(11L·)上 5S rDNA 信号较弱(图 1(c)，白色箭头所示)，第 11 染色体的短臂(11S·)上 5S rDNA 信号较强(图 1(c)，黄色箭头所示)，所以我们利用 5S rDNA 作为标记既可以区别第 11 染色体的着丝粒区域，又可以区别 11L·和 11S·。

用 digoxigenin-11-dUTP 标记的 5S rDNA 与 T0135 体细胞染色体进行原位杂交，再以 anti-digoxigenin-rhodamine 检测表明，在 T0135 的体细胞中，共有 2 对染色体上有杂交信号，其中一对较弱的信号位于一对染色体的端部(图 1(e)和(f)，黄色箭头所示)，说明这是一对第 11 号染色体长臂(11L·)；另外一对染色体上，每条染色体有 2 对较强的杂交信号，并且其中一对位于染色体的末端(图 1(e)和(f)，白色箭头所示)，

说明这对染色体由第 11 号染色体短臂(11S·)组成，并且每一条染色体有 2 个着丝粒区域(图 2)，表明 T0135 为双着丝粒染色体材料，为了清楚表示该材料中第 11 染色体变异后组成，我们用 11L·+11L·+11S·11S·+11S·11S·来表示。

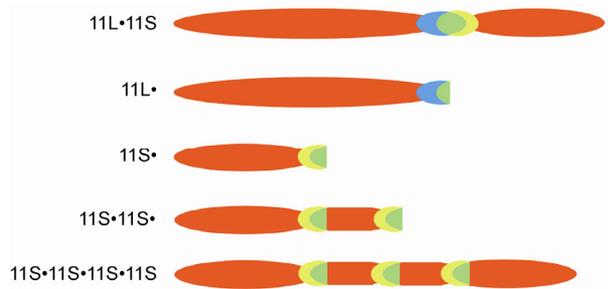


图 2 第 11 染色体各种变异类型模式图
蓝色为 CentO；黄色为 5S rDNA

2.2 双着丝粒材料的 CENH3 免疫荧光鉴定

在活性着丝粒中, CENH3 是真核生物内着丝粒的根本特征, 可作为功能着丝粒的识别标记. 为了确定 T0135 中双着丝粒是否都具有功能着丝粒的功能, 我们对 T0135 的根尖细胞进行了 CENH3 的免疫荧光分析.

在 CENH3 的免疫荧光鉴定中, 正常染色体在着丝粒区域有一对红色信号(图 3(a)和(b), 蓝色箭头所示), 所以如果双着丝粒染色体 2 个着丝粒区域都有功能, 那么会出现 2 对 CENH3 检测信号. 由于 T0135 中双着丝粒染色体是端着丝粒染色体, 我们发现 2 对染色体的 CENH3 信号位于染色体末端(图 3(a), 白色和黄色箭头所示), 但是在 4 条端着丝粒染色体上分别只有 1 对 CENH3 信号. 因为 T0135 材料 4 条端着丝粒染色体分别为 2 个 11L·和 2 条 11S·11S·. 这表明 11 号双着丝粒染色体中其中一个着丝粒只含有着丝粒 DNA 而不具有 CENH3, 也就是不具有正常着丝粒功能, 说明该双着丝粒染色体只有一个有功能的着丝粒区域, 而另外一个虽然含有着丝粒 DNA, 但是处于失活状态.

2.3 双着丝粒材料的有性繁殖后代的分子细胞学鉴定

以上分析结果表明, 双着丝粒染色体只有一个着丝粒发挥功能, 那么它的分裂行为是不是正常的? 对 T0135 的有性繁殖后代进行了形态观察和分子细胞学鉴定的结果如表 1 所示, 可以看出, 在所调查的

168 株有性繁殖后代中, 根据 5S rDNA 信号可以分为 4 种类型:

(1) 植株形态与亲本相似, 进一步以 5S rDNA 作为探针进行体细胞染色体 FISH 分析, 共有 2 对染色体上有杂交信号, 其中一对较弱的信号位于一对染色体的端部, 说明这是一对第 11 号染色体长臂(11L·); 另外一对染色体上, 每条染色体有 2 对较强的杂交信号, 并且其中一对位于染色体的末端, 说明这对染色体由第 11 号染色体短臂(11S·)组成, 并且每一条染色体有 2 个着丝粒区域, 表明该子代类型的杂交信号与亲代相同, 为 11S·11S·+11S·11S·+11L·+11L·. 在调查的 168 株后代中, 属于这种类型的个体数为 158 株, 占总个体数的比例为 94.0%.

(2) 株型较亲本 T0135 矮小, 结实率为 17%(图 4(a)), 进一步用 digoxigenin-11-dUTP 标记的 5S rDNA 与该类型植株体细胞染色体进行原位杂交, 再以 anti-digoxigenin-rhodamine 检测发现, 共有 3 条染色体上有杂交信号, 其中一对较弱的信号位于一对染色体的端部, 说明这是一对第 11 号染色体长臂(11L·; 图 4(d), 黄色箭头所示); 另外一条染色体上有 2 对较强的杂交信号, 并且其中一对位于染色体的末端, 说明该染色体由第 11 号染色体短臂组成, 并且有 2 个着丝粒区域(图 4(d), 白色箭头所示), 表明该子代染色体类型为 11S·11S·+11L·+11L·. 此子代染色体类型与亲本染色体类型相比, 缺少一条 11S·11S·的双着丝粒染色体. 属于这种类型的个体数为 6 株, 占总个体数的比例为 3.6%.

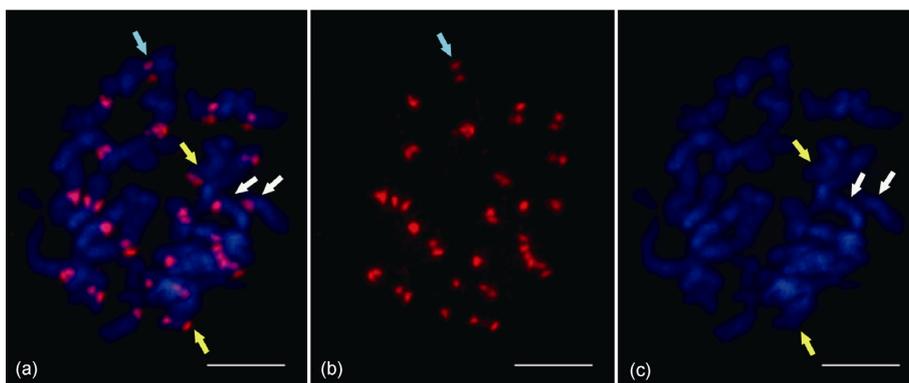


图 3 T0135 有丝分裂过程中 CENH3 蛋白免疫鉴定分析

染色体用 DAPI 染色, 所有标尺均为 5 μm . (a) CENH3 蛋白抗体在有丝分裂前中期染色体上的信号分布图, 红色为 CENH3 的信号, 白色和黄色箭头指示有信号的 2 对端着丝粒染色体(11L·和 11S·11S·), 蓝色箭头指示正常染色体; (b) (a)图的信号分布图; (c) (a)图的染色体图, 箭头指示有信号的 2 对端着丝粒染色体(11L·和 11S·11S·)

表 1 T0135 有性繁殖后代分离类型、比例及形态特征

染色体类型	个体数	出现频率(%)	形态特征
11S·11S+ 11S·11S+11L+11L·	158	94.0	植株矮小、叶片深, 结实率为 30.5%
11S·11S+11L+11L·	6	3.6	植株稍矮, 结实率为 17%
11S·11S·11S·11S+ 11S·11S+11L+11L·	3	1.8	植株矮小, 结实率为 1%
11S·11S+11S+11L+11L·	1	0.6	株高正常, 结实率为 10.5%

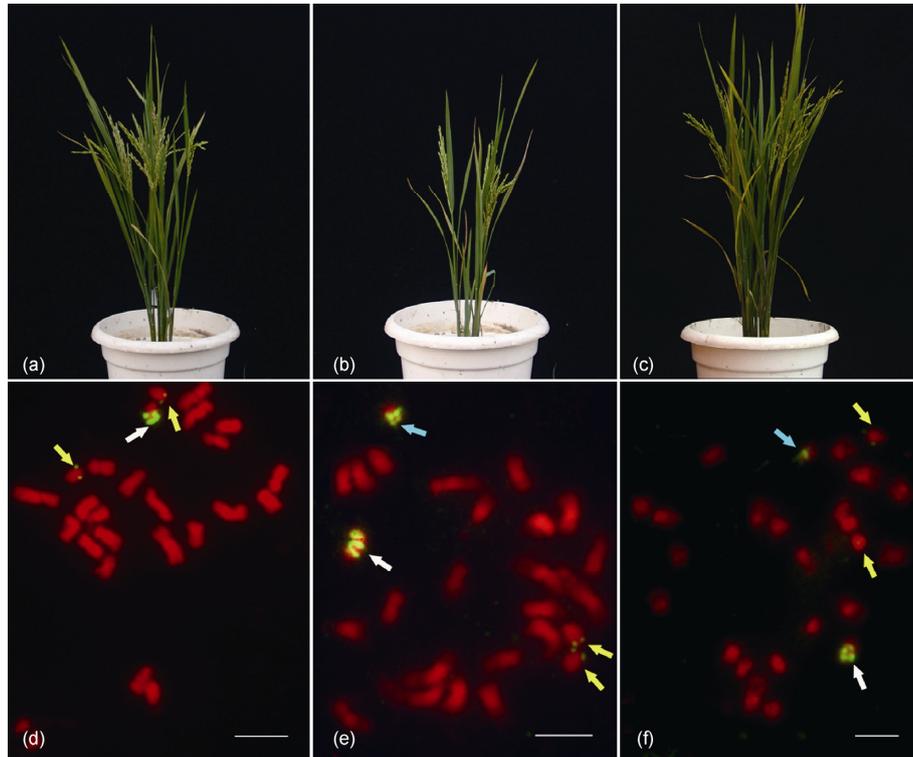


图 4 T0135 有性繁殖后代植株形态及 FISH 分析

染色体用 DAPI 染色, 所有标尺均为 5 μm. (a) T0135 有性繁殖后代中染色体类型为 11S·11S+11L+11L·的植株形态; (b) T0135 有性繁殖后代染色体类型为 11S·11S·11S·11S+11L+11L·的植株形态; (c) T0135 有性繁殖后代染色体类型为 11S·11S+11S+11L+11L·的植株形态; (d) 染色体类型为 11S·11S+11L+11L·植株的有丝分裂前中期染色体, 绿色为 5S rDNA, 白色箭头指示第 11 染色体短臂的双着丝粒染色体(11S·11S·), 黄色箭头指示第 11 染色体长臂的端着丝粒染色体(11L·); (e) 染色体类型为 11S·11S·11S·11S+11L+11L·植株的有丝分裂前中期染色体, 绿色为 5S rDNA, 蓝色箭头指示第 11 染色体短臂的双着丝粒染色体(11S·11S·), 白色箭头指示第 11 染色体短臂的三着丝粒染色体(11S·11S·11S·), 黄色箭头指示第 11 染色体长臂的端着丝粒染色体(11L·); (f) 染色体类型为 11S·11S+11S+11L+11L·植株的有丝分裂前中期染色体, 绿色为 5S rDNA, 白色箭头指示第 11 染色体短臂的双着丝粒染色体(11S·11S·), 蓝色箭头指示第 11 染色体短臂的端着丝粒染色体(11S·), 黄色箭头指示第 11 染色体长臂的端着丝粒染色体(11L·)

(3) 株型较亲本 T0135 更加矮小, 结实率为 1%(图 4(b)), 进一步用 digoxigenin-11-dUTP 标记的 5S rDNA 与该类型植株体细胞染色体进行原位杂交, 再以 anti-digoxigenin-rhodamine 检测, 发现 4 条染色体上有杂交信号, 其中一对较弱的信号位于一对染色体的端部, 说明这是一对第 11 号染色体长臂(11L·; 图 4(e), 黄色箭头所示); 另外一条染色体上有 2 对较

强的杂交信号, 并且其中一对位于染色体的末端, 说明该染色体由第 11 号染色体短臂(11S·)组成, 并且有 2 个着丝粒区域(图 4(e), 蓝色箭头所示), 该染色体模型为 11S·11S·; 第 4 条染色体上有 3 对较强的杂交信号(图 4(e), 白色箭头所示), 并且均不位于染色体末端, 该染色体模型如图 2 所示, 为 11S·11S·11S·11S·. 所以该子代染色体类型为 11S·11S·11S·11S+11S·

11S·+11L·+11L·. 此子代染色体类型与亲本染色体类型相比, 在一条染色体上多了一段 11S·11S·的片段, 成为三着丝粒染色体. 属于这种类型的个体数为 3 株, 占总个体数的比例为 1.8%.

(4) 株高正常, 结实率为 10.5%(图 4(c)), 进一步用 digoxigenin-11-dUTP 标记的 5S rDNA 与该类型植株体细胞染色体进行原位杂交, 再以 anti-digoxigenin-rhodamine 检测发现, 共有 4 条染色体上有杂交信号, 其中一对较弱的信号位于一对染色体的端部, 说明这是一对第 11 号染色体长臂(11L·; 图 4(f), 黄色箭头所示); 另外一条染色体上有 2 对较强的杂交信号, 并且其中一对位于染色体的末端, 说明该染色体由第 11 号染色体短臂(11S·)组成, 并且有 2 个着丝粒区域(图 4(f), 白色箭头所示), 该染色体模型为 11S·11S·; 第 4 条染色体只有一对较强的杂交信号, 并且位于染色体末端(图 4(e), 蓝色箭头所示), 说明该染色体为第 11 号染色体短臂(11S·). 所以该子代染色体类型为 11S·11S·+11S·+11L·+11L·. 属于该类型的个体数为 1 株, 占总个体数的比例为 0.6%.

3 讨论

尽管 McClintock^[22,23]首次报道在玉米中双着丝粒染色体的不稳定性, 在减数分裂过程中由于双着丝粒的存在会导致染色体的错分离, 而使双着丝粒

染色体不能稳定传递下去. 但近几年来关于双着丝粒染色体相继在玉米、小麦^[24-27]中报道, 认为双着丝粒染色体在大多数情况下是稳定的. 这种稳定性主要是由于双着丝粒染色体中只有一个着丝粒发挥作用, 仍然执行的是单着丝粒的功能. 本研究中所获得的水稻双着丝粒染色体在有性繁殖过程中 94% 的后代中是稳定遗传的, 这与在玉米、小麦中双着丝粒染色体行为一致的^[26]. 另外, 本研究中发现这种稳定遗传主要是由于双着丝粒染色体中虽然两个着丝粒区域都含有着丝粒 DNA 序列, 但通过 CENH3 的蛋白免疫检测发现只有一个着丝粒有 CENH3 的信号存在, 并且在本研究中我们发现 CENH3 的信号均位于双着丝粒染色体的末端的着丝粒上. Zhang 等人^[27]曾报道在小麦中存在三着丝粒染色体材料, 其中 2 个着丝粒在染色体上的位置很靠近, 并且有较弱的 CENH3 信号, 但这种含有较弱 CENH3 信号的着丝粒往往是失活的, 说明功能性着丝粒区域 CENH3 的有无和含量都决定着丝粒的正常功能. 本研究中发现双着丝粒染色体的有性繁殖后代中有 94% 的植株中保持与亲代一致的双着丝粒类型, 但在 6% 的子代中染色体类型发生改变, 推测双着丝粒染色体在大多数情况下是稳定遗传的, 但在少数情况可能会发生染色体的不对等交换, 而产生其他的染色体类型, 其原因有待进一步研究.

参考文献

- Allshire R C, Karpen G H. Epigenetic regulation of centromeric chromatin: Old dogs, new tricks? *Nat Rev Genet*, 2008, 9: 923-937
- Malik H S, Henikoff S. Major evolutionary transitions in centromere complexity. *Cell*, 2009, 138: 1067-82
- Lefrançois P, Auerbach R K, Yellman C M, et al. Centromere-like regions in the budding yeast genome. *PLoS Genet*, 2013, 9: e1003209
- Clarke L. Centromeres: Proteins, protein complexes, and repeated domains at centromeres of simple eukaryotes. *Curr Opin Genet Dev*, 1998, 8: 212-218
- Cheeseman I M, Drubin D G, Barnes G. Simple centromere, complex kinetochore: Linking spindle microtubules and centromeric DNA in budding yeast. *J Cell Biol*, 2002, 157: 199-203
- Schueler M G, Higgins A W, Rudd M K, et al. Genomic and genetic definition of a functional human centromere. *Science*, 2001, 294: 109-115
- Sun X, Le H D, Wahlstrom J M, Karpen G H. Sequence analysis of a functional *Drosophila* centromere. *Genome Res*, 2003, 13: 182-194
- Ananiev E V, Phillips R L, Rines H W. Chromosome-specific molecular organization of maize (*Zea mays* L.) centromeric regions. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, 95: 13073-13078
- Kamm A, Galasso I, Schmidt T, et al. Analysis of a repetitive DNA family from *Arabidopsis arenosa* and relationships between *Arabidopsis* species. *Plant Mol Biol*, 1995, 27: 853-862
- Cheng Z, Dong F, Langdon T, et al. Functional rice centromeres are marked by a satellite repeat and a centromere-specific retrotransposon. *Plant Cell*, 2002, 14: 1691-1704
- Kurumizaka H, Horikoshi N, Tachiwana H, et al. Current progress on structural studies of nucleosomes containing histone H3 variants. *Curr Opin Struct Biol*, 2013, 23: 109-115

- 12 Sekulic N, Black B E. Molecular underpinnings of centromere identity and maintenance. *Trends Biochem Sci*, 2012, 37: 220–229
- 13 He Q, Chen L, Xu Y, et al. Identification of centromeric and telomeric DNA binding proteins in rice. *Proteomics*, 2013, 13: 826–832
- 14 Palmer D K, O'Day K, Wener M H, et al. A 17-kD centromere protein (CENP-A) copurifies with nucleosome core particles and with histones. *J Cell Biol*, 1987, 104: 805–815
- 15 Henikoff S, Ahmad K, Malik H S. The centromere paradox: Stable inheritance with rapidly evolving DNA. *Science*, 2001, 293: 1098–1102
- 16 Sullivan B A, Blower M D, Karpen G H. Determining centromere identity: Cyclical stories and forking paths. *Nat Rev Genet*, 2001, 2: 584–596
- 17 Bui M, Dimitriadis E K, Hoischen C, et al. Cell cycle-dependent structural transitions in the human CENP-A nucleosome *in vivo*. *Cell*, 2012, 150: 317–326
- 18 Malvezzi F, Litos G, Schleiffer A, et al. A structural basis for kinetochore recruitment of the Ndc80 complex via two distinct centromere receptors. *EMBO J*, 2013, 32: 409–423
- 19 Hori T, Shang W H, Takeuchi K, et al. The CCAN recruits CENP-A to the centromere and forms the structural core for kinetochore assembly. *J Cell Biol*, 2013, 200: 45–60
- 20 Howman E V, Fowler K J, Newson A J, et al. Early disruption of centromeric chromatin organization in centromere protein A (Cenpa) null mice. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, 97: 1148–1153
- 21 Blower M D, Karpen G H. The role of *Drosophila* CID in kinetochore formation, cell-cycle progression and heterochromatin interactions. *Nat Cell Biol*, 2001, 3: 730–739
- 22 McClintock B. The behavior in successive nuclear divisions of a chromosome broken at meiosis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1939, 25: 405–416
- 23 McClintock B. The stability of broken ends of chromosomes in *Zea mays*. *Genetics*, 1941, 26: 234–282
- 24 Gao Z, Fu S, Dong Q, et al. Inactivation of a centromere during the formation of a translocation in maize. *Chromosome Res*, 2011, 19: 755–761
- 25 Fu S, Gao Z, Birchler J, et al. Dicentric chromosome formation and epigenetics of centromere formation in plants. *J Genet Genomics*, 2012, 39: 125–130
- 26 Han F, Lamb J C, Birchler J A. High frequency of centromere inactivation resulting in stable dicentric chromosomes of maize. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103: 3238–3243
- 27 Zhang W, Friebe B, Gill B S, et al. Centromere inactivation and epigenetic modifications of a plant chromosome with three functional centromeres. *Chromosoma*, 2010, 119: 553–563
- 28 Lermontova I, Rutten T, Schubert I. Deposition, turnover, and release of CENH3 at *Arabidopsis* centromeres. *Chromosoma*, 2011, 120: 633–640
- 29 Craig J M, Earle E, Canham P, et al. Analysis of mammalian proteins involved in chromatin modification reveals new metaphase centromeric proteins and distinct chromosomal distribution patterns. *Hum Mol Genet*, 2003, 12: 3109–3121
- 30 Bergmann J H, Rodríguez, M G, Martins N M C, et al. Epigenetic engineering shows H3K4me2 is required for HJURP targeting and CENP-A assembly on a synthetic human kinetochore. *EMBO J*, 2011, 30: 328–340
- 31 Warburton P E. Chromosomal dynamics of human neocentromere formation. *Chromosome Res*, 2004, 12: 617–626
- 32 Stimpson K M, Matheny J E, Sullivan B A. Dicentric chromosomes: Unique models to study centromere function and inactivation. *Chromosome Res*, 2012, 20: 595–605
- 33 Nagaki K, Cheng Z, Ouyang S, et al. Sequencing of a rice centromere uncovers active genes. *Nat Genet*, 2004, 36: 138–145
- 34 Cheng Z K, Yan H H, Yu H X, et al. Development and applications of a complete set of rice telotrisomics. *Genetics*, 2001, 157: 361–368
- 35 Wang G X, Li H, Cheng Z K, et al. A novel translocation event leads to a recombinant stable chromosome with interrupted centromeric domains in rice. *Chromosoma*, 2013, 122: 1–9