



**Función de la variante de histona H2A.Z
durante la meiosis
en *Saccharomyces cerevisiae***

Sara González Arranz
Salamanca, 2017



**UNIVERSIDAD
DE SALAMANCA**

CAMPUS DE EXCELENCIA INTERNACIONAL

Departamento de Fisiología y Farmacología

DRA. ROCÍO RODRÍGUEZ MACÍAS, PROFESORA TITULAR del DEL DEPARTAMENTO DE FISIOLÓGÍA Y FARMACOLOGÍA de la UNIVERSIDAD DE SALAMANCA y COORDINADORA del PROGRAMA DE DOCTORADO titulado FISIOPATOLOGÍA CELULAR Y MOLECULAR Y SUS IMPLICACIONES FARMACOLÓGICAS.

CERTIFICA:

Que la memoria titulada “Función de la variante de histona H2A.Z durante la meiosis en *Saccharomyces cerevisiae*”, presentada por la licenciada Sara González Arranz, ha sido realizada bajo la dirección del Dr. Pedro A. San Segundo, en el Instituto de Biología Funcional y Genómica (IBFG), centro mixto de la Universidad de Salamanca y del Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC).

Y para autorizar su presentación y evaluación por el tribunal correspondiente, expide el presente certificado en Salamanca, a 3 de julio de 2017.

Fdo. Rocío Rodríguez Macías

DR. PEDRO ANTONIO SAN SEGUNDO NIETO, CIENTÍFICO TITULAR del CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS en el INSTITUTO DE BIOLOGÍA FUNCIONAL Y GENÓMICA,

CERTIFICA:

Que la licenciada Sara González Arranz ha realizado el trabajo titulado “Función de la variante de histona H2A.Z durante la meiosis en *Saccharomyces cerevisiae*”, bajo mi dirección, en el Instituto de Biología Funcional y Genómica (IBFG), centro mixto de la Universidad de Salamanca y del Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC), para optar al grado de Doctor.

Y para autorizar su presentación y evaluación por el tribunal correspondiente, expide el presente certificado en Salamanca, a 3 de julio de 2017.

Fdo. Pedro Antonio San Segundo Nieto

DRA. ROCÍO RODRÍGUEZ MACÍAS, PROFESORA TITULAR del DEL DEPARTAMENTO DE FISIOLÓGÍA Y FARMACOLOGÍA de la UNIVERSIDAD DE SALAMANCA,

CERTIFICA:

Que la memoria titulada “Función de la variante de histona H2A.Z durante la meiosis en *Saccharomyces cerevisiae*”, presentada por la licenciada Sara González Arranz, ha sido realizada con mi tutoría y bajo la dirección del Dr. Pedro A. San Segundo, en el Instituto de Biología Funcional y Genómica (IBFG), centro mixto de la Universidad de Salamanca y del Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC).

Y para autorizar su presentación y evaluación por el tribunal correspondiente, expide el presente certificado en Salamanca, a 3 de julio de 2017.

Fdo. Rocío Rodríguez Macías

Ahora lo entiendo: se lee al principio pero se escribe al final, como si el trabajo no se completase sin volver una vez más a mirar atrás, remontándose hasta su verdadero origen.

Habiendo revisado el trabajo, éste nunca está completo sin reconocer y agradecer en él a todas las personas que han participado en este proyecto. Algunas aportaciones han sido tan fundamentales, que resulta realmente difícil expresar con palabras mis sentimientos de reconocimiento y agradecimiento hacia unas personas que me han aportado tanto.

Pedro, eres el pilar de todo este trabajo. Me has enseñado todo lo que sé, señalado incansablemente mis errores y aportado las herramientas necesarias para corregirlos. Sé que a veces parece que tu esfuerzo es en vano, pero te aseguro que no es así. Espero que sepas realmente lo agradecida que me siento por la inversión que has hecho conmigo. Tenerte como director marca la diferencia.

David, Santi, Isa y Esther, así como todos los estudiantes que habéis pasado por el laboratorio PSS. Gracias por contribuir de una manera u otra a este proyecto. Esther, gracias por mostrarme que durante el día hay tiempo para todo si uno se organiza correctamente. En especial agradecer a Santi y David, la ayuda incondicional que siempre me habéis prestado así como el buen ambiente que generabais en el laboratorio. Isa, qué decir, poco a poco has conseguido atravesar el muro que siempre pongo a mi alrededor convirtiéndote en un gran apoyo en los peores momentos. Muchas gracias.

También, agradecer a todas las personas del IBFG que me han ayudado. Destacar a Carlos y Carmen por su constante disponibilidad, así como a todos los componentes de los *lab meetings* por aportar distintos puntos de vista a este trabajo.

Alicia y Ana, gracias por todos esos momentos memorables que hemos compartido dentro y fuera de nuestro piso.

Quisiera mencionar a dos personas muy importantes: Raquel, como buena hermana mayor me has abierto el camino haciendo que todo fuera más fácil para mí, y me has servido de ejemplo. José Luis, gracias por implicarte en mis cosas y compartir tu vida conmigo.

Finalmente, me gustaría dedicar el resultado de mi trabajo durante todos estos años a mis padres. Quisiera que este trabajo fuera una pequeña recompensa a toda una vida de dedicación, y espero que sintáis la satisfacción del deber cumplido.

Introducción

1. LA CROMATINA: NUCLEOSOMAS E HISTONAS.

La cromatina es una estructura altamente organizada que permite el almacenamiento de la información genética en el núcleo. La cromatina está compuesta por DNA, donde reside la información genética, y un tipo de proteínas especializadas denominadas histonas alrededor de las cuales se enrolla la doble hélice de DNA (**Figura 1A**). La unión del DNA a las histonas da lugar a unos complejos denominados nucleosomas. Cada nucleosoma está formado por un octámero de histonas alrededor del cual se enrollan 146 pb de DNA formando una cadena de nucleosomas o fibra de cromatina (**Figura 1B**) (Kornberg and Lorch, 1999). Los nucleosomas constituyen la unidad básica de la cromatina. A su vez, esta cadena de nucleosomas es capaz de enrollarse helicoidalmente formando una fibra de 30 nm o solenoide (**Figura 1C**). Este plegamiento es posible gracias a la unión de la histona H1. Esta histona se une al fragmento de DNA libre que existe entre un nucleosoma y otro, permitiendo la estabilización del solenoide. Esta estructura puede volver a plegarse sucesivamente hasta alcanzar su máximo grado de compactación en los cromosomas metafásicos (**Figura 1D**).

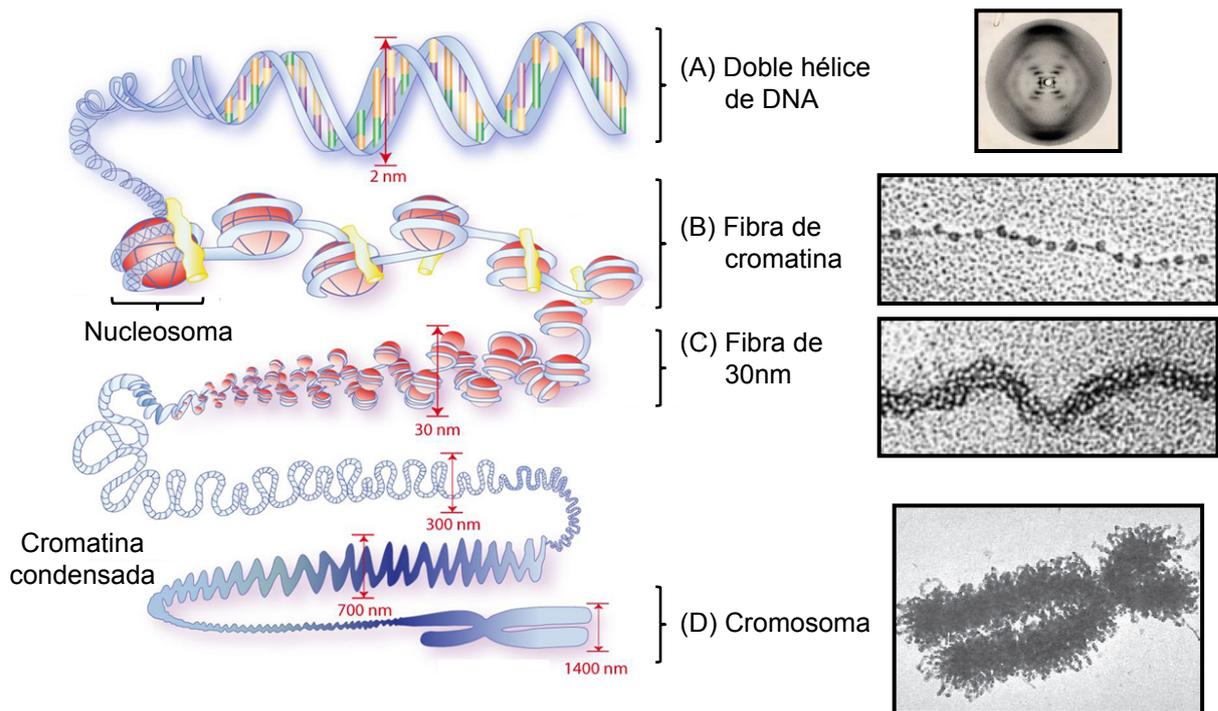


Figura 1. Niveles de empaquetamiento de la cromatina. Representación esquemática de los estados de compactación de la cromatina: (A) doble hélice de DNA (imagen de difracción de rayos X), (B) fibra de cromatina o cadena de nucleosomas (microscopía electrónica), (C) fibra de 30 nm o solenoide (microscopía electrónica), (D) cromosoma (microscopía electrónica). Las imágenes han sido obtenidas de: (A) (Watson JD and Crick FH, 1953); (B-C) (Alberts B et al., 2002) y (D) (DuPraw and E.J., 1968).

Mediante este sistema de empaquetamiento la cromatina es capaz de almacenar toda la información genética en el reducido espacio que presenta el núcleo celular, así como regular la

accesibilidad de enzimas y distintos complejos biológicos a la información genética mediante la variación de su nivel de compactación. Existen dos tipos de cromatina:

-Euromatina: Corresponde a la cromatina que se encuentra en un estado laxo o menos compacto. Este estado permite el acceso de determinados complejos biológicos a la información genética. En general, estas zonas se corresponden con regiones donde se está produciendo la transcripción.

-Heterocromatina: Corresponde a un estado compacto que impide el acceso a la maquinaria transcripcional. La limitación de este acceso puede ser temporal (heterocromatina facultativa) o permanente (heterocromatina constitutiva).

Cada nucleosoma está formado por un octámero de histonas alrededor del cual se enrolla la doble hélice de DNA. El DNA se encuentra cargado negativamente debido a los grupos fosfato que contiene. En cambio, las histonas presentan una gran cantidad de aminoácidos básicos que les aportan cargas positivas, facilitando así su unión al DNA. Existen dos tipos de histonas, las histonas canónicas y las histonas variantes. Las histonas canónicas o “normales” se caracterizan porque suelen existir múltiples copias de los genes que las codifican y se expresan sólo durante la fase S del ciclo celular. Estas histonas se encuentran muy conservadas en la evolución y son H2A, H2B, H3 y H4. Cada uno de los nucleosomas está constituido por dos moléculas de cada una de estas histonas ([Arents and Moudrianakis, 1993](#); [Luger et al., 1997](#)). Este tipo de nucleosomas con histonas canónicas constituyen la mayor parte de la cromatina. Sin embargo, existen otro tipo de histonas denominadas histonas variantes que suelen tener una única copia del gen que las codifica y se expresan durante todo el ciclo celular. Las histonas variantes son incorporadas a los nucleosomas mediante su intercambio con las histonas canónicas ([Billon and Cote, 2013](#); [Boulard et al., 2007](#); [Henikoff and Ahmad, 2005](#); [Henikoff and Smith, 2015](#); [Kamakaka and Biggins, 2005](#); [Kusch and Workman, 2007](#); [Redon et al., 2002](#); [Talbert and Henikoff, 2017](#)).

Dado que la unidad básica de la cromatina es el nucleosoma, y éste está constituido por histonas, la modificación de ambos permite regular la cromatina mediante distintos mecanismos:

-A través de modificaciones postraduccionales de las histonas: Las histonas presentan un dominio globular y una cola amino y carboxilo terminal. La mayoría de las modificaciones se producen en las colas, puesto que al estar situadas hacia el exterior del nucleosoma su accesibilidad es mayor, aunque también existen modificaciones en el dominio globular de las histonas, como es el caso de la H3K79 ([van Leeuwen et al., 2002](#)). Las principales modificaciones que pueden sufrir las histonas son: fosforilación, acetilación, metilación, ubiquitilación y/o sumoilación ([Lee et al., 2010](#)).

-A través de complejos remodeladores de la cromatina: Estos complejos regulan el ensamblaje y desensamblaje de nucleosomas, el reemplazamiento de histonas o modificaciones de las interacciones entre el DNA y las histonas ([Clapier and Cairns, 2009](#)).

-A través de la incorporación de histonas variantes: Estas histonas pueden generar dominios de cromatina especializados ([Talbert and Henikoff, 2010](#)).

En este trabajo vamos a centrarnos en el estudio de una variante de la histona H2A, la denominada histona variante H2A.Z.

1.1. La histona variante H2AZ.

En *Saccharomyces cerevisiae*, el organismo modelo objeto de nuestro trabajo, existe sólo una variante de la histona canónica H2A y es la denominada histona variante H2A.Z. En 1980, H2A.Z se identificó en mamíferos como una de las 8 variantes de la familia H2A (West and Bonner, 1980). Posteriormente, se descubrió su homólogo en *S. cerevisiae* (Jackson et al., 1996). Actualmente sabemos que, a diferencia de otras variantes de H2A, como H2A-bbd y MacroH2A, H2A.Z se encuentra conservada en todos los organismos eucariotas, desde protozoos hasta humanos. En la mayoría de los organismos modelo como *Tetrahymena thermophila* (Liu et al., 1996), *Caenorhabditis elegans* (Updike and Mango, 2006), *Drosophila melanogaster* (Clarkson et al., 1999; van Daal and Elgin, 1992), *Xenopus leavis* (Iouzalén et al., 1996) y *Mus musculus* (Faast et al., 2001), la eliminación de H2A.Z provoca la muerte del organismo. Se ha descrito que la eliminación de H2A.Z en *Xenopus* altera la gastrulación, produciendo graves malformaciones en los embriones (Ridgway et al., 2004). En el caso de ratones, la ausencia de H2A.Z genera defectos en la proliferación y diferenciación celular, generando embriones inviables (Faast et al., 2001). Afortunadamente, en algunos organismos modelo como *S. cerevisiae* (Santisteban et al., 2000) y *Schizosaccharomyces pombe* (Carr et al., 1994), H2A.Z no es esencial, aunque su ausencia genera un crecimiento lento así como sensibilidad ante distintas drogas que dañan el DNA (Morillo-Huesca et al., 2010). La falta de letalidad unido a que la secuencia de H2A.Z en *S. cerevisiae* presenta un 90% de homología con la de humanos (Iouzalén et al., 1996) convierte a la levadura de gemación en un valioso organismo modelo para el estudio de la función de H2A.Z.

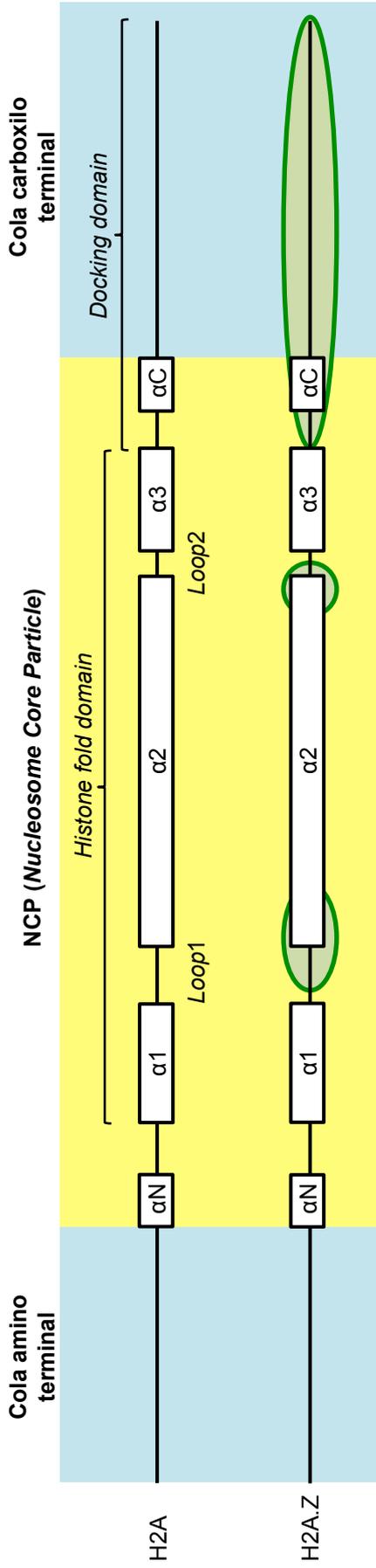
1.2. Principales diferencias entre las histonas H2A y H2A.Z.

Ambas histonas, H2A y H2A.Z, presentan una estructura con cinco α -hélices que se sitúan en el interior del nucleosoma (**Figura 2A**). Tres de estas α -hélices ($\alpha 1$, $\alpha 2$ y $\alpha 3$) constituyen el *histone fold domain* (región por donde interaccionan las histonas en el nucleosoma) y las otras 2 α -hélices (αN y αC) se sitúan hacia el extremo amino y carboxilo, respectivamente. Además de estas α -hélices, las histonas contienen una cola N-terminal y C-terminal fuera de la región central del nucleosoma (*Nucleosome Core Particle*, NCP).

La secuencia de ambas proteínas presenta solo un 60% de homología, lo cual indica una divergencia considerable entre ambas histonas (Jackson and Gorovsky, 2000; Thatcher and Gorovsky, 1994). Curiosamente, la secuencia de H2A.Z se ha conservado a lo largo de la evolución, presentando un 90% de homología en todos los organismos eucariotas. Esto sugiere que H2A.Z divergió tempranamente de la histona canónica H2A para adquirir nuevas e importantes funciones.

El análisis comparado de la secuencia de H2A y H2A.Z, revela que las diferencias entre ambas

5 A



B

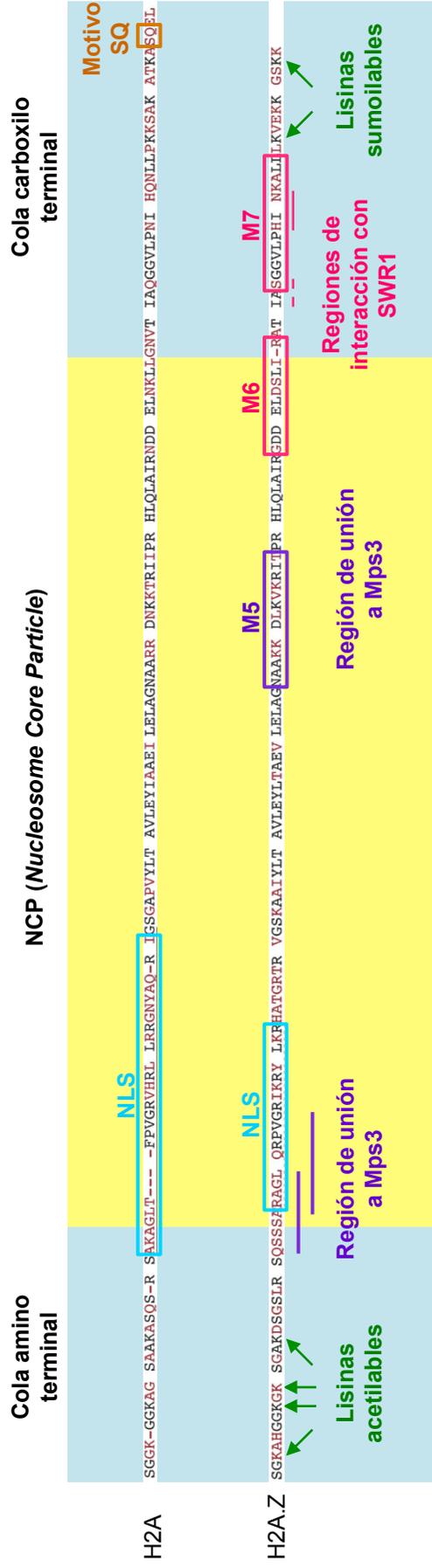


Figura 2. Análisis comparado de la estructura secundaria de H2A y H2A.Z, así como de su secuencia. (A) Representación esquemática de la estructura secundaria de H2A y H2A.Z. Los óvalos verdes indican la localización H2A.Z con divergencias considerables a H2A. Esta figura ha sido adaptada de (Zlatanova and Thakar, 2008). **(B)** Alineamiento de la secuencia de aminoácidos de H2A y H2A.Z en *S. cerevisiae*. Los recuadros y flechas marcan las regiones de interés explicadas en el texto. Esta figura ha sido adaptada de (Gardner et al., 2011).

se observan tanto en las colas terminales como en la región que forma parte del NCP (**Figura 2B**):

Diferencias en las colas terminales:

-Cola amino terminal: Ambas histonas presentan residuos acetilables en el extremo amino terminal, sin embargo la presencia de estos residuos es crucial en el caso de H2A.Z. La histona H2A.Z presenta 4 residuos acetilables: K3, K8, K10 y K14, siendo este último el sitio preferido de modificación en vivo (Millar et al., 2006). En *Tetrahymena thermophila*, se ha descrito que el cambio de las cuatro lisinas de H2A.Z por argininas provoca la muerte del organismo, mientras que la presencia de una sola de estas lisinas es suficiente para su viabilidad (Ren and Gorovsky, 2001). Además, la acetilación de estas lisinas es importante para evitar la extensión de proteínas de silenciamiento (Babiarz et al., 2006; Meneghini et al., 2003), así como para la expresión inducible de determinados genes (Halley et al., 2010).

-Cola carboxilo terminal: En este caso, la principal diferencia entre ambas histonas radica en que H2A.Z carece del motivo SQ característico de H2A. Este motivo es una diana de fosforilación para las quinasas del *checkpoint* Mec1/Tel1 en presencia de roturas de la doble cadena de DNA (*Double Strand Breaks*, DSBs), y juega un papel importante en la respuesta celular al daño genotóxico. En *S. cerevisiae* esta función la lleva a cabo H2A, mientras que el caso de los mamíferos, este motivo de fosforilación se encuentra presente en la histona variante H2A.X. Sin embargo, en el extremo carboxilo, H2A.Z presenta dos lisinas susceptibles de sumoilación (K125 y K132), que son importantes para la relocalización a la periferia nuclear de las DSBs que no pueden ser reparadas (Kalocsay et al., 2009).

Diferencias en las regiones que forman parte del core de los nucleosomas (NCP):

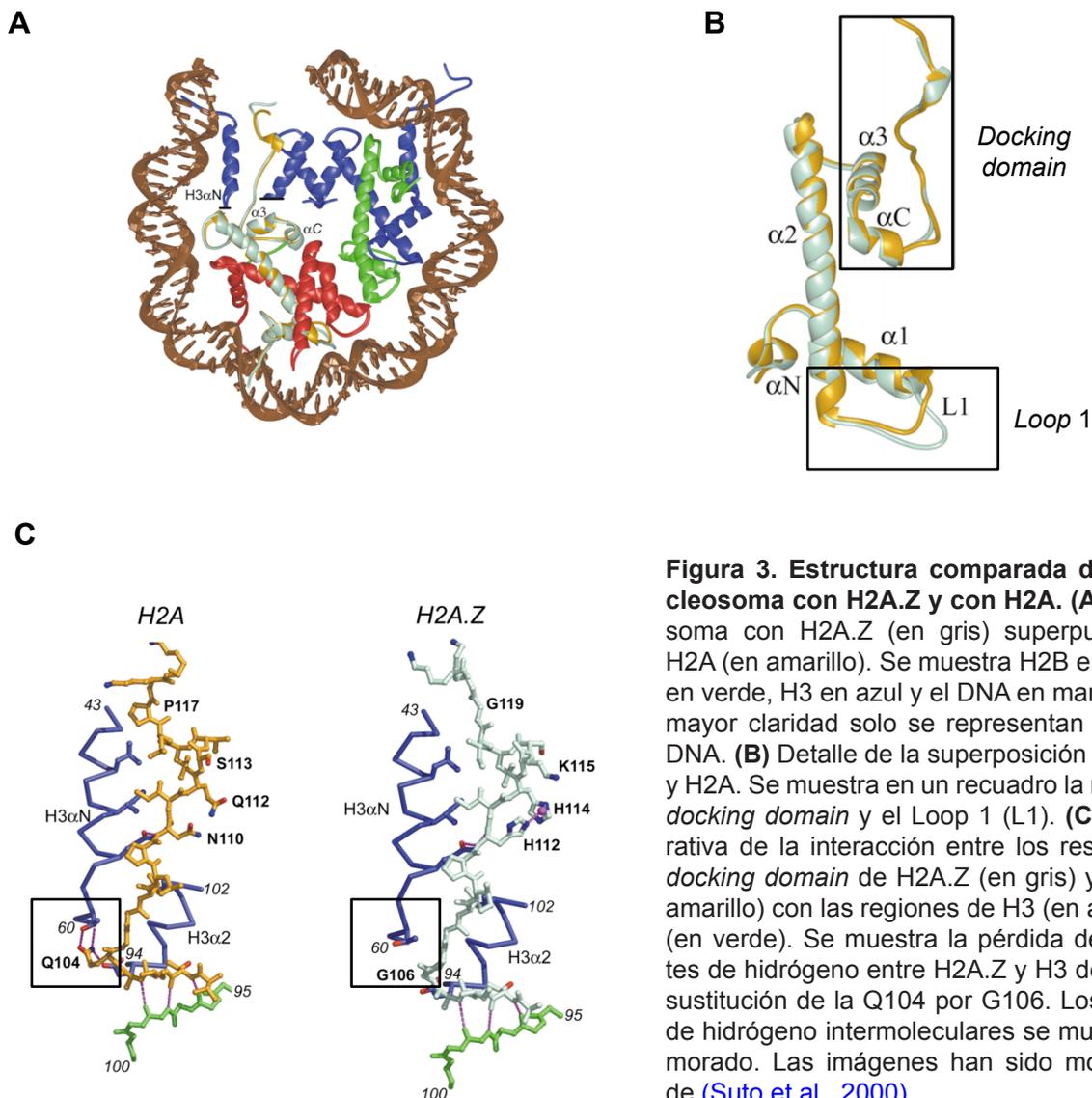
Se ha descrito que H2A.Z presenta una región altamente básica, similar a las señales de localización nuclear (*Nuclear Localization Signal*, NLS) reconocidas por múltiples carioferinas. Ambas histonas, H2A.Z y H2A presentan una NLS, pero difieren en su secuencia (Lange et al., 2007). Esto sugiere la existencia de un transporte específico para cada una de las histonas. Además, se ha descrito que parte de la región de la NLS de H2A.Z (aminoácidos 21-30 y 25-35 del extremo amino terminal) es necesaria para su interacción con otras proteínas como Mps3. Esta interacción también requiere la presencia de una región específica de H2A.Z denominada M5 (Gardner et al., 2011). Además, H2A.Z presenta dos regiones (M6 y M7) específicas para su interacción con el complejo remodelador de la cromatina SWR1. Se ha demostrado que tanto la región M6 (Wu et al., 2005), como los residuos I109 y S111 (Wood et al., 2013) situados fuera de la región M6, así como el triplete de residuos H118-I119-N120 que forma parte de la región M7 (Wang et al., 2011a) son necesarios para que H2A.Z se incorpore a la cromatina.

A pesar de las aparentes diferencias entre la secuencia de H2A y H2A.Z, cuando se analiza la estructura cristalográfica de un nucleosoma completo que contiene H2A.Z o H2A, las diferencias no son tan evidentes (Suto et al., 2000). En la **Figura 3A** se muestra una representación de la estructura cristalográfica de un nucleosoma que contiene H2A.Z y H2A. En esta representación se

ha solapado la estructura secundaria de H2A.Z (en gris) con la de H2A (en amarillo). Las diferencias principales entre H2A.Z y H2A se sitúan en el *docking domain*, el cual permite la interacción con el tetrámero H3-H4; y el *Loop 1* (L1), el cual media la interacción entre moléculas de H2A en un mismo nucleosoma (**Figura 3B**). En el *docking domain*, la sustitución del residuo Glu104 en H2A por Gly106 de H2A.Z genera la pérdida de tres puentes de hidrógeno (**Figura 3C**), sugiriendo que este cambio podría generar la desestabilización de la interacción de H2A.Z con el tetrámero H3-H4. Algunas de estas regiones divergentes coinciden con las diferencias en secuencia que presenta H2A.Z con H2A (**Figura 2**), sugiriendo que estas regiones podría ser claves para la realización de funciones específicas de H2A.Z o para su interacción con otras proteínas, como Swr1 o Mps3.

1.3. Formación de nucleosomas con H2A.Z.

Para que se produzca la formación de los nucleosomas, las histonas sintetizadas en el citoplasma deben ser transportadas al interior del núcleo a través de complejos de poro nucleares (*Nuclear Pore Complexes*, NPCs) (**Figura 4**). Para que ocurra este importe al núcleo se requiere de unos factores



de transporte nuclear denominados carioferinas. En *S. cerevisiae* se ha descrito la existencia de 14 carioferinas, cada de ellas reconoce específicamente distintas secuencias de señalización nuclear, lo que permite una alta especificidad a la hora de elegir las proteínas a transportar. Además de estos transportadores también se requiere la presencia de chaperonas. Estas proteínas acompañan a las histonas hasta su incorporación a la cromatina, favoreciendo el correcto plegamiento de las histonas y evitando la formación aberrante de agregados de histonas con los fosfatos del DNA. Así, en el citoplasma se establece un complejo formado por chaperonas, histonas y carioferinas que atraviesa la envuelta nuclear (EN) a través de los NPCs (Cook et al., 2007). Una vez en el núcleo, las proteínas GTP-Ran se unen al complejo chaperona-histonas-carioferina y la energía generada mediante la hidrólisis del GTP permite la liberación de las carioferinas del complejo histonas-chaperona (Mosammaparast et al., 2002; Mosammaparast et al., 2001; Pemberton and Paschal, 2005). Así, por un lado, las carioferinas son exportadas al citoplasma para unirse de nuevo a otras histonas y permitir un nuevo ciclo de transporte de histonas; mientras que, por otro lado, las histonas acompañadas de su chaperona correspondiente quedan disponibles para formar nucleosomas o incorporarse a los ya existentes.

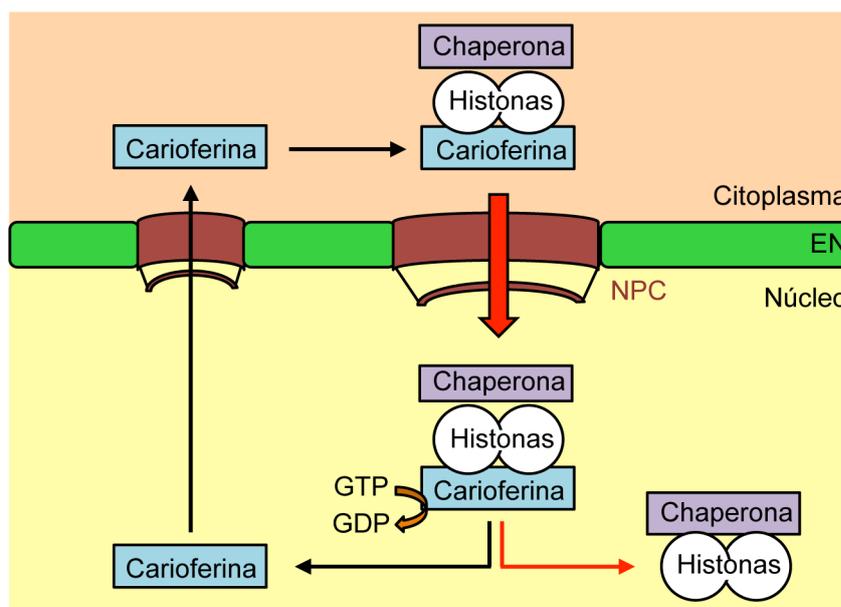


Figura 4. Importe de histonas del citoplasma al núcleo. Representación esquemática del importe del complejo chaperona-histonas-carioferina del citoplasma al núcleo, a través de los poros nucleares (NPC). Una vez en el núcleo, la hidrólisis del GTP permite la separación del complejo: la carioferina es exportada de nuevo al citoplasma para permitir un nuevo ciclo de transporte de histonas y el complejo chaperona-histonas queda disponible para su incorporación en la cromatina.

Durante la fase S del ciclo celular, se produce la duplicación del DNA y la síntesis de las histonas canónicas, por lo que es en este momento cuando se produce el transporte de histonas al núcleo y su ensamblaje con el DNA para dar lugar a los nucleosomas. Las histonas H3 y H4 son transportadas al núcleo en forma de tetrámero, mientras que las histonas H2A y H2B se transportan en forma de dímero (Akey and Luger, 2003). Una vez que se ha producido su importe al núcleo, el tetrámero de histonas H3-H4 se une de manera secuencial a dos dímeros de H2A-H2B, generando nucleosomas constituidos por octámeros de histonas canónicas (Figura 5A).

Dado que las histonas variantes se sintetizan durante todo el ciclo celular, se cree que su importe al núcleo está separado espacial y temporalmente del de las histonas canónicas. En concreto, se

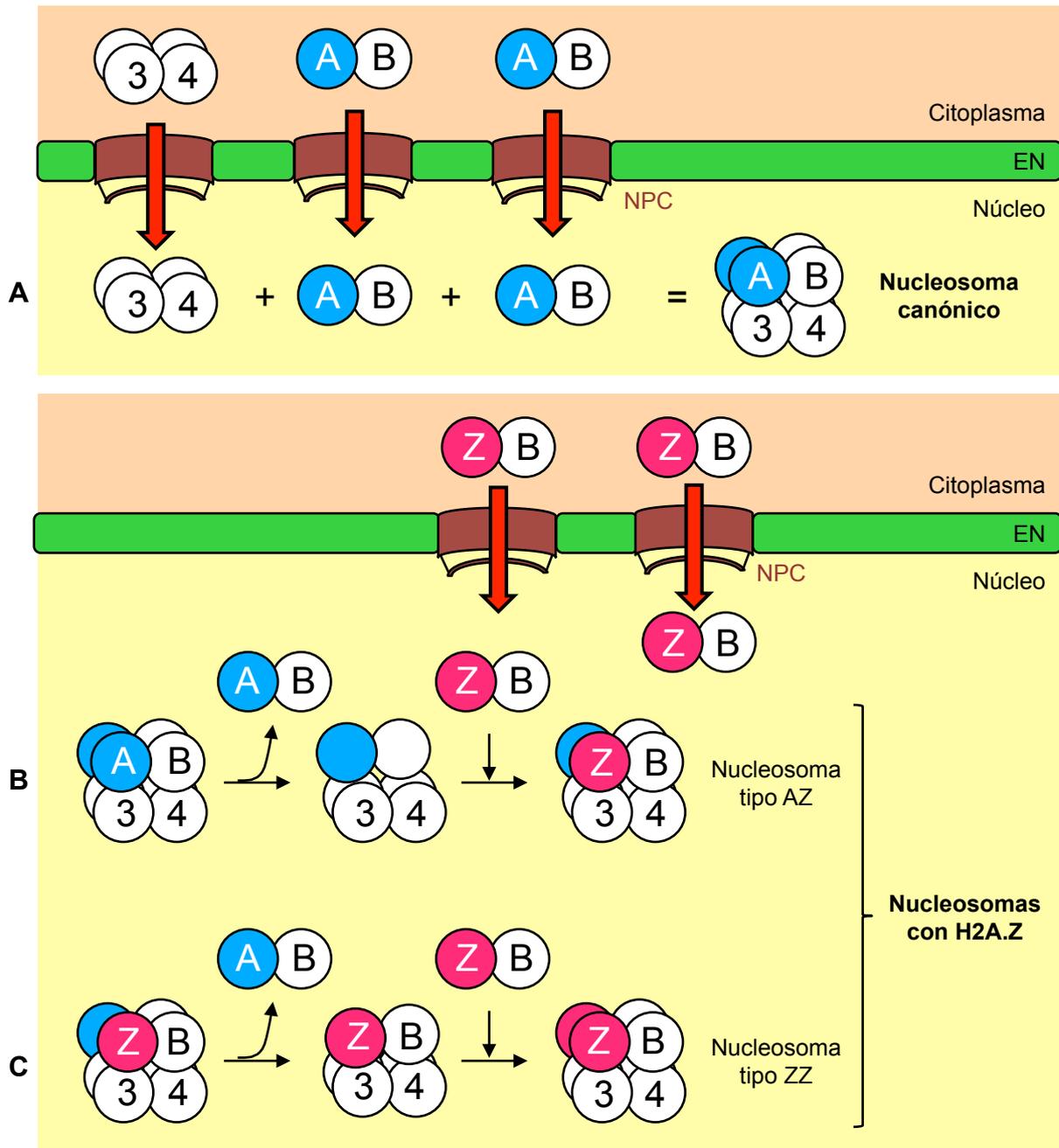


Figura 5. Formación de nucleosomas canónicos y nucleosomas con la histona variante H2A.Z. (A) Representación esquemática de la formación de un nucleosoma con histonas canónicas. A través de los poros nucleares se introducen en el núcleo tetrámeros de histonas H3-H4, así como dímeros de histonas H2A-H2B. La unión secuencial de dos dímeros de H2A-H2B a un tetrámero de H3-H4 da lugar a la formación de un nucleosoma canónico. **(B-C)** Representación esquemática de la formación de un nucleosoma que contiene la histona variante H2A.Z. Uno o dos dímeros de H2A.Z-H2B se incorporan a los nucleosomas canónicos existentes, mediante su intercambio por uno o dos dímeros de H2A-H2B. Así, se forman nucleosomas tipo AZ **(B)** o tipo ZZ **(C)**.

han descrito la existencia de dos chaperonas, Nap1 y Chz1, que interactúan con H2A.Z. La interacción de Nap1 (*Nucleosome assembly protein 1*) no es exclusiva de dímeros H2A.Z-H2B, ya que también es capaz de unirse a dímeros de H2A-H2B y H3-H4 (McBryant et al., 2003; Mosammaparast et al., 2002). Se cree que la función de Nap1 es mantener estable el *pool* de H2A.Z

en el citoplasma, así como facilitar la unión entre la NLS de H2A.Z y la carioferina Kap114. En cambio, la chaperona Chz1 interacciona específicamente con H2A.Z-H2B pero solo lo hace una vez que el dímero ha sido importado al núcleo (Straube et al., 2010). De hecho, Chz1 posee una NLS que le permite su importe al núcleo sin necesidad de unirse a un dímero de histonas (Luk et al., 2007). Además, en ausencia de estas dos chaperonas el complejo FACT también es capaz de acompañar al dímero H2A.Z-H2B hasta su incorporación a la cromatina (Luk et al., 2007).

Una vez que los dímeros de H2A.Z-H2B están en el núcleo estos pueden incorporarse a los nucleosomas existentes mediante el intercambio de uno o dos dímeros de histonas H2A-H2B. Así, se generan nucleosomas tipo AZ, con un dímero H2A-H2B y uno H2A.Z-H2B (Figura 5B), o nucleosomas tipo ZZ con dos dímeros H2A.Z-H2B (Figura 5C).

1.4. Incorporación de H2A.Z a la cromatina.

La incorporación de H2A.Z a la cromatina se produce mayoritariamente gracias al complejo SWR1. Este complejo permite el intercambio de un dímero de histonas H2A-H2B por un nuevo dímero de H2A.Z-H2B, gracias a la hidrólisis de ATP. La acción del complejo SWR1 es compatible con el acompañamiento del dímero H2A.Z-H2B por Nap1, Chz1 o FACT, lo que sugiere la existencia de redundancia entre las tres chaperonas (Luk et al., 2007; Mizuguchi et al., 2004).

El descubrimiento del complejo SWR1 se realizó de manera independiente en tres laboratorios distintos (Kobor et al., 2004; Krogan et al., 2003; Mizuguchi et al., 2004). El complejo SWR1 está formado por 14 subunidades: Bdf1, Swc7, Act1, Arp4, Yaf9, Swc4, Swc5, Arp6, Swc6, Swc2, Swc3, Rvb1, Rvb2 y la subunidad catalítica, Swr1, por la que recibe su nombre. Diversos estudios han demostrado que el complejo SWR1 comparte subunidades con otro complejo remodelador de la cromatina denominado INO80 (subunidades Rvb1, Rvb2, Act1 y Arp4), el cual realiza la reacción inversa a SWR1, reemplazando el dímero H2A.Z-H2B por H2A-H2B (Papamichos-Chronakis et al., 2011); y con el complejo histona acetiltransferasa Nua4 (subunidades Yaf9, Swc4, Act1, Arp4) (Billon and Cote, 2013). Se han descrito homólogos del complejo SWR1 en otros organismos eucariotas como *S. pombe*, *A. thaliana*, *D. melanogaster* (p400) y mamíferos (SCRAP) lo que sugiere que el mecanismo de incorporación de H2A.Z a la cromatina se encuentra muy conservado.

Para que se produzca la incorporación de H2A.Z a determinados nucleosomas es necesario que se produzcan 3 pasos: (1) Reclutamiento del complejo SWR1 a la cromatina, (2) unión de H2A.Z al complejo SWR1, y (3) intercambio del dímero H2A-H2B por el dímero H2A.Z-H2B (Figura 6):

1. Reclutamiento del complejo SWR1 a la cromatina (Figura 6A): H2A.Z se distribuye por toda la cromatina pero específicamente se incorpora en determinados nucleosomas. Esto implica la existencia de un mecanismo que permita al complejo SWR1 reconocer en qué nucleosomas debe incorporar H2A.Z. Este mecanismo conlleva el “marcaje” de los nucleosomas y el reconocimiento de estas “marcas” por parte de SWR1. Así, se ha descrito que la acetilación de las histonas H2A y

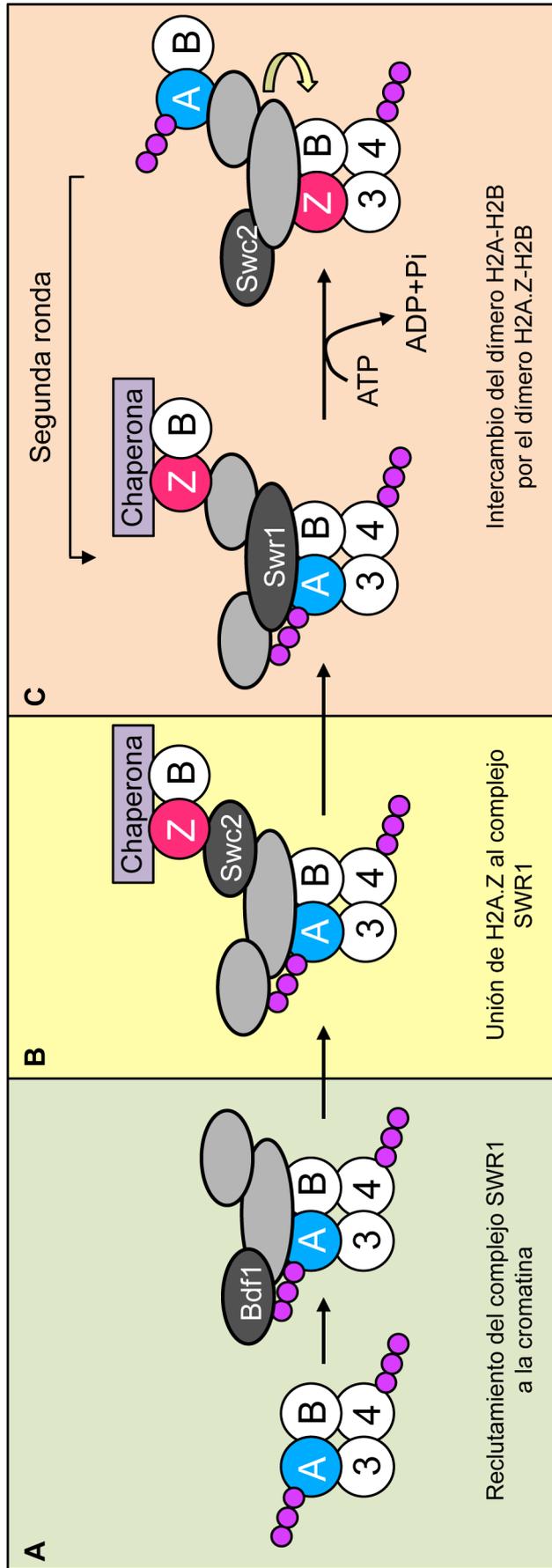


Figura 6. Representación esquemática de la incorporación de H2A.Z en los nucleosomas. (A) Reclutamiento del complejo SWR1 a la cromatina. Los nucleosomas que deben incorporar H2A.Z sufren distintas modificaciones post-traduccionales. Estas modificaciones son reconocidas por la subunidad Bdf1 del complejo SWR1, permitiendo el reclutamiento de SWR1 a determinados nucleosomas. (B) Unión de H2A.Z al complejo SWR1. La subunidad Swc2 del complejo SWR1 reconoce el extremo C-terminal de H2A.Z permitiendo la unión del dímero H2A.Z-H2B al complejo SWR1. (C) Intercambio del dímero H2A-H2B por el dímero H2A.Z-H2B. La subunidad Swr1 hidroliza ATP y la energía generada provoca un cambio conformacional en el complejo SWR1. Este cambio permite la salida del dímero H2A-H2B y entrada del dímero H2A.Z-H2B. La subunidad Swc2 regula la generación de nucleosomas con una sola copia de H2A.Z, o con dos copias iniciando una segunda ronda de intercambio de dímeros. Para mejorar la comprensión del esquema tan solo se muestra un tetrámero del nucleosoma (el dímero A-B, representa el dímero de histonas H2A-H2B; así como Z-B, representa a H2A-Z-H2B). Además, en el complejo SWR1 (gris) se representan solo las subunidades más importantes (gris oscuro) implicadas en cada paso. Las modificaciones post-traduccionales se representan mediante círculos morados.

H4 (mediada por la acetiltransferasa Nua4) estimula la actividad del complejo SWR1 y favorece la incorporación de H2A.Z a la cromatina (Altaf et al., 2010). Asimismo, la acetilación de la lisina 16 de la histona H4 (mediada por Sas2) es importante para la deposición de H2A.Z en las regiones subteloméricas (Shia et al., 2006). Además, se ha descubierto que la subunidad Bdf1 del complejo SWR1 reconoce alguna de estas acetilaciones permitiendo el reclutamiento de SWR1 a estos nucleosomas (Altaf et al., 2010; Kurdistani et al., 2004). Estos datos sugieren que determinadas modificaciones post-traduccionales de las histonas “marcan” los nucleosomas donde el complejo SWR1 debe unirse para incorporar H2A.Z.

2. Unión de H2A.Z al complejo SWR1 (Figura 6B): El dímero H2A.Z-H2B, acompañado de su chaperona, se une al complejo SWR1. Para que se produzca esta unión, el extremo C-terminal de H2A.Z debe ser reconocido por la subunidad Swc2 del complejo SWR1 (Wu et al., 2005).

3. Intercambio del dímero H2A-H2B por el dímero H2A.Z-H2B (Figura 6C): La unión del dímero H2A.Z-H2B al complejo SWR1 estimula la actividad ATPasa de la subunidad Swr1. La hidrólisis del ATP genera la energía necesaria para que se produzca un cambio conformacional en el complejo SWR1, provocando la salida del dímero H2A-H2B y la entrada del dímero H2A.Z-H2B en el nucleosoma. Una vez que H2A.Z se ha incorporado a los nucleosomas, la subunidad Swc2 del complejo SWR1 detiene el ciclo de intercambio de histonas y evita la salida de H2A.Z del nucleosoma (Watanabe et al., 2013). Mediante este proceso se generan nucleosomas con una sola copia de H2A.Z (tipo AZ). Posteriormente, en determinados nucleosomas podría ocurrir una segunda ronda de intercambio de dímeros de histonas, generándose nucleosomas con dos copias de H2A.Z (nucleosoma ZZ). El porcentaje de nucleosomas tipo AZ es del 65% mientras que el de tipo ZZ es tan solo del 35% (Luk et al., 2010). En levaduras se ha visto que la distribución en el genoma de ambos tipos de nucleosomas es similar, en cambio en *D. melanogaster* los promotores de genes activos están enriquecidos con nucleosomas tipo ZZ (Weber et al., 2010).

1.5. Funciones de H2A.Z en mitosis y meiosis.

Normalmente, el estudio de las funciones de una proteína se lleva a cabo mediante la generación de mutantes a los que se les ha eliminado el gen que codifica la proteína de estudio. En *S. cerevisiae*, la histona variante H2A.Z se encuentra codificada por el gen *HTZI*.

H2A.Z se distribuye por todo el genoma, tanto en regiones promotoras de genes como en regiones codificantes. Sin embargo su distribución a lo largo del genoma no es uniforme (Gu et al., 2015; Guillemette et al., 2005; Leach et al., 2000), esto sugiere que su localización en determinadas regiones es importante para la función que va a llevar a cabo. Clásicamente, se han descrito tres funciones de H2A.Z en mitosis: su papel en transcripción, en la formación de la barrera hetero/eucromatina y en la integridad genómica.

-Papel de H2A.Z en la transcripción: La primera implicación de H2A.Z en la transcripción se sugirió en *T. thermophila*, donde H2A.Z se encuentra presente en el macronúcleo activo transcripcionalmente pero no en el micronúcleo inactivo (Allis et al., 1980). Posteriormente, se

confirmó el papel de H2A.Z en la regulación transcripcional en *S. cerevisiae* (Santisteban et al., 2000). Además, diversos estudios muestran que la presencia de H2A.Z es capaz de activar una gran cantidad de genes (214 genes), y también de reprimirlos (107 genes) (Lindstrom et al., 2006; Meneghini et al., 2003), sugiriendo que H2A.Z regula tanto positivamente como negativamente la transcripción. Además, se ha descrito que el sitio de inicio de transcripción situado en la región libre de nucleosomas, está flanqueado por uno o dos nucleosomas que contienen H2A.Z (Raisner et al., 2005). También, se ha sugerido que H2A.Z podría ser un elemento de memoria epigenética en la actividad transcripcional reciente puesto que H2A.Z promueve la retención en la periferia nuclear de genes recientemente reprimidos, aumentando así la posibilidad de estos genes sean rápidamente reactivados (Brickner et al., 2007). Además, se ha propuesto la existencia de dominios de cromatina activados por H2A.Z (dominios HZADs). Estos *clusters* de genes se sitúan a unos 35Kb de los telómeros y reducen su expresión en ausencia de H2A.Z (Meneghini et al., 2003).

-Papel de H2A.Z en la formación de la barrera hetero/eucromatina: En *S. cerevisiae*, existen factores de silenciamiento, como las proteínas Sir, que son esenciales para que algunas regiones como los *loci* del *mating type* (*HMR* y *HML*), los telómeros y el DNA ribosómico (rDNA) permanezcan silenciados transcripcionalmente (Gartenberg and Smith, 2016). Se ha descrito que H2A.Z se localiza en el *locus HMR* y del rDNA (Dhillon and Kamakaka, 2000), y que la eliminación de H2A.Z provoca la pérdida parcial del silenciamiento del HMR, así como la pérdida total del silenciamiento telomérico. Además, la menor expresión de genes que se encuentran dentro de los dominios HZADs en un mutante *htz1* es revertida por la delección de *SIR2*, sugiriendo que H2A.Z antagoniza el silenciamiento telomérico (Meneghini et al., 2003). Todo ello sugiere que H2A.Z funciona como una barrera para la formación de la heterocromatina, limitando la extensión de las proteínas Sir.

-Papel de H2A.Z en la integridad genómica: H2A.Z está presente en la cromatina pericéntrica de muchos organismos (Krogan et al., 2004; Rangasamy et al., 2003; Rangasamy et al., 2004). Además, se ha descrito que H2A.Z presenta interacciones físicas y genéticas con proteínas involucradas en la segregación de los cromosomas, la replicación, el *checkpoint* y la reparación del DNA (Carr et al., 1994; Madigan et al., 2002). Así, la ausencia de H2A.Z genera asincronía en el inicio de la replicación, retraso en la progresión de fase S del ciclo celular (Dhillon et al., 2006), pérdida prematura de la cohesión de las cromátidas hermanas (Sharma et al., 2013) y sensibilidad a agentes genotóxicos (Morillo-Huesca et al., 2010).

Aparte de estas funciones, desde hace algunos años, se están descubriendo nuevas funciones de H2A.Z. Así, se ha observado que H2A.Z se recluta de manera transitoria a las DSBs (van Attikum et al., 2007) y, si estas DSBs no pueden ser reparadas, las lisinas 125 y 132 de H2A.Z se sumoilan favoreciendo el reclutamiento de estas DSB no reparables a la periferia nuclear (Kalocsay et al., 2009). Se ha visto que otras proteínas o complejos relacionados con H2A.Z, como Mps3, SWR1 e INO80 también están implicados en este proceso (Horigome et al., 2014). También se ha descrito, en células vegetativas, que H2A.Z es necesaria para la correcta localización de la proteína Mps3

en la membrana nuclear interna. Sorprendentemente, H2A.Z realiza esta función de manera independiente de su incorporación a la cromatina mediada por el complejo SWR1 (Gardner et al., 2011).

A pesar de las múltiples funciones descritas de H2A.Z en células vegetativas, se desconoce mucho más acerca de su relevancia biológica durante la meiosis. Durante la espermatogénesis en mamíferos, H2A.Z sigue una dinámica característica que se ha propuesto que podría estar relacionada con el silenciamiento del *sex body* (Greaves et al., 2006; Ontoso et al., 2014). Por otro lado, se ha descrito que, en *A. Thaliana*, los mutantes en SWR1 presentan defectos meióticos (Rosa et al., 2013) y que H2A.Z colocaliza con los focos Rad51/Dmc1 por lo que podría promover la formación o el procesamiento de las DSBs meióticas en plantas (Choi et al., 2013). No obstante, la información disponible acerca de las posibles funciones meióticas de H2A.Z es muy limitada.

2. LA MEIOSIS.

El ciclo celular consiste en una serie de eventos que permiten tanto el crecimiento de las células como su división. Existen dos tipos de divisiones celulares, la mitosis y la meiosis (Figura 7) (Ohkura, 2015). La mitosis es un tipo de división celular a partir de la cual se generan dos células hijas genéticamente idénticas a la célula original. Para que esto sea posible, las células replican su material genético, obteniéndose dos cromátidas hermanas por cromosoma. Posteriormente, se produce la segregación de las cromátidas hermanas, dando lugar a dos células hijas genéticamente idénticas a la célula progenitora. En cambio, la meiosis es un tipo de división celular en la que se generan cuatro células hijas genéticamente distintas entre sí y con la mitad de la dotación cromosómica de la célula original, los gametos. Por tanto, la meiosis es un proceso de división reduccional, dado que la dotación cromosómica se reduce a la mitad, permitiendo el mantenimiento del número de cromosomas característico de cada especie una vez que se produce la fecundación. Para que esto sea posible es necesario que se ocurra una ronda de replicación del DNA, seguida de un proceso de apareamiento, sinapsis y recombinación de los cromosomas homólogos. Estos tres procesos son necesarios para el intercambio de material genético y la generación de conexiones físicas entre cromosomas homólogos, las cuales son esenciales para su correcta segregación. Tras el proceso de recombinación y sinapsis, se producen dos rondas sucesivas de segregación: inicialmente la segregación de los cromosomas homólogos (durante la meiosis I) y, posteriormente, la segregación de las cromátidas hermanas (durante la meiosis II). En organismos pluricelulares con reproducción sexual, la mitosis la llevan a cabo las células que forman los tejidos y órganos (células somáticas), mientras que la meiosis, la realizan las células que dan lugar a los gametos (células germinales). De esta manera, la mitosis permite el crecimiento y la regeneración de los tejidos, mientras que la meiosis se encarga de la generación de gametos haploides, que tras el proceso de fecundación y el desarrollo embrionario darán lugar a un individuo diploide genéticamente distinto a sus progenitores.

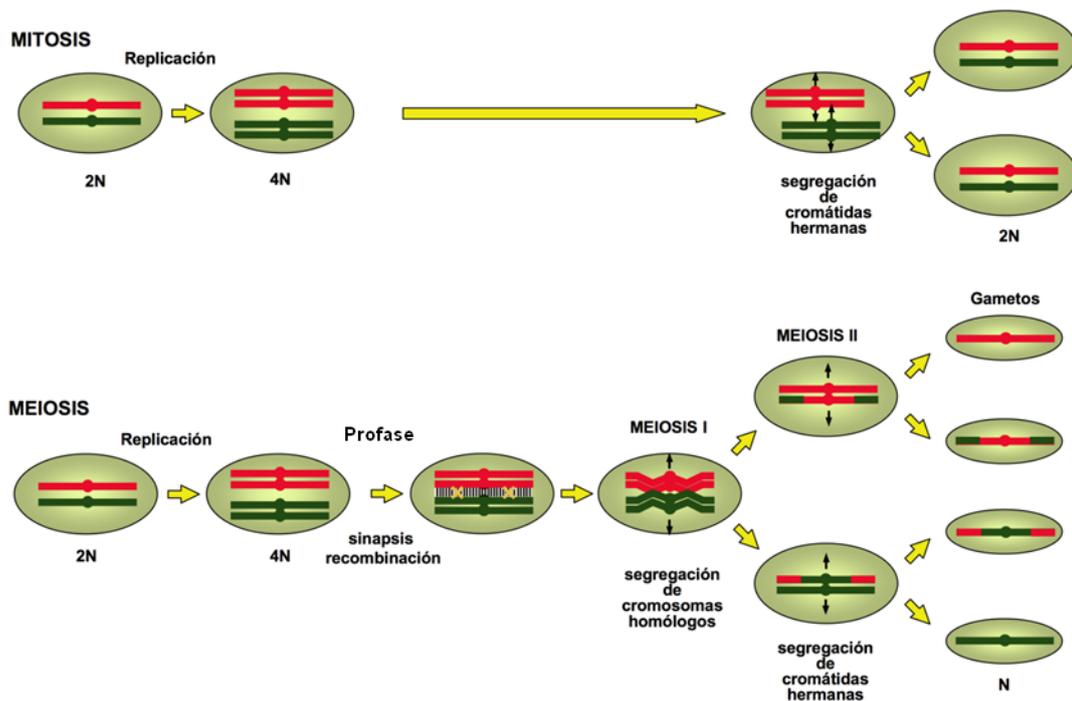


Figura 7. Diferencias entre mitosis y meiosis. En la mitosis, a partir de una célula madre diploide se produce la replicación del DNA y la segregación de cromátidas hermanas, generando dos células hijas diploides genéticamente idénticas a la célula progenitora. En cambio, durante la meiosis, se produce una ronda de replicación del DNA seguida de dos rondas de segregación. En la meiosis I, se segregan los cromosomas homólogos y en la meiosis II, las cromátidas hermanas. Como resultado, se generan cuatro células hijas haploides genéticamente distintas entre sí, debido al proceso de recombinación que ha ocurrido durante la profase meiótica. Para simplificar, se representa una célula diploide con un solo par de cromosomas homólogos.

2.1. Profase meiótica: Recombinación y sinapsis

Durante la etapa de la meiosis denominada profase I, se producen tres procesos característicos:

- **Apareamiento:** Este proceso implica que los cromosomas homólogos deben encontrarse en el núcleo y alinearse mediante la identificación de secuencias similares.

- **Sinapsis:** Una vez alineados, los cromosomas homólogos se asocian estrechamente entre sí a través de una estructura denominada complejo sinaptonémico (SC, *Synaptonemal Complex*). El SC es una estructura proteica, de apariencia similar a una “cremallera” (**Figura 8B**). Esta estructura consta de dos elementos laterales (LEs, *Lateral Elements*) unidos por una región central constituida por filamentos transversales. La cromatina de los cromosomas homólogos se dispone a modo de bucles a ambos lados de los elementos laterales (**Figura 8A**). En *S. cerevisiae*, la proteína Zip1 constituye el componente principal de la región central del SC, y las proteínas Hop1 y Red1, así como el complejo cohesina con la subunidad específica de meiosis Rec8 forman parte de los LEs (Cahoon and Hawley, 2016; Sym et al., 1993).

- **Recombinación meiótica:** La recombinación meiótica se inicia con la introducción de DSBs mediante la endonucleasa Spo11 y sus proteínas asociadas (**Figura 9A**) (Keeney, 2001; Keeney et al., 1997; Keeney et al., 2014). Estas roturas son procesadas para generar DNA de cadena sencilla con extremos 3'OH libres. Esto sirve como sustrato de las proteínas Dmc1 y Rad51,

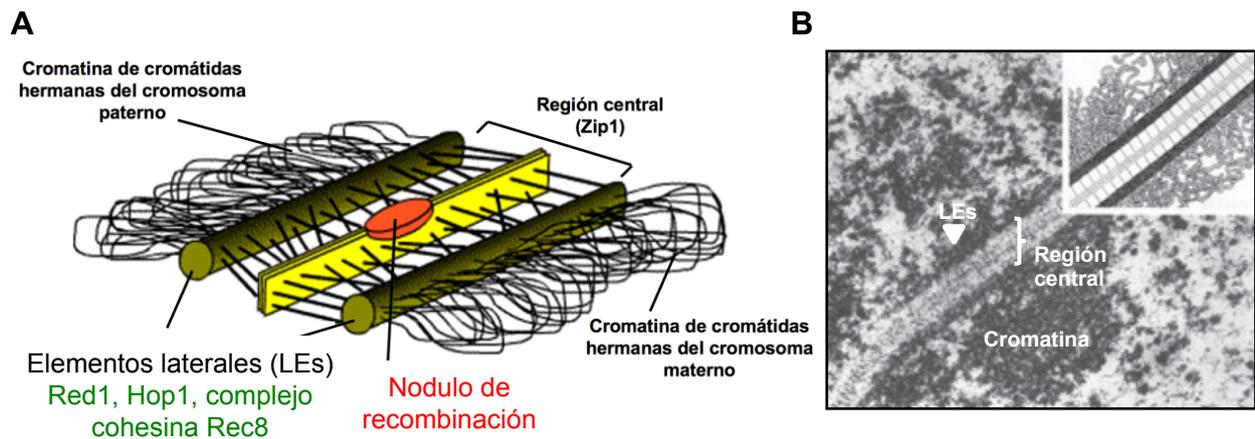


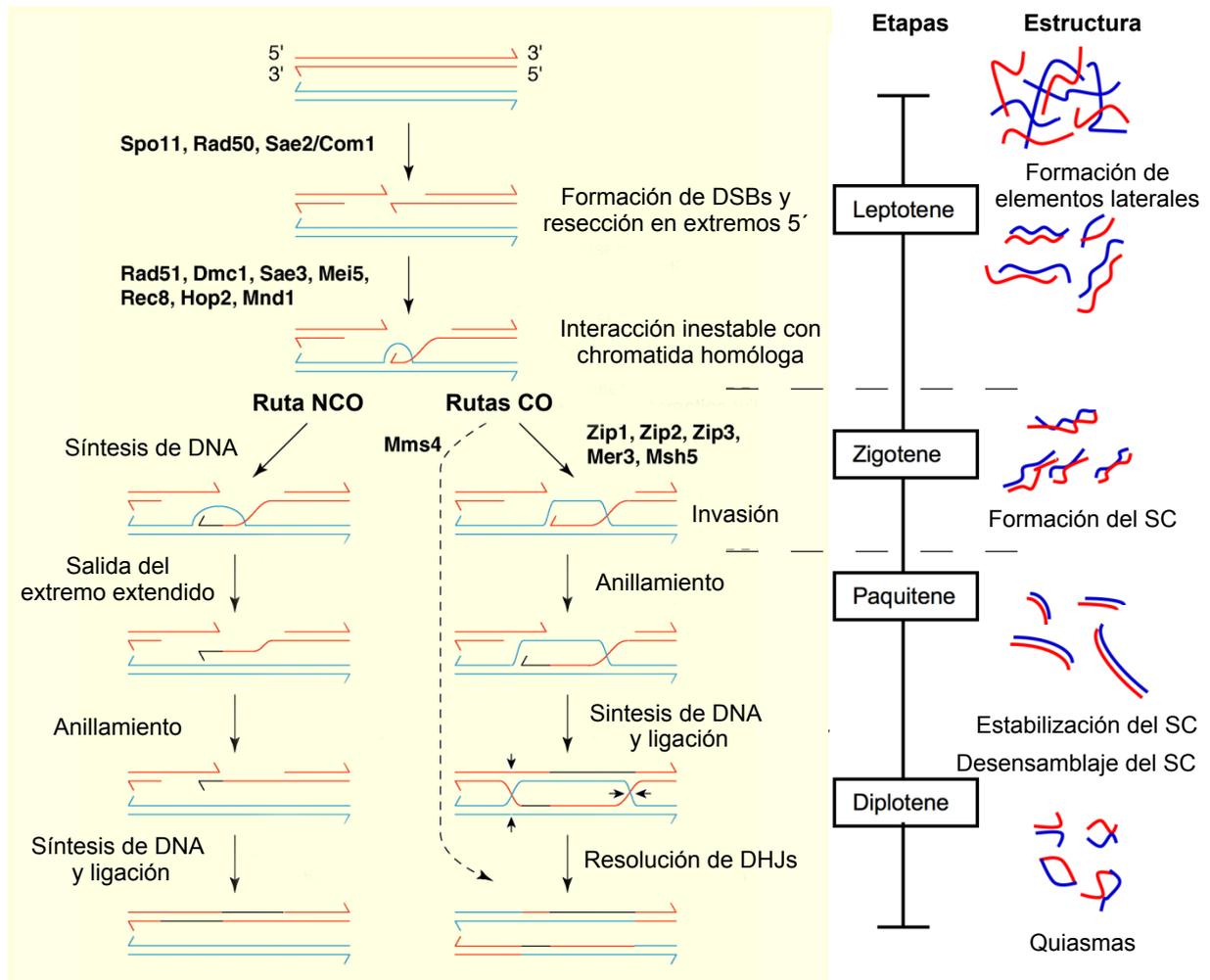
Figura 8. El complejo sinaptonémico en *S. cerevisiae*. (A) Representación del SC. La región central del SC está formada mayoritariamente por filamentos transversales de la proteína Zip1, mientras que los elementos laterales están formados por las proteínas Hop1, Red1 y el complejo cohesina con Rec8. La cromatina de cada cromosoma homólogo se dispone a modo de bucles a ambos lados de los elementos laterales. Se representa un nódulo de recombinación. (B) Imagen de microscopía electrónica del SC. Se muestra la región central, los elementos laterales (LEs) y la cromatina.

que son homólogas a la proteína RecA de *Escherichia coli* (Bishop, 1994; Hunter and Kleckner, 2001) y catalizan la invasión por parte de una de las cadenas sencillas que se ha generado en la cadena de una cromátida intacta procedente del cromosoma homólogo para así, poder ser reparada. Dmc1 se produce exclusivamente en meiosis y es la responsable de la mayoría de la recombinación homóloga que tiene lugar en ella, en cambio, Rad51 actúa tanto en la reparación de DSBs en células vegetativas como en la recombinación meiótica (Cloud et al., 2012). Después de la invasión se produce la síntesis de DNA utilizando como molde la cadena de la cromátida del cromosoma homólogo. Esta síntesis termina cuando la cadena desplazada de la cromátida no hermana se enfrenta con el extremo 3'-OH del lado opuesto del DSB y comienza a sintetizarse DNA del mismo. Cuando finaliza la síntesis, los extremos 3'-OH se ligan. Si el intermediario que se ha generado se procesa según el modelo de reparación de las DSBs, el resultado es la formación de una estructura denominada unión de *Holliday* doble (dHJ, *double Holliday Junction*). Las dHJs pueden ser resueltas como entrecruzamientos recíprocos (CO, *crossovers*) o no recíprocos (NCOs, *noncrossovers*) (Bishop and Zickler, 2004). Los CO dan lugar a estructuras denominadas quiasmas (Figura 9B) y constituyen el lugar donde ha ocurrido el intercambio de información genética entre cromosomas homólogos. La formación de los quiasmas es necesaria para la correcta orientación y segregación de los cromosomas durante la meiosis. En cambio los NCOs, se producen como consecuencia de que la cadena generada se separa de la doble hélice homóloga y anilla con el extremo libre de la DSB, mediante la ruta de reasociación de cadenas dependiente de síntesis (SDSA, *Synthesis-Dependent Strand Annealing*) (Allers and Lichten, 2001; Hunter and Kleckner, 2001).

En *S. cerevisiae*, la endonucleasa Spo11 introduce aproximadamente 200 DSBs en cada meiosis, de las cuales aproximadamente 45 se reparan mediante la formación de CO, mientras que el resto se reparan como NCO (Buhler et al., 2007). Puesto que el número de DSBs meióticas es limitado,

y todos los cromosomas deben recibir al menos un CO, la región adyacente a la cual se produce un CO sufre la inhibición de más COs cercanos, permitiendo así el reparto igualitario de los COs entre cromosomas de distinto tamaño. Este mecanismo se denomina interferencia génica, y se lleva a cabo mediante un conjunto de proteínas denominadas ZMM (proteínas Zip1, Zip2, Zip3, Zip4; el complejo Msh4/Msh5 y la helicasa Mer3) (Berchowitz and Copenhaver, 2010; Borner

A



B

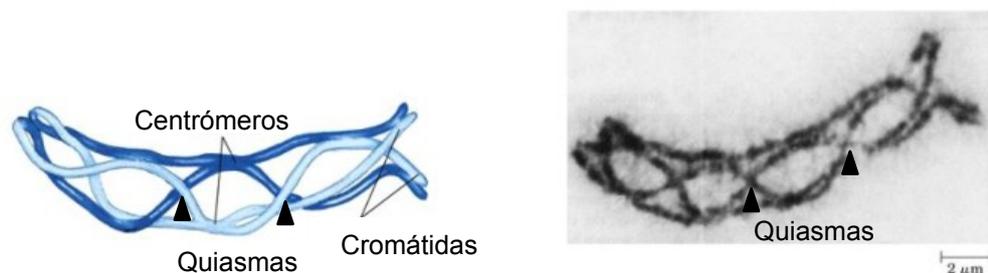


Figura 9. La recombinación meiótica. (A) Representación esquemática del proceso molecular de la recombinación meiótica que conduce a la formación de COs o NCOs, así como de las interacciones simultáneas entre los cromosomas homólogos durante las distintas fases de la profase meiótica. Ver detalles en el texto. Imagen modificada de (Hochwagen and Amon, 2006). (B) Representación de un par de cromosomas homólogos conectados por quiasmas, así como imagen de microscopía electrónica, en la que las puntas de flecha señalan los quiasmas. Imagen obtenida de (<http://fbio.uh.cu/sites/genmol/conf5/p02.htm>).

et al., 2004; Lynn et al., 2007; Shinohara et al., 2008). Además de la interferencia génica, existen otros mecanismos (homeostasis de COs) que aseguran que aunque se reduzca el número de DSBs iniciadoras, no se reduzca el número de intermediarios que se resuelven como COs (Martini et al., 2006). Esto pone de manifiesto la extremada importancia del establecimiento de conexiones físicas entre los homólogos para asegurar su correcta segregación.

En *S. cerevisiae*, la recombinación meiótica ocurre de manera paralela al desarrollo del SC que marca las diferentes etapas de la profase meiótica (**Figura 9A**) (Hochwagen and Amon, 2006). Durante el estadio de leptotene, se generan las DSBs y comienzan a ensamblarse las proteínas de los LEs. A continuación, durante zigotene, tiene lugar la invasión de la cadena homóloga y comienza a extenderse el SC a lo largo de los cromosomas. Este proceso culmina en el paquitene, donde los cromosomas establecen sinapsis a lo largo de toda su longitud coincidiendo con la formación de dHJs. Finalmente, durante diplotene se produce la resolución de las dHJs y el SC se desensambla, manteniéndose los cromosomas homólogos unidos gracias a los quiasmas que se han generado previamente.

Una vez que ha concluido la profase meiótica, se produce la segregación de los cromosomas homólogos hacia polos opuestos de las células (meiosis I), seguido de la separación de las cromátidas hermanas (meiosis II) que dará lugar a células haploides. Para que esto ocurra de manera adecuada, es necesario que se produzca la pérdida secuencial de la cohesión entre cromátidas hermanas, y la unión monopolar de los cinetocoros. Durante la mitosis, la pérdida de la cohesión para separar las cromátidas hermanas se produce en un solo paso. En cambio, durante la meiosis esto no es posible puesto que los entrecruzamientos hacen que no sólo las cromátidas hermanas estén conectadas sino también los cromosomas homólogos (**Figura 10A**). Por este motivo, durante la meiosis, la pérdida de la cohesión se produce en dos pasos. En primer lugar, durante la meiosis I, se produce la pérdida de la cohesión a lo largo de los brazos de los cromosomas homólogos, permitiendo la disolución de los quiasmas y la segregación de los homólogos a los polos opuestos (**Figura 10B**), manteniéndose las cromátidas hermanas unidas por la cohesina a nivel de las regiones centroméricas (Brooker and Berkowitz, 2014). El complejo de cohesinas meióticas está formado por Scc3, Smc1, Smc3 y Rec8, siendo ésta la subunidad de cohesina específica de meiosis (Klein et al., 1999; Uhlmann, 2003). Posteriormente, durante la meiosis II se libera la cohesina centromérica para separar las cromátidas hermanas (**Figura 10C**). Esta compleja regulación se consigue mediante un balance de fosforilación y desfosforilación de las cohesinas de los brazos y del centrómero llevado a cabo por la polo quinasa y la fosfatasa PP2A, respectivamente, y por la proteína *shugoshina* que protege la cohesina centromérica durante la meiosis I (Rivera and Losada, 2006; Watanabe and Kitajima, 2005).

Además, la orientación de los cinetocoros también es muy importante para la correcta segregación de los cromosomas homólogos y de las cromátidas hermanas. Durante la meiosis I, las cromátidas hermanas permanecen unidas y los cromosomas homólogos se dirigen a los polos opuestos de la célula. Para ello, los cinetocoros de ambas cromátidas hermanas de cada homólogo se asocian a microtúbulos del mismo polo (mono-orientación o unión sintética), permitiendo así

la segregación de cromosomas homólogos a polos opuestos (**Figura 10B**). Existe un complejo denominado monopolina que asegura la co-orientación de los cinetocoros hermanos en meiosis I. La quinasa polo Cdc5 regula la localización del complejo monopolina en los cinetocoros ([Acosta et al., 2011](#); [Clyne et al., 2003](#); [Sourirajan and Lichten, 2008](#)) y la quinasa Ipl1/Aurora B colabora con el complejo monopolina en promover la correcta segregación de los homólogos en la primera división meiótica ([Monje-Casas et al., 2007](#)).

En cambio, durante la meiosis II se produce la segregación de cromátidas hermanas. Para que esto ocurra los cinetocoros hermanos deben asociarse a microtúbulos procedentes de polos opuestos de las células (biorientación o unión anfitélica) (**Figura 10C**) ([Marston and Amon, 2004](#)).

2.2. Reorganización del núcleo durante profase meiótica: complejo LINC.

El núcleo se encuentra delimitado por la EN constituida por una membrana nuclear interna (INM, *Inner Nuclear Membrane*) y una membrana nuclear externa (ONM, *Outer Nuclear Membrane*). La EN separa la cromatina del citoplasma y permite el anclaje de estructuras como los complejos de poro nuclear (NPCs, *Nuclear Pore Complexes*) y el centro organizador de microtúbulos (SPB, *Spindle Pole Body*). El SPB es el encargado de organizar tanto los microtúbulos citoplasmáticos, implicados en el posicionamiento nuclear, como los microtúbulos nucleares esenciales para la segregación de los cromosomas. En *S. cerevisiae* esta estructura se encuentra embebida en la

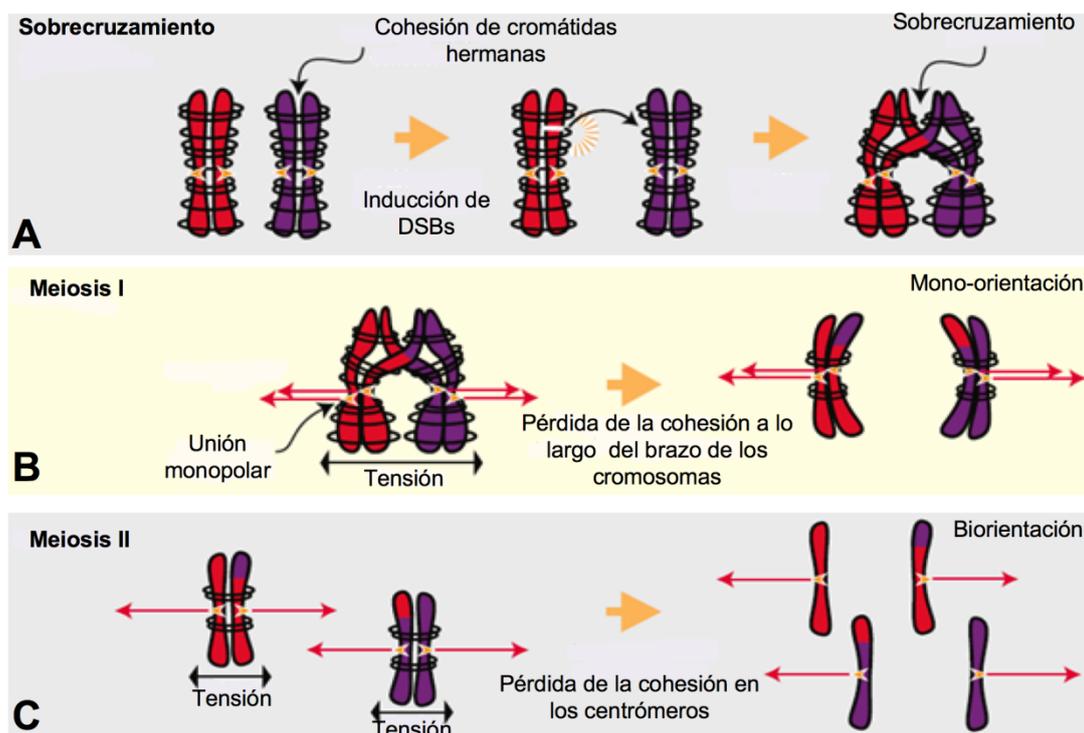


Figura 10. Dinámica meiótica de los cromosomas. (A) Representación esquemática de los procesos que conducen a la formación de conexiones entre cromosomas homólogos durante la profase meiótica. La inducción de DSBs produce la formación de quiasmas, y las cromátidas hermanas se mantienen unidas por la cohesina. (B) Meiosis I; segregación de homólogos gracias a la pérdida de la cohesión a lo largo de los brazos con la consiguiente resolución de las quiasmas y a la orientación monopolar de los cinetocoros. (C) Meiosis II; separación de las cromátidas hermanas. Se libera la cohesina centromérica y se produce la biorientación de los cinetocoros.

EN y está compuesta por tres capas, que constituyen el *core* del SPB: una placa central a nivel de la EN, una placa externa orientada hacia el citoplasma y una placa interna orientada hacia el nucleoplasma (**Figura 11A**).

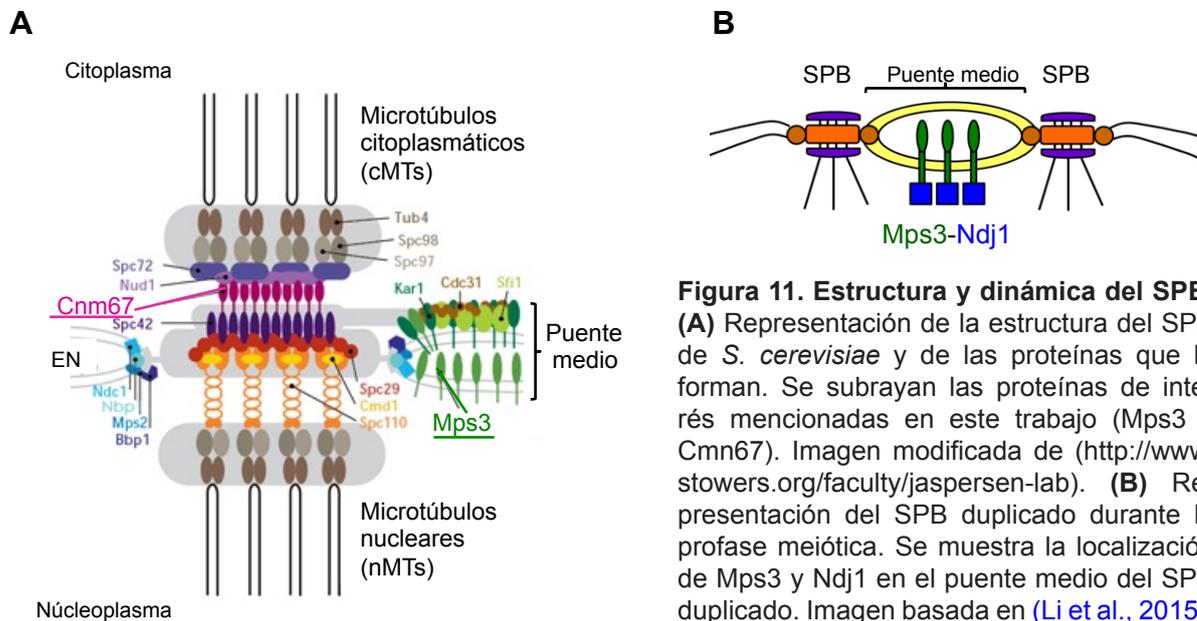


Figura 11. Estructura y dinámica del SPB. (A) Representación de la estructura del SPB de *S. cerevisiae* y de las proteínas que lo forman. Se subrayan las proteínas de interés mencionadas en este trabajo (Mps3 y Cnm67). Imagen modificada de (<http://www.stowers.org/faculty/jaspersen-lab>). (B) Representación del SPB duplicado durante la profase meiótica. Se muestra la localización de Mps3 y Ndj1 en el puente medio del SPB duplicado. Imagen basada en (Li et al., 2015).

Además, en el núcleo existen compartimentos que facilitan distintos procesos, como la reparación del DNA o la activación/represión de la transcripción en determinadas regiones, dependiendo del estadio en que se encuentren las células. Así, durante la profase meiótica la reorganización del núcleo y de los cromosomas es importante para que se produzca la correcta interacción entre los cromosomas homólogos. Para ocurra esta reorganización es necesario que las fuerzas mecánicas generadas en el citoplasma sean transmitidas hasta el interior del núcleo donde se encuentran los cromosomas. Para ello, es necesaria la formación de un complejo que conecta el citoplasma con el interior del núcleo. A este complejo se le denomina LINC (*Linker of nucleoskeleton and cytoskeleton*) (**Figura 12A**) y se encuentra muy conservado en la escala evolutiva. Sus componentes principales son:

-Proteínas con dominio SUN: El dominio SUN fue definido por primera vez a través de la caracterización molecular del gen *UNC-84* de *C. elegans* (Malone et al., 1999). A esta región se le denominó SUN (*Sad1/Unc-84*) debido a la homología encontrada entre *Unc-84* y una región del extremo C-terminal de la proteína *Sad1* (en *S. pombe*). A lo largo de la evolución el número de proteínas con dominio SUN ha ido aumentando (Tzur et al., 2006), siendo de un solo gen en *S. cerevisiae* (*MPS3*) y *S. pombe* (*SAD1*), dos en *C. elegans* y *D. melanogaster* (*UNC-84*, *matefin/SUN1* y *Q9V996*, *Q9VK62*, respectivamente) y cuatro en mamíferos (*SUN-1*, *SUN-2*, *SUN-3* y *SPAG4*). Las proteínas con dominio SUN presentan 3 características principales: se localizan en la INM, poseen al menos un dominio transmembrana, y presentan un dominio C-terminal conservado que se extiende por el espacio perinuclear de la EN. Además, las proteínas con dominio SUN son

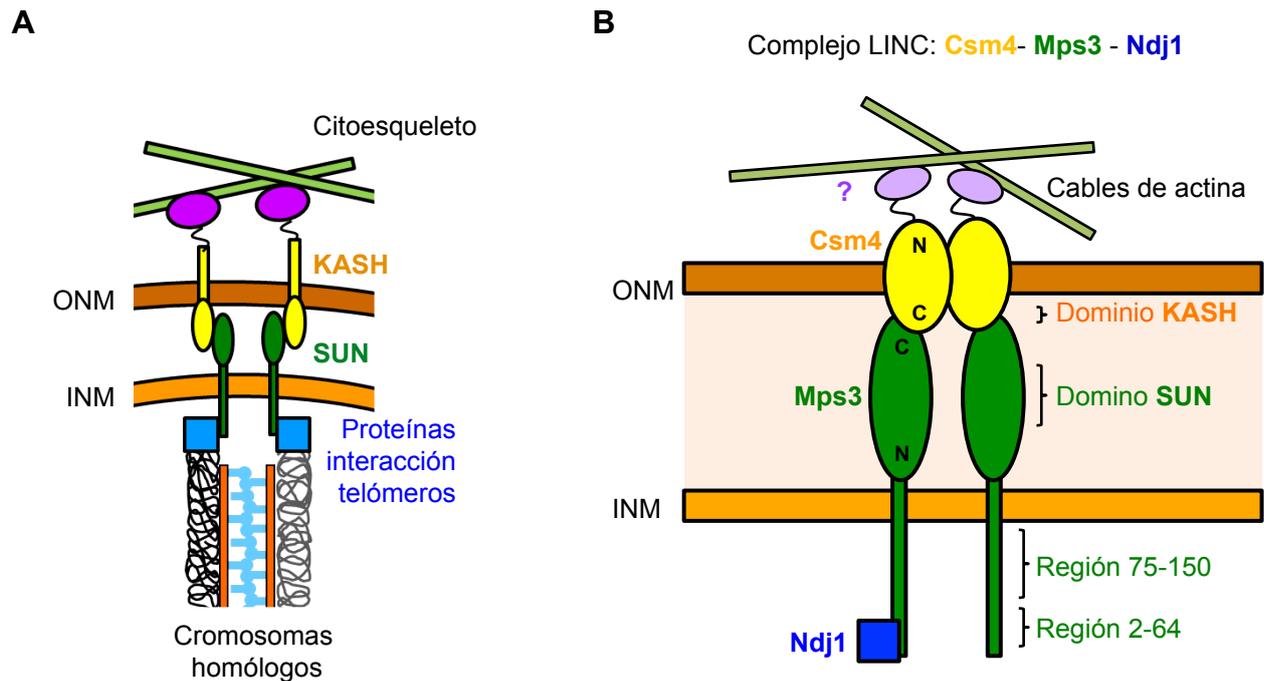


Figura 12. Componentes del complejo LINC. (A) Representación esquemática general de los componentes del complejo LINC: Proteína con dominio SUN (en verde), proteína con dominio KASH (en amarillo), proteínas de interacción con telómeros (en azul) y proteínas de interacción con el citoesqueleto (en morado). (B) Representación de los componentes del complejo LINC en *S. cerevisiae*: Mps3 (proteína SUN), Csm4 (proteína KASH), Ndj1 (proteína telomérica) y cables de actina. Se muestra la orientación del extremo amino (N) y carboxilo (C) terminal de las proteínas con dominio SUN y KASH, así como dos regiones del extremo amino de Mps3 (2-64,75-150) de interés para este trabajo.

capaces de formar dímeros o multímeros.

-Proteínas con dominio KASH: El dominio KASH fue definido por primera vez cuando varios grupos se dieron cuenta que los genes *ANC-1* (en *C. elegans*), *MSP-300* (en *D. melanogaster*) y *SYNE-1*, *SYNE-2* (en mamíferos) presentaban una región corta en el extremo C-terminal con un alto grado de homología a la proteína Klarsicht (de *D. melanogaster*) (Starr and Han, 2002). Así, a este dominio se le denominó KASH, por su homología con Klarsicht, ANC-1 y SYNE. Las proteínas con dominio KASH presentan 3 características principales: se localizan exclusivamente en la ONM y requieren de las proteínas SUN para su localización en la EN, contienen un dominio transmembrana seguido de al menos 35 residuos antes del extremo C-terminal, y presentan un pequeño C-terminal situado en el espacio perinuclear y un gran dominio N-terminal no conservado que se extiende por el citoplasma.

Así, el complejo de proteínas SUN-KASH actúa de puente entre el interior y el exterior del núcleo. Además de esta unión, las proteínas KASH se unen a componentes del citoesqueleto situados en el citoplasma, mientras que las proteínas SUN se unen a proteínas teloméricas. De esta manera, las tracciones generadas en el citoplasma se transmiten hasta los cromosomas a través de complejos LINC.

El complejo LINC está implicado en múltiples procesos como el movimiento de los

cromosomas durante la profase meiótica, las oscilaciones nucleares durante la diferenciación neuronal, el reposicionamiento nuclear durante la migración de fibroblastos, el posicionamiento nuclear durante el desarrollo embrionario de *C. elegans* y la migración nuclear en *D. melanogaster* (Bone and Starr, 2016). Actualmente, existen evidencias de que el complejo LINC está implicado en enfermedades humanas como laminopatías, que incluyen distrofias musculares (de Emery-Dreifuss), neuropatías, lipodistrofias y enfermedades de envejecimiento prematuro (progeria) (Banerjee et al., 2014; Guilluy et al., 2014; Lombardi and Lammerding, 2010).

2.2.1. Reorganización del núcleo en *S. cerevisiae*.

A continuación, se detallan los principales componentes del complejo LINC, así como la reorganización del núcleo durante la profase meiótica en el organismo modelo *S. cerevisiae* objeto de este estudio.

En la levadura de gemación, el complejo LINC está formado por las proteínas Csm4 y Mps3 (**Figura 12B**). La proteína Csm4, es específica de meiosis, posee un dominio KASH y se sitúa en la ONM (Kosaka et al., 2008; Wanat et al., 2008). Csm4 se une por su amino terminal a cables de actina, mientras que por su extremo carboxilo terminal se une a la proteína con dominio SUN, Mps3. La proteína Mps3 se sitúa en el SPB (**Figura 11A**) y en la INM, sin embargo su unión con Csm4 sólo se produce desde su localización en la INM (**Figura 12B**). Así, Mps3 se une, por su extremo carboxilo terminal a Csm4 mientras que por su extremo amino terminal se une a la proteína telomérica Ndj1, la cual se induce específicamente en meiosis (Conrad et al., 1997; Chua and Roeder, 1997). La interacción entre Mps3 y Ndj1 permite y estabiliza el anclaje de los telómeros a la EN (Conrad et al., 2007). De este modo, las fuerzas generadas en el citoplasma por los cables de actina son transmitidas hasta los cromosomas. De hecho, la latrunculina B, una droga que despolimeriza la actina, inhibe el rápido movimiento de los cromosomas y reduce significativamente las deformaciones nucleares típicas de profase, indicando que los cables de actina son necesarios para el correcto movimiento de los cromosomas (Koszul et al., 2008). Actualmente, en *S. cerevisiae* se desconocen las proteínas que interaccionan con los cables de actina y Csm4.

La reorganización del núcleo durante la profase meiótica en *S. cerevisiae* se produce de la siguiente manera (**Figura 13**): inicialmente, en estadios premeióticos, los cromosomas se encuentran en lo que se conoce como orientación de Rab1. En esta configuración, los centrómeros se encuentran agrupados en un solo *cluster* en el SPB, mientras que los telómeros se encuentran asociados a la EN en varios *clusters* (de 2 a 8). Durante la profase meiótica se produce una reestructuración del núcleo a través de los movimientos rápidos de los cromosomas (RPMs, *Rapid Prophase Movements*), permitiendo la búsqueda de los cromosomas homólogos, la sinapsis y la recombinación entre ellos. Así, durante el estadio de leptotene-zigotene, los telómeros se anclan a la EN y dispersan sus *clusters* hasta converger en uno solo cerca del SPB, mientras que los centrómeros se disocian del SPB. A esta configuración se le denomina *bouquet* meiótico. La organización en *bouquet* es un

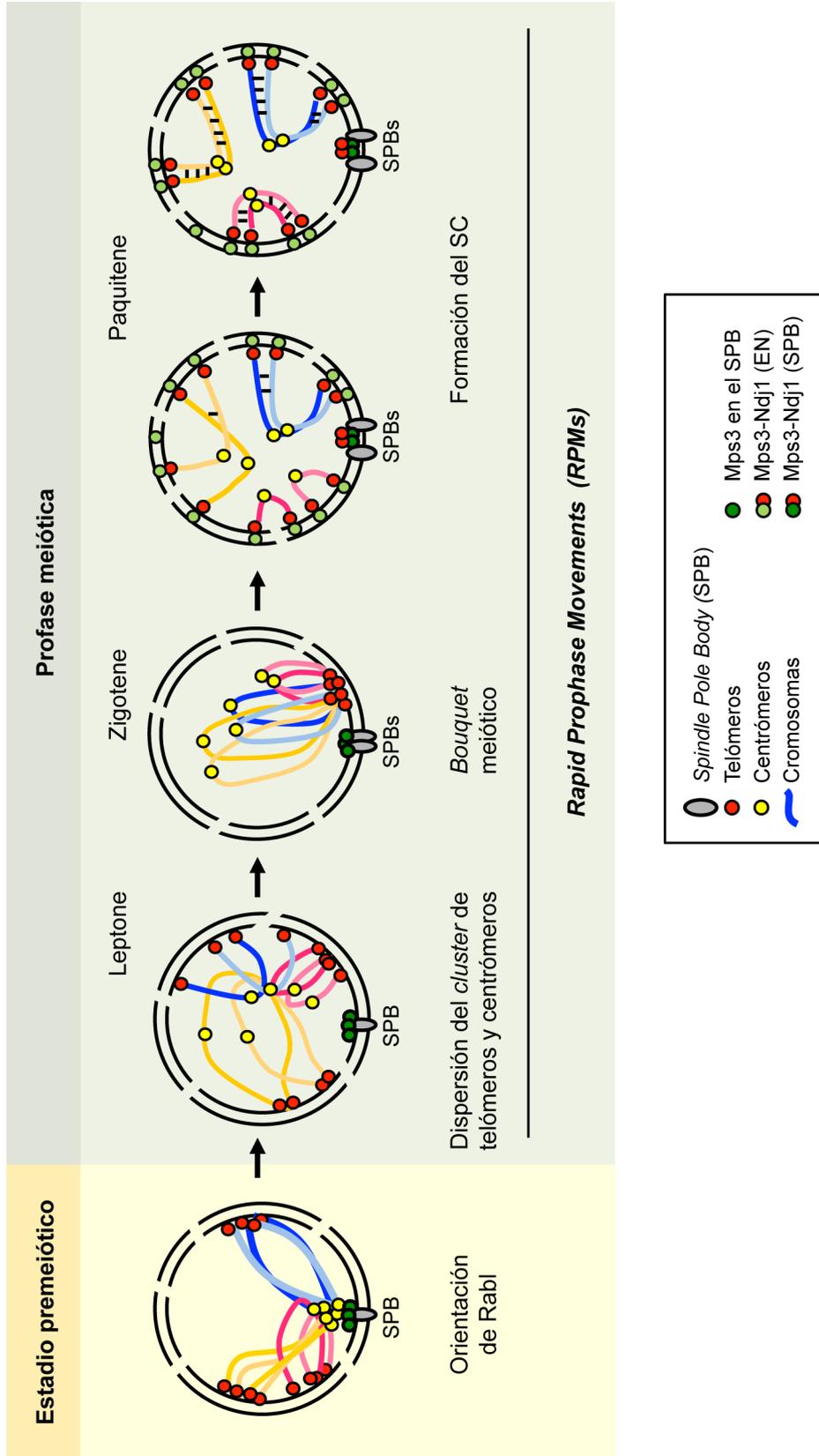


Figura 13. Reorganización del núcleo en *S. cerevisiae* durante la profase meiótica. Representación esquemática de la reorganización del núcleo durante la profase meiótica. En estadios premeióticos se produce la configuración de Rabi1, en la cual los centrómeros se encuentran asociados al SPB, mientras que los telómeros se agrupan en varios clusters. Durante la profase meiótica temprana, se produce la formación del *bouquet* meiótico, donde los telómeros se anclan a la EN y se agrupan en un solo cluster cerca del SPB, y los centrómeros se disocian del SPB. Posteriormente, los telómeros se dispersan de nuevo por toda la EN, y se produce la búsqueda de los cromosomas homólogos. Una vez que los cromosomas homólogos se han encontrado, se produce la formación del SC y la recombinación entre ellos. Durante el proceso de recombinación, los dos SPBs se mantienen asociados hasta que el proceso de recombinación finaliza.

proceso transitorio, durante el cual se producen las DSBs y se inicia la sinapsis. Posteriormente, durante el estadio de zigotene tardío-paquitene, los telómeros unidos a complejos LINC se dispersan de nuevo por la EN, y una vez que los cromosomas homólogos se han encontrado, se produce la elongación del SC permitiendo la sinapsis y facilitando la recombinación entre ellos. Durante éste estadio, el SPB se duplica pero la cohesión de los SPBs se mantiene gracias a la proteína Ndj1 (**Figura 11B**) (Li et al., 2015). Una vez finalizado el proceso de recombinación, la proteína telomérica Ndj1 se degrada permitiendo que los telómeros se desensamblen de la EN, se separen los SPBs duplicados y se forme el huso de la primera división meiótica. De esta manera se ha sugerido que la dinámica del SPB y el movimiento de los cromosomas está acoplada permitiendo la correcta recombinación meiótica y la segregación de los cromosomas.

Actualmente se desconoce la función exacta del *bouquet* meiótico. Tradicionalmente, se pensaba que la formación del *bouquet* facilitaba el apareamiento de los cromosomas homólogos en *S. cerevisiae*, puesto que mutantes defectivos en la formación del *bouquet* (*ndj1Δ*, *mps3Δ2-64* y *csn4Δ*) muestran un retraso en el apareamiento de homólogos (Conrad et al., 2008; Conrad et al., 2007; Trelles-Sticken et al., 2000). Sin embargo, se ha descrito que estos defectos en el apareamiento se deben al retraso en la progresión meiótica de estos mutantes y no a defectos en la formación del *bouquet*, puesto que se han descubierto mutantes defectivos para la formación del *bouquet* (*mps3Δ65-145* y *mps3Δ240-430*), cuya progresión meiótica y cinética de apareamiento de homólogos es normal (Lee et al., 2012). En cambio, se ha establecido que los RPMs facilitan el apareamiento de los cromosomas homólogos. Esta función adquiere una mayor relevancia en cromosomas de pequeño tamaño, los cuales presentan más dificultades para encontrar a su homólogo en el núcleo y poseen menos sitios de inicio de la sinapsis. Además, se ha propuesto que los RPMs podrían tener algunas funciones adicionales como la eliminación de la formación de COs cerca de los telómeros, o de las uniones inespecíficas (*interlocks*) entre cromosomas no homólogos (Kozul and Kleckner, 2009; Storlazzi et al., 2010). En *S. cerevisiae*, los mutantes *ndj1Δ*, *mps3Δ2-64* y *csn4Δ* presentan defectos en la formación del *bouquet*, RPMs, retraso en el apareamiento de homólogos, en la formación del SC y en la progresión meiótica; además de una menor viabilidad de las esporas, y elevados niveles de recombinación ectópica (Conrad et al., 2008; Conrad et al., 2007; Chua and Roeder, 1997; Sonntag Brown et al., 2011; Trelles-Sticken et al., 2000).

2.2.2. Reorganización del núcleo en otros organismos modelo.

A pesar de que la formación del complejo LINC, el *bouquet* meiótico, y los RPMs se encuentran muy conservados en la escala evolutiva, existen algunas diferencias entre algunos de los principales organismos modelo:

- *S. pombe*: la levadura de fisión carece de SC, por lo que necesita que el movimiento de los cromosomas se produce de manera más drástica que en *S. cerevisiae* para facilitar la asociación de los cromosomas homólogos y su recombinación. Así, después de la cariogamia, la levadura de fisión presenta un movimiento característico denominado *horse tail* (del inglés, cola de caballo). Este

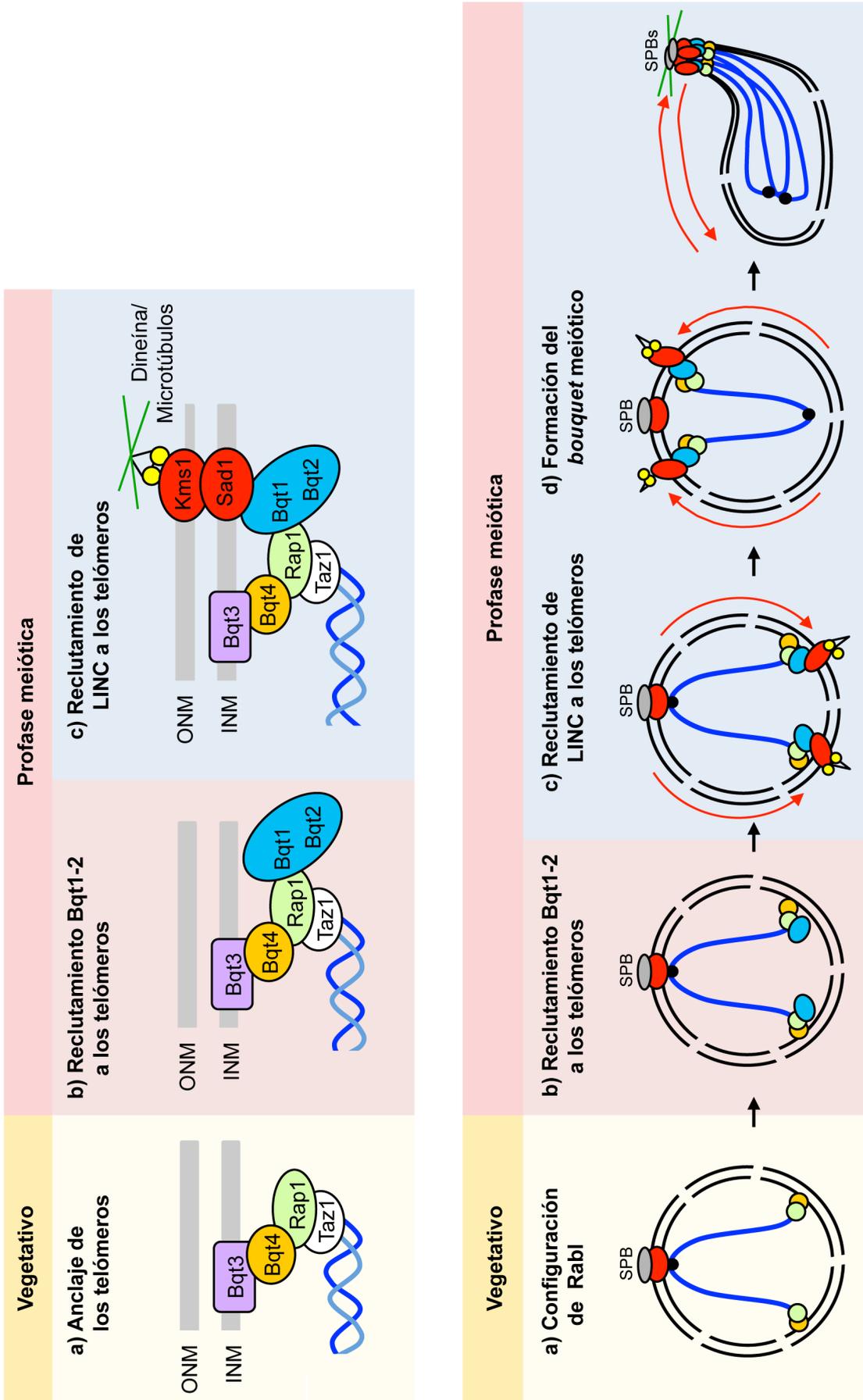


Figura 14. Reorganización del núcleo en *S. pombe*, durante la profase meiótica. (A) Esquema de las proteínas implicadas en el anclaje de los telómeros a la EN durante crecimiento vegetativo (a), y durante la profase meiótica (b-c). **(B)** Reorganización del núcleo durante la profase meiótica. Las proteínas implicadas se corresponden con las proteínas representadas en el apartado A en el mismo color. Los centrómeros se representan como círculos negros. Ver detalles en el texto.

movimiento se caracteriza porque los telómeros se asocian al SPB, que unido a los microtúbulos, es el encargado de dirigir el movimiento de los cromosomas de un extremo a otro de la célula (Chikashige et al., 2007).

En *S. pombe*, el complejo LINC está formado por Kms1 (proteína KASH) y Sad1 (proteína SUN). Además, Sad1 se une a proteínas de interacción con los telómeros (Bqt1-4, Rap1 y Taz1) y Kms1 se une a los microtúbulos a través de la dineína (**Figura 14Ac**). Así, la reorganización del núcleo en *S. pombe* se produce de la siguiente manera: durante el ciclo vegetativo, los centrómeros se encuentran asociados al SPB y los telómeros se asocian a la EN a través de las proteínas Bqt3-4 dando lugar a la configuración de Rabl (Chikashige et al., 2010) (**Figura 14Ba, 14Aa**). En respuesta a las feromonas sexuales, se induce la expresión de las proteínas Bqt1-2, lo que constituye un prerequisite necesario para que se produzca la formación del *bouquet* meiótico. Así, Bqt1-2 se unen a los telómeros (**Figura 14Ab, 14Bb**) y, a continuación, se produce el reclutamiento de complejos LINC (Sad1/Kms1) a esas regiones (Chikashige et al., 2006; Yoshida et al., 2013) (**Figura 14Ac, 14Bc**). Posteriormente, ocurre la formación del *bouquet* meiótico (**Figura 14Bd**) y tras el proceso de cariogamia, se produce el movimiento de *horse tail* de un lado a otro del núcleo (**Figura 14Be**) permitiendo la asociación de los cromosomas homólogos y su recombinación.

- *C.elegans*: Al contrario que en *S. cerevisiae*, el apareamiento de los cromosomas homólogos y la formación del SC en *C. elegans* es independiente de las DSBs meióticas y la recombinación (Dernburg et al., 1998), aunque la reparación de las DSBs ocurre en el contexto de la formación del SC. En *C. elegans*, el complejo LINC está formado por SUN-1 (proteína con dominio SUN) y ZYG-12 (proteína con dominio KASH). La proteína SUN-1 interacciona con las proteínas teloméricas ZIMs (ZIM-1, ZIM-2, ZIM-3 y HIM-8), y ZYG-12 se une a los microtúbulos a través de la dineína (**Figura 15A**). En este caso, para que ocurra el apareamiento de los cromosomas homólogos es necesaria la existencia de centros de apareamiento o regiones de reconocimiento de homología (PC, *pairing centers*) (Phillips et al., 2009). Los PC son regiones teloméricas, ricas en repeticiones heterocromáticas, en donde se reclutan las proteínas ZIMs (Phillips and Dernburg, 2006; Phillips et al., 2005). Estas proteínas reclutan a su vez a la polo quinasa PLK-2, que fosforila a SUN-1 estabilizando la formación de agregados móviles de complejos LINC, el apareamiento de los cromosomas homólogos y la sinapsis (**Figura 15B**) (Harper et al., 2011; Labella et al., 2011)

- Mamíferos: Durante la profase meiótica, las proteínas teloméricas específicas de meiosis TERB1, TERB2 y TFR1 se unen inicialmente a una proteína de la EN (MAJIN, *membrane-anchored junction protein*) estableciendo una interacción inicial entre los telómeros y la EN. Esta unión es un prerequisite necesario para que se produzca el reclutamiento de complejos SUN-KASH (Shibuya et al., 2015). Existen dos proteínas con dominio SUN (SUN1 y SUN2) específicas de meiosis. La proteína SUN1 colocaliza con los telómeros y es necesaria para la unión de los cromosomas a la EN, el apareamiento de los cromosomas, la sinapsis y la recombinación (Ding et al., 2007), mientras que la proteína SUN2 se localiza en las placas de unión de telómeros meióticos (Schmitt et al., 2007) y podría tener un papel parcialmente redundante con SUN1 (Link et al., 2014). En este caso, la proteína con dominio KASH (KASH5) interacciona con los complejos

dineína-dinactina asociados a los microtúbulos permitiendo el movimiento de los cromosomas (Morimoto et al., 2012).

Además, se ha descrito que la quinasa CDK2 es necesaria para que los complejos SUN1/KASH5 difundan lateralmente por toda la EN permitiendo el correcto anclaje y movimiento de los cromosomas, y se ha sugerido que CDK2 podría estar fosforilando a SUN1 (Viera et al., 2015). Además, se sabe que la unión estable de los telómeros a la EN requiere de la fosforilación de una proteína telomérica (TERB1-T647) por CDK (Shibuya et al., 2015).

- Plantas: curiosamente, en *Arabidopsis* se produce una inusual asociación de los telómeros con el nucleolo durante la interfase meiótica-leptotene medio, y es durante este estadio cuando se produce el apareamiento de los telómeros. Durante zigotene, los centrómeros se asocian entre ellos y los telómeros pierden su confinamiento en un hemisferio del núcleo situándose en la periferia. Así, el núcleo adquiere una conformación que recuerda al *bouquet* meiótico de otras especies. Finalmente, en paquitene los telómeros y centrómeros se distribuyen por el núcleo (Armstrong et al., 2001; Varas et al., 2015). En plantas, las proteínas con dominio SUN (AtSUN1 y AtSUN2) se unen proteínas con dominio KASH (SINE-1 y SINE-2) y estas a su vez se unen directamente a la actina (Tatout et al., 2014). Además, las proteínas SUN también pueden unirse a otras proteínas de la ONM como (AtWIP1-3), las cuales interactúan con la proteína WIT1 que se asocia directamente con la miosina XI-I (Tamura et al., 2013). En ausencia de AtSUN1 y AtSUN2, los telómeros no se anclan correctamente a la EN, se produce un retraso en la progresión meiótica, defectos en sinapsis y en la formación de quiasmas (Varas et al., 2015).

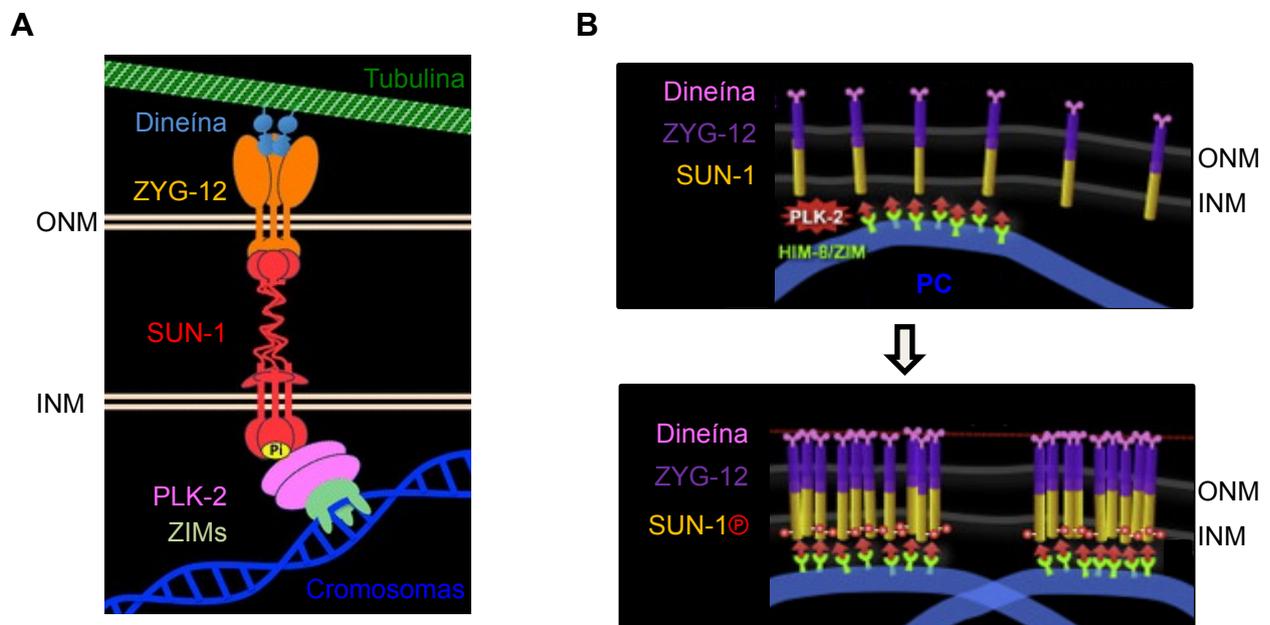


Figura 15. El complejo LINC en *C. elegans*. (A) Representación de los componentes del complejo LINC en *C. elegans*: proteína con dominio SUN (SUN-1), proteína con dominio KASH (ZYG-12), proteínas teloméricas ZIMs (ZIM-1, ZIM-2, ZIM-3 y HIM-8) a las cuales se asocia PLK-2 para fosforilar a SUN-1, y proteínas de unión a los microtúbulos, como la dineína. Imagen modificada de (Woglar and Jantsch, 2014). (B) Representación de la formación de agregados de complejos LINC (SUN-1/ZYG-12), gracias a la fosforilación de SUN-1 llevada a cabo por PLK-2. Imagen modificada de (Harper et al., 2011).

2.3. El *checkpoint* de recombinación meiótica.

En organismos eucariotas existen mecanismos de control o de vigilancia del ciclo celular, conocidos como *checkpoints*. El término *checkpoint* fue introducido por Lee Hartwell en 1989 (Hartwell and Weinert, 1989). Estos mecanismos de vigilancia impiden la iniciación de un evento tardío del ciclo celular mientras no se haya completado con éxito uno más temprano. Así, los *checkpoints* son rutas de señalización necesarias para reforzar que los procesos celulares ocurran en el orden adecuado (Subramanian and Hochwagen, 2014) y constituyen mecanismos esenciales de supervivencia cuando existen daños o defectos.

Los *checkpoints* constan de varios componentes que actúan a distintos niveles (**Figura 16A**). Los sensores detectan el daño en el DNA o el proceso celular defectivo y, transmiten la señal hasta los efectores, habitualmente mediante una cascada de fosforilaciones. Estos efectores son generalmente quinasas que actúan sobre diversas moléculas diana provocando distintas respuestas celulares dependiendo de la naturaleza del daño en el DNA, de la fase del ciclo celular en que se haya producido dicho daño o del evento defectivo que provocó la activación del *checkpoint*. Además, se ha descrito la existencia de mediadores o adaptadores que conectan los elementos sensores con los efectores y promueven la interacción entre ellos para facilitar la transmisión de la señal (Melo and Toczyski, 2002). Entre los mecanismos de vigilancia más conocidos se encuentra el *checkpoint* de daño en el DNA, el *checkpoint* de replicación y el *checkpoint* de ensamblaje del huso (SAC, *Spindle Assembly Checkpoint*). Además, existe un mecanismo de control que funciona específicamente durante la profase meiótica, que es el denominado *checkpoint* de recombinación meiótica o de paquitene.

La función del *checkpoint* de recombinación meiótica o de paquitene es impedir la entrada de las células en meiosis I hasta que la sinapsis y la recombinación entre los cromosomas homólogos se haya completado correctamente. Cuando alguno de estos procesos es defectivo, este *checkpoint* se activa y retrasa o bloquea la salida de profase meiótica (Longhese et al., 2009; MacQueen and Hochwagen, 2011; Roeder and Bailis, 2000). A continuación, se describe el actual modelo propuesto para la activación del *checkpoint* de recombinación meiótica en *S. cerevisiae* (**Figura 16B**):

Las proteínas sensoras Mec1/Ddc2, Rad24/RFC y el complejo “9-1-1” detectan los intermediarios de recombinación generados por DSBs meióticas sin reparar (MacQueen and Hochwagen, 2011; Subramanian and Hochwagen, 2014). La señalización de este daño produce la activación de la quinasa efectora Mek1, bloqueando la entrada en meiosis I hasta que las DSBs se hayan reparado correctamente. Para que la señal de daño sea transmitida hasta la quinasa Mek1 se necesita de las proteínas adaptadoras de los LEs, Hop1 y Red1. En concreto, la fosforilación de Hop1 en la T318 produce la activación completa de Mek1 (Carballo et al., 2008; Penedos et al., 2015). Para que se produzca la correcta fosforilación de Hop1 se necesitan proteínas adaptadoras como Dot1 y Pch2. La proteína Dot1 metila la K79 de la histona H3 y recluta a la ATPasa Pch2 al nucleolo, favoreciendo la correcta localización de Hop1 en los cromosomas (Ontoso et al., 2013) y

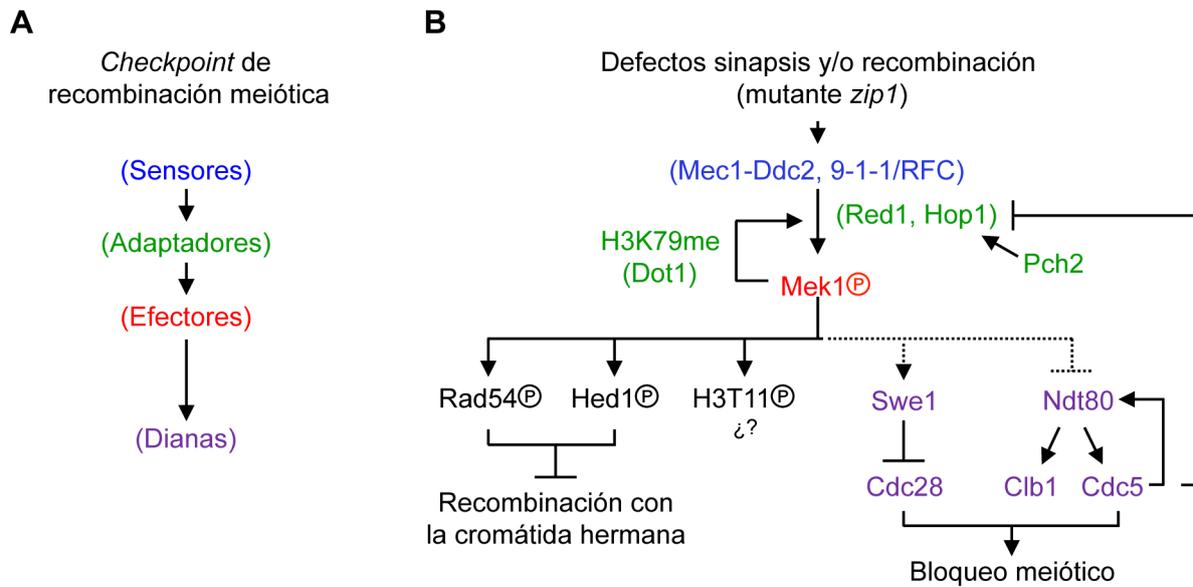


Figura 16. El *checkpoint* de recombinación meiótica. (A) Representación esquemática de los componentes generales de la ruta de los checkpoints. (B) Componentes principales de la ruta del *checkpoint* de recombinación meiótica en *S. cerevisiae*. Actualmente se desconoce si la acción de Mek1 sobre Swe1 y Ndt80 es directa o indirecta.

permitiendo la fosforilación de Hop1 (Herruzo et al., 2016) por las quinasas Mec1y Tel1 (proteínas homólogas a ATM y ATR en mamíferos) (Carballo et al., 2008; Penedos et al., 2015). La proteína Red1 que forma parte de los LEs del SC (Smith and Roeder, 1997) también es esencial para que se produzca la fosforilación de Hop1 y la consiguiente activación de Mek1 (Eichinger and Jentsch, 2010; Wan et al., 2004). Mediante el empleo de geles de Phostag es posible visualizar las distintas bandas de fosforilación de Mek1 (Ontoso et al., 2013). Así, la primera banda de fosforilación de Mek1 se produce gracias a la acción de las quinasas Mec1/Tel1, mientras que las bandas superiores se corresponden con la autofosforilación en *trans* de Mek1 (Thr 327 y Thr331) (Niu et al., 2007). Una vez que se ha producido la activación completa de Mek1, ésta lleva a cabo dos procesos:

- Mek1 refuerza la recombinación entre cromosomas homólogos evitando la recombinación con la cromátida hermana. Para que se produzca la recombinación con la cromátida hermana es necesaria la formación del complejo Rad51-Rad54. La quinasa Mek1 inhibe la formación de este complejo regulando la actividad de Rad51 a través de dos mecanismos: por un lado, Mek1 fosforila la Thr132 de Rad54, reduciendo así su afinidad por Rad51 (Niu et al., 2009); y por otro lado, Mek1 fosforila la Thr40 de Hed1, estabilizando a Hed1 e impidiendo así la formación del complejo Rad51-Rad54 (Callender et al., 2016).

- Mek1 inhibe la salida de profase meiótica y la entrada en meiosis I hasta que se haya producido la correcta reparación de las DSBs. Esta inhibición se produce mediante la actuación de Mek1 sobre dos dianas: la quinasa Swe1 y el factor de transcripción Ndt80. Actualmente, se desconoce si esta inhibición ocurre directa o indirectamente.

La quinasa Swe1 inhibe la activación de Cdc28, la principal CDK (*Cyclin-Dependent Kinase*)

de *S. cerevisiae* mediante la fosforilación de la Tyr19. Para que Cdc28 se encuentre activa son necesarios dos requisitos: la unión a su ciclina Clb1 y la desfosforilación de su residuo Tyr19.

Así, cuando el *checkpoint* de recombinación se encuentra activo y, por tanto Mek1 está completamente fosforilada, Swe1 se estabiliza e inhibe a Cdc28 mediante su fosforilación en la Y19 (Leu and Roeder, 1999). Por su parte, la fosfatasa Mih1 es la encargada de la desfosforilación de Cdc28-Y19 una vez que se desactiva el *checkpoint*, permitiendo la reanudación de la progresión meiótica (Gil-Torres I, TFM). Por otro lado, la activación de Mek1 inhibe el factor de transcripción Ndt80, el cual es necesario para la transcripción de alrededor de 150 genes medios, entre los cuales se encuentran genes requeridos para la salida de paquitene, como la polo-quinasa *CDC5* (Sourirajan and Lichten, 2008), para las divisiones nucleares, como la ciclina *CLB1* (Chu and Herskowitz, 1998) y para la morfogénesis de las esporas, como *SMK1* (Pierce et al., 2003). La clave de esta inducción masiva de genes por parte de Ndt80, se debe a su unión a los elementos de esporulación medios (MSE, *Middle Sporulation Elements*) presentes en los promotores de la mayoría de los genes medios requeridos para la entrada de las células en meiosis I.

La transcripción de *NDT80* es compleja y se encuentra altamente regulada (Winter, 2012). Inicialmente, se produce una inducción basal de *NDT80* mediada por la expresión de Ime1. Posteriormente, el represor Sum1 es marcado para su degradación mediante su fosforilación mediada por Ime2, Cdc28 y Cdc7 (Corbi et al., 2014). El promotor de *NDT80* contiene un MSE reprimible por Sum1 e inducible por Ndt80, por lo que se ha propuesto que la competición entre Ndt80 y Sum1 por unirse a los MSE regula la expresión de los genes medios (Chu et al., 1998; Lindgren et al., 2000; Pierce et al., 2003). Finalmente, la activación de Ndt80 requiere su fosforilación mediada Ime2 y Cdc5. Niveles basales de Cdc5 son necesarios para la activación inicial de Ndt80, permitiendo la unión de Ndt80 a su propio promotor y generando un bucle de autoactivación (Acosta et al., 2011). Además, se ha descrito que Ndt80 podría estar regulada post-transcripcionalmente mediante su localización puesto que, en una cepa silvestre, Ndt80 se encuentra localizada en el núcleo, mientras que en mutantes como *zip1* o *dmc1*, Ndt80 se encuentra en el citoplasma (Wang et al., 2011b). Se ha propuesto que Ndt80 podría ser retenida en el citoplasma cuando el *checkpoint* de recombinación está activo, evitando así su entrada en el núcleo y por tanto la activación de genes requeridos para la entrada en meiosis I.

Así, la activación de Mek1 bloquea la entrada en meiosis I a través de dos vías: mediante la inhibición de Cdc28 (CDK) por Swe1 y mediante la inhibición de Ndt80, y por tanto de genes medios requeridos para la entrada en meiosis I, como la ciclina *CLB1* necesaria para la activación de Cdc28 y de *CDC5*, requerida para la resolución de dHJs, el desensamblaje del SC (Sourirajan and Lichten, 2008) y la completa desactivación de Mek1 (Prugar et al., 2017), entre otras funciones.

Para el estudio del *checkpoint* de recombinación en *S. cerevisiae*, se emplean mutantes como *zip1*, *dmc1*, *hop1* y *sae2* que presentan defectos en reparación de las DSBs, formación de COs o del SC, y por tanto mantienen el *checkpoint* de recombinación activo. La proteína Zip1 forma

parte de la región central del SC y, por tanto, los mutantes *zip1* son defectivos en sinapsis (Sym et al., 1993). Además, el mutante *zip1* presenta defectos en la formación de COs puesto que no se resuelven de manera adecuada los intermediarios de *Holliday* (Borner et al., 2004). Dmc1 es una proteína específica de meiosis homóloga a RecA. Los mutantes *dmc1* presentan DSBs procesadas sin reparar dado que la invasión de la cadena homóloga no se produce (Bishop et al., 1992). La proteína Hop2 forma un complejo con Mnd1, facilitando la recombinación meiótica entre homólogos dependiente de Dmc1. Los mutantes *hop2* presentan sinapsis entre cromosomas no homólogos (Leu et al., 1998) y DSBs procesadas sin reparar (Chen et al., 2004; Henry et al., 2006; Tsubouchi and Roeder, 2002, 2003). La proteína Sae2 participa en la resección de DSBs, por lo que mutantes *sae2* presentan DSBs sin procesar y sin reparar (Keeney et al., 1997; McKee and Kleckner, 1997; Prinz et al., 1997). En concreto, en este trabajo empleamos un mutante *zip1* para el análisis de la activación del *checkpoint* de recombinación meiótica.

El *checkpoint* de recombinación meiótica se encuentra muy conservado en la escala evolutiva, existiendo en levaduras (Nyberg et al., 2002; Perez-Hidalgo et al., 2003), *C. elegans* (Bhalla and Dernburg, 2005), *D. melanogaster* (Joyce and McKim, 2009) y mamíferos (de Rooij and de Boer, 2003; Pacheco et al., 2015). De este modo, su estudio en organismos modelo como *S. cerevisiae* permite avanzar en el conocimiento del funcionamiento de los mecanismos de control de la meiosis en eucariotas superiores.

En humanos, diversos estudios muestran que las aneuploidías resultantes de errores meióticos son la principal causa de abortos espontáneos, defectos de nacimiento (síndrome de Down, etc.) e infertilidad (Burgoyne et al., 2009; Hassold and Hunt, 2001; Nagaoka et al., 2012). Así, el conocimiento detallado del funcionamiento de los mecanismos de control de los diferentes eventos meióticos puede ayudar a entender cómo se desarrollan determinadas patologías, lo que contribuye en un primer paso para su prevención.

Objetivos

El objetivo principal de esta Tesis es la realización de un estudio completo de las posibles funciones de la histona variante H2A.Z durante la meiosis en *S. cerevisiae*.

Para facilitar la comprensión de este estudio, la memoria se ha estructurado en tres capítulos:

- **Capítulo 1**, se analiza el papel de H2A.Z en la ruta del *checkpoint* de recombinación meiótica, la cual se activa en respuesta a defectos en los procesos de sinapsis y/o recombinación (mutante *zip1*).
- **Capítulo 2**, se realiza una caracterización general del mutante *htz1*, así como un análisis de la localización de H2A.Z y su relación con otros genes en profase meiótica.
- **Capítulo 3**, se analiza el papel de H2A.Z en el movimiento rápido de los cromosomas durante la profase meiótica, y su relación con la proteína Mps3, durante la meiosis sin perturbar (*checkpoint* inactivo).

Bibliografía

Acosta, I., Ontoso, D., and San-Segundo, P.A. (2011). The budding yeast polo-like kinase Cdc5 regulates the Ndt80 branch of the meiotic recombination checkpoint pathway. *Molecular biology of the cell* 22, 3478-3490.

Akey, C.W., and Luger, K. (2003). Histone chaperones and nucleosome assembly. *Current opinion in structural biology* 13, 6-14.

Alberts B, Johnson A, Lewis J, et al. (2002). Chromosomal DNA and its packaging in the chromatin fiber. *Molecular Biology of the Cell*. 4th edition. New York: Garland Science.

Altaf, M., Auger, A., Monnet-Saksouk, J., Brodeur, J., Piquet, S., Cramet, M., Bouchard, N., Lacoste, N., Utle, R.T., Gaudreau, L., et al. (2010). NuA4-dependent acetylation of nucleosomal histones H4 and H2A directly stimulates incorporation of H2A.Z by the SWR1 complex. *The Journal of biological chemistry* 285, 15966-15977.

Allers, T., and Lichten, M. (2001). Differential timing and control of noncrossover and crossover recombination during meiosis. *Cell* 106, 47-57.

Allis, C.D., Glover, C.V., Bowen, J.K., and Gorovsky, M.A. (1980). Histone variants specific to the transcriptionally active, amitotically dividing macronucleus of the unicellular eucaryote, *Tetrahymena thermophila*. *Cell* 20, 609-617.

Arents, G., and Moudrianakis, E.N. (1993). Topography of the histone octamer surface: repeating structural motifs utilized in the docking of nucleosomal DNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 90, 10489-10493.

Armstrong, S.J., Franklin, F.C., and Jones, G.H. (2001). Nucleolus-associated telomere clustering and pairing precede meiotic chromosome synapsis in *Arabidopsis thaliana*. *Journal of cell science* 114, 4207-4217.

Avena, J.S., Burns, S., Yu, Z., Ebmeier, C.C., Old, W.M., Jaspersen, S.L., and Winey, M. (2014). Licensing of yeast centrosome duplication requires phosphoregulation of sfi1. *PLoS genetics* 10, e1004666.

Babiarz, J.E., Halley, J.E., and Rine, J. (2006). Telomeric heterochromatin boundaries require NuA4-dependent acetylation of histone variant H2A.Z in *Saccharomyces cerevisiae*. *Genes & development* 20, 700-710.

Banerjee, I., Zhang, J., Moore-Morris, T., Pfeiffer, E., Buchholz, K.S., Liu, A., Ouyang, K., Stroud, M.J., Gerace, L., Evans, S.M., et al. (2014). Targeted ablation of nesprin 1 and nesprin 2 from murine myocardium results in cardiomyopathy, altered nuclear morphology and inhibition of the biomechanical gene response. *PLoS genetics* 10, e1004114.

Berchowitz, L.E., and Copenhaver, G.P. (2010). Genetic interference: don't stand so close to me. *Current genomics* 11, 91-102.

Bhalla, N., and Dernburg, A.F. (2005). A conserved checkpoint monitors meiotic chromosome synapsis in *Caenorhabditis elegans*. *Science* 310, 1683-1686.

Billon, P., and Cote, J. (2013). Precise deposition of histone H2A.Z in chromatin for genome expression and maintenance. *Biochimica et biophysica acta* 1819, 290-302.

Bishop, D.K., and Zickler, D. (2004). Early decision; meiotic crossover interference prior to stable strand exchange and synapsis. *Cell* 117, 9-15.

Bishop, D.K. (1994). RecA homologs Dmc1 and Rad51 interact to form multiple nuclear complexes prior to meiotic chromosome synapsis. *Cell* 79, 1081-1092.

Bishop, D.K., Park, D., Xu, L., and Kleckner, N. (1992). DMC1: a meiosis-specific yeast homolog of *E. coli* recA required for recombination, synaptonemal complex formation, and cell cycle progression. *Cell* 69, 439-456.

Bone, C.R., and Starr, D.A. (2016). Nuclear migration events throughout development. *Journal of cell science* 129, 1951-1961.

Borner, G.V., Kleckner, N., and Hunter, N. (2004). Crossover/noncrossover differentiation, synaptonemal complex formation, and regulatory surveillance at the leptotene/zygotene transition of meiosis. *Cell* 117, 29-45.

Boulard, M., Bouvet, P., Kundu, T.K., and Dimitrov, S. (2007). Histone variant nucleosomes: structure, function and implication in disease. *Sub-cellular biochemistry* 41, 71-89.

Brickner, D.G., Cajigas, I., Fondufe-Mittendorf, Y., Ahmed, S., Lee, P.C., Widom, J., and Brickner, J.H. (2007). H2A.Z-mediated localization of genes at the nuclear periphery confers epigenetic memory of previous transcriptional state. *PLoS biology* 5, e81.

Brooker, A.S., and Berkowitz, K.M. (2014). The roles of cohesins in mitosis, meiosis, and human health and disease. *Methods Mol Biol* 1170, 229-266.

Buhler, C., Borde, V., and Lichten, M. (2007). Mapping meiotic single-strand DNA reveals a new landscape of DNA double-strand breaks in *Saccharomyces cerevisiae*. *PLoS biology* 5, e324.

Burgoyne, P.S., Mahadevaiah, S.K., and Turner, J.M. (2009). The consequences of asynapsis for mammalian meiosis. *Nature reviews Genetics* 10, 207-216.

Cahoon, C.K., and Hawley, R.S. (2016). Regulating the construction and demolition of the synaptonemal complex. *Nature structural & molecular biology* 23, 369-377.

Callender, T.L., Laureau, R., Wan, L., Chen, X., Sandhu, R., Laljee, S., Zhou, S., Suhandynata, R.T., Prugar, E., Gaines, W.A., et al. (2016). Mek1 Down Regulates Rad51 Activity during Yeast Meiosis by Phosphorylation of Hed1. *PLoS genetics* 12, e1006226.

Carballo, J.A., Johnson, A.L., Sedgwick, S.G., and Cha, R.S. (2008). Phosphorylation of the axial element protein Hop1 by Mec1/Tel1 ensures meiotic interhomolog recombination. *Cell* 132, 758-770.

Carr, A.M., Dorrington, S.M., Hindley, J., Phear, G.A., Aves, S.J., and Nurse, P. (1994). Analysis of a histone H2A variant from fission yeast: evidence for a role in chromosome stability. *Molecular & general genetics : MGG* 245, 628-635.

Cavero, S., Herruzo, E., Ontoso, D., and San-Segundo, P.A. (2016). Impact of histone H4K16 acetylation on the meiotic recombination checkpoint in *Saccharomyces cerevisiae*. *Microb Cell* 3, 606-620.

Clapier, C.R., and Cairns, B.R. (2009). The biology of chromatin remodeling complexes. *Annual review of biochemistry* 78, 273-304.

Clarkson, M.J., Wells, J.R., Gibson, F., Saint, R., and Tremethick, D.J. (1999). Regions of variant histone His2AvD required for *Drosophila* development. *Nature* 399, 694-697.

Cloud, V., Chan, Y.L., Grubb, J., Budke, B., and Bishop, D.K. (2012). Rad51 is an accessory factor for Dmcl1-mediated joint molecule formation during meiosis. *Science* 337, 1222-1225.

Clyne, R.K., Katis, V.L., Jessop, L., Benjamin, K.R., Herskowitz, I., Lichten, M., and Nasmyth, K. (2003). Polo-like kinase Cdc5 promotes chiasmata formation and cosegregation of sister centromeres at meiosis I. *Nature cell biology* 5, 480-485.

Conrad, M.N., Lee, C.Y., Chao, G., Shinohara, M., Kosaka, H., Shinohara, A., Conchello, J.A., and Dresser, M.E. (2008). Rapid telomere movement in meiotic prophase is promoted by NDJ1, MPS3, and CSM4 and is modulated by recombination. *Cell* 133, 1175-1187.

Conrad, M.N., Lee, C.Y., Wilkerson, J.L., and Dresser, M.E. (2007). MPS3 mediates meiotic bouquet formation in *Saccharomyces cerevisiae*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 104, 8863-8868.

Conrad, M.N., Dominguez, A.M., and Dresser, M.E. (1997). Ndj1p, a meiotic telomere protein required for normal chromosome synapsis and segregation in yeast. *Science* 276, 1252-1255.

Cook, A., Bono, F., Jinek, M., and Conti, E. (2007). Structural biology of nucleocytoplasmic transport. *Annual review of biochemistry* 76, 647-671.

Corbi, D., Sunder, S., Weinreich, M., Skokotas, A., Johnson, E.S., and Winter, E. (2014). Multisite

phosphorylation of the Sum1 transcriptional repressor by S-phase kinases controls exit from meiotic prophase in yeast. *Molecular and cellular biology* 34, 2249-2263.

Chen, X., Suhandynata, R.T., Sandhu, R., Rockmill, B., Mohibullah, N., Niu, H., Liang, J., Lo, H.C., Miller, D.E., Zhou, H., et al. (2015). Phosphorylation of the Synaptonemal Complex Protein Zip1 Regulates the Crossover/Noncrossover Decision during Yeast Meiosis. *PLoS biology* 13, e1002329.

Chen, Y.K., Leng, C.H., Olivares, H., Lee, M.H., Chang, Y.C., Kung, W.M., Ti, S.C., Lo, Y.H., Wang, A.H., Chang, C.S., et al. (2004). Heterodimeric complexes of Hop2 and Mnd1 function with Dmc1 to promote meiotic homolog juxtaposition and strand assimilation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 101, 10572-10577.

Chi-Ying L.(2009). Tesis. Bouquet formation,rapid prophase movements and homologous pairing during meiotic prophase in *Saccharomyces cerevisiae*.

Chikashige, Y., Haraguchi, T., and Hiraoka, Y. (2010). Nuclear envelope attachment is not necessary for telomere function in fission yeast. *Nucleus* 1, 481-486.

Chikashige, Y., Haraguchi, T., and Hiraoka, Y. (2007). Another way to move chromosomes. *Chromosoma* 116, 497-505.

Chikashige, Y., Tsutsumi, C., Yamane, M., Okamasa, K., Haraguchi, T., and Hiraoka, Y. (2006). Meiotic proteins bqt1 and bqt2 tether telomeres to form the bouquet arrangement of chromosomes. *Cell* 125, 59-69.

Choi, K., Zhao, X., Kelly, K.A., Venn, O., Higgins, J.D., Yelina, N.E., Harcastle, T.J., Ziolkowski, P.A., Copenhaver, G.P., Franklin, F.C., et al. (2013). Arabidopsis meiotic crossover hot spots overlap with H2A.Z nucleosomes at gene promoters. *Nature genetics* 45, 1327-1336.

Christianson, T.W., Sikorski, R.S., Dante, M., Shero, J.H., and Hieter, P. (1992). Multifunctional yeast high-copy-number shuttle vectors. *Gene* 110, 119-122.

Chu, D.B., Gromova, T., Newman, T.A.C., and Burgess, S.M. (2017). The Nucleoporin Nup2 Contains a Meiotic-Autonomous Region That Promotes the Dynamic Chromosome Events of Meiosis. *Genetics*.

Chu, S., DeRisi, J., Eisen, M., Mulholland, J., Botstein, D., Brown, P.O., and Herskowitz, I. (1998). The transcriptional program of sporulation in budding yeast. *Science* 282, 699-705.

Chu, S., and Herskowitz, I. (1998). Gametogenesis in yeast is regulated by a transcriptional cascade dependent on Ndt80. *Molecular cell* 1, 685-696.

Chua, P.R., and Roeder, G.S. (1997). Tam1, a telomere-associated meiotic protein, functions in chromosome synapsis and crossover interference. *Genes & development* 11, 1786-1800.

de Rooij, D.G., and de Boer, P. (2003). Specific arrests of spermatogenesis in genetically modified and mutant mice. *Cytogenet Genome Res* 103, 267-276.

Dernburg, A.F., McDonald, K., Moulder, G., Barstead, R., Dresser, M., and Villeneuve, A.M. (1998). Meiotic recombination in *C. elegans* initiates by a conserved mechanism and is dispensable for homologous chromosome synapsis. *Cell* 94, 387-398.

Dhillon, N., Oki, M., Szyjka, S.J., Aparicio, O.M., and Kamakaka, R.T. (2006). H2A.Z functions to regulate progression through the cell cycle. *Molecular and cellular biology* 26, 489-501.

Dhillon, N., and Kamakaka, R.T. (2000). A histone variant, Htz1p, and a Sir1p-like protein, Esc2p, mediate silencing at HMR. *Molecular cell* 6, 769-780.

Ding, X., Xu, R., Yu, J., Xu, T., Zhuang, Y., and Han, M. (2007). SUN1 is required for telomere attachment to nuclear envelope and gametogenesis in mice. *Developmental cell* 12, 863-872.

Dominguez-Kelly, R., Martin, Y., Koundrioukoff, S., Tanenbaum, M.E., Smits, V.A., Medema, R.H., Debatisse, M., and Freire, R. (2011). Wee1 controls genomic stability during replication by regulating the Mus81-Eme1 endonuclease. *The Journal of cell biology* 194, 567-579.

- DuPraw, E.J.** (1968) Cell and Molecular Biology. Academic Press, Inc.: New York.
- Duda, H., Arter, M., Gloggnitzer, J., Teloni, F., Wild, P., Blanco, M.G., Altmeyer, M., and Matos, J.** (2016). A Mechanism for Controlled Breakage of Under-replicated Chromosomes during Mitosis. *Developmental cell* 39, 740-755.
- Eichinger, C.S., and Jentsch, S.** (2010). Synaptonemal complex formation and meiotic checkpoint signaling are linked to the lateral element protein Red1. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 107, 11370-11375.
- Elserafy, M., Saric, M., Neuner, A., Lin, T.C., Zhang, W., Seybold, C., Sivashanmugam, L., and Schiebel, E.** (2014). Molecular mechanisms that restrict yeast centrosome duplication to one event per cell cycle. *Current biology* : CB 24, 1456-1466.
- Faast, R., Thonglairoam, V., Schulz, T.C., Beall, J., Wells, J.R., Taylor, H., Matthaei, K., Rathjen, P.D., Tremethick, D.J., and Lyons, I.** (2001). Histone variant H2A.Z is required for early mammalian development. *Current biology* : CB 11, 1183-1187.
- Fennell, A., Fernandez-Alvarez, A., Tomita, K., and Cooper, J.P.** (2015). Telomeres and centromeres have interchangeable roles in promoting meiotic spindle formation. *The Journal of cell biology* 208, 415-428.
- Fincham, J.R.S., Day P.R., Radford, A.** (1979). *Fungal Genetics*, 4th ed. Berkeley: University of California Press.
- Garcia-Oliver, E., Ramus, C., Perot, J., Arlotto, M., Champleboux, M., Mietton, F., Battail, C., Boland, A., Deleuze, J.F., Ferro, M., et al.** (2017). Bdf1 Bromodomains Are Essential for Meiosis and the Expression of Meiotic-Specific Genes. *PLoS genetics* 13, e1006541.
- Gardner, J.M., Smoyer, C.J., Stensrud, E.S., Alexander, R., Gogol, M., Wiegraeb, W., and Jaspersen, S.L.** (2011). Targeting of the SUN protein Mps3 to the inner nuclear membrane by the histone variant H2A.Z. *The Journal of cell biology* 193, 489-507.
- Gartenberg, M.R., and Smith, J.S.** (2016). The Nuts and Bolts of Transcriptionally Silent Chromatin in *Saccharomyces cerevisiae*. *Genetics* 203, 1563-1599.
- Gerhold, C.B., Hauer, M.H., and Gasser, S.M.** (2015). INO80-C and SWR-C: guardians of the genome. *Journal of molecular biology* 427, 637-651.
- Gielz, R. D., Schiestl, R.H., Willems, a. R. and Woods, R. A.** (1995). Studies on the transformation of intact yeast cells by the LiAc/SS-DNA/PGE procedure. *Yeast* 11, 355-60.
- Goldstein, A.L., and McCusker, J.H.** (1999). Three new dominant drug resistance cassettes for gene disruption in *Saccharomyces cerevisiae*. *Yeast* 15, 1541-1553.
- Golub, E. I.** (1988). `One minute` transformation of competent *E.coli* by plasmid DNA. *Nucleic Acids Res* 25, 1641
- Govin, J., Dorsey, J., Gaucher, J., Rousseaux, S., Khochbin, S., and Berger, S.L.** (2010). Systematic screen reveals new functional dynamics of histones H3 and H4 during gametogenesis. *Genes & development* 24, 1772-1786.
- Greaves, I.K., Rangasamy, D., Devoy, M., Marshall Graves, J.A., and Tremethick, D.J.** (2006). The X and Y chromosomes assemble into H2A.Z-containing [corrected] facultative heterochromatin [corrected] following meiosis. *Molecular and cellular biology* 26, 5394-5405.
- Gu, M., Naiyachit, Y., Wood, T.J., and Millar, C.B.** (2015). H2A.Z marks antisense promoters and has positive effects on antisense transcript levels in budding yeast. *BMC genomics* 16, 99.
- Guillemette, B., Bataille, A.R., Gevry, N., Adam, M., Blanchette, M., Robert, F., and Gaudreau, L.** (2005). Variant histone H2A.Z is globally localized to the promoters of inactive yeast genes and regulates nucleosome positioning. *PLoS biology* 3, e384.
- Guilluy, C., Osborne, L.D., Van Landeghem, L., Sharek, L., Superfine, R., Garcia-Mata, R., and BurrIDGE,**

K. (2014). Isolated nuclei adapt to force and reveal a mechanotransduction pathway in the nucleus. *Nature cell biology* 16, 376-381.

Halley, J.E., Kaplan, T., Wang, A.Y., Kobor, M.S., and Rine, J. (2010). Roles for H2A.Z and its acetylation in GAL1 transcription and gene induction, but not GAL1-transcriptional memory. *PLoS biology* 8, e1000401.

Harper, N.C., Rillo, R., Jover-Gil, S., Assaf, Z.J., Bhalla, N., and Dernburg, A.F. (2011). Pairing centers recruit a Polo-like kinase to orchestrate meiotic chromosome dynamics in *C. elegans*. *Developmental cell* 21, 934-947.

Hartwell, L.H., and Weinert, T.A. (1989). Checkpoints: controls that ensure the order of cell cycle events. *Science* 246, 629-634.

Harvey, S.L., Charlet, A., Haas, W., Gygi, S.P., and Kellogg, D.R. (2005). Cdk1-dependent regulation of the mitotic inhibitor Wee1. *Cell* 122, 407-420.

Hassold, T., and Hunt, P. (2001). To err (meiotically) is human: the genesis of human aneuploidy. *Nature reviews Genetics* 2, 280-291.

Henikoff, S., and Smith, M.M. (2015). Histone variants and epigenetics. *Cold Spring Harbor perspectives in biology* 7, a019364.

Henikoff, S., and Ahmad, K. (2005). Assembly of variant histones into chromatin. *Annual review of cell and developmental biology* 21, 133-153.

Henry, J.M., Camahort, R., Rice, D.A., Florens, L., Swanson, S.K., Washburn, M.P., and Gerton, J.L. (2006). Mnd1/Hop2 facilitates Dmc1-dependent interhomolog crossover formation in meiosis of budding yeast. *Mol Cell Biol* 26, 2913-2923.

Herruzo, E., Ontoso, D., Gonzalez-Arranz, S., Caverro, S., Lechuga, A., and San-Segundo, P.A. (2016). The Pch2 AAA+ ATPase promotes phosphorylation of the Hop1 meiotic checkpoint adaptor in response to synaptonemal complex defects. *Nucleic acids research*.

Hochwagen, A., and Amon, A. (2006). Checking your breaks: surveillance mechanisms of meiotic recombination. *Current biology* : CB 16, R217-228.

Horigome, C., Oma, Y., Konishi, T., Schmid, R., Marcomini, I., Hauer, M.H., Dion, V., Harata, M., and Gasser, S.M. (2014). SWR1 and INO80 chromatin remodelers contribute to DNA double-strand break perinuclear anchorage site choice. *Molecular cell* 55, 626-639.

Hunter, N., and Kleckner, N. (2001). The single-end invasion: an asymmetric intermediate at the double-strand break to double-holliday junction transition of meiotic recombination. *Cell* 106, 59-70.

Iouzalén, N., Moreau, J., and Mechali, M. (1996). H2A.ZI, a new variant histone expressed during *Xenopus* early development exhibits several distinct features from the core histone H2A. *Nucleic acids research* 24, 3947-3952.

Jackson, J.D., and Gorovsky, M.A. (2000). Histone H2A.Z has a conserved function that is distinct from that of the major H2A sequence variants. *Nucleic acids research* 28, 3811-3816.

Jackson, J.D., Falciano, V.T., and Gorovsky, M.A. (1996). A likely histone H2A.F/Z variant in *Saccharomyces cerevisiae*. *Trends in biochemical sciences* 21, 466-467.

Jaspersen, S.L., Martin, A.E., Glazko, G., Giddings, T.H., Jr., Morgan, G., Mushegian, A., and Winey, M. (2006). The Sad1-UNC-84 homology domain in Mps3 interacts with Mps2 to connect the spindle pole body with the nuclear envelope. *The Journal of cell biology* 174, 665-675.

Jaspersen, S.L., Giddings, T.H., Jr., and Winey, M. (2002). Mps3p is a novel component of the yeast spindle pole body that interacts with the yeast centrin homologue Cdc31p. *The Journal of cell biology* 159, 945-956.

Jaspersen, S.L., Charles, J.F., Tinker-Kulberg, R.L., and Morgan, D.O. (1998). A late mitotic regulatory network controlling cyclin destruction in *Saccharomyces cerevisiae*. *Molecular biology of the cell* 9, 2803-2817.

Joshi, N., Brown, M.S., Bishop, D.K., and Borner, G.V. (2015). Gradual implementation of the meiotic recombination program via checkpoint pathways controlled by global DSB levels. *Molecular cell* 57, 797-811.

Joyce, E.F., and McKim, K.S. (2009). *Drosophila* PCH2 is required for a pachytene checkpoint that monitors double-strand-break-independent events leading to meiotic crossover formation. *Genetics* 181, 39-51.

Kalocsay, M., Hiller, N.J., and Jentsch, S. (2009). Chromosome-wide Rad51 spreading and SUMO-H2A.Z-dependent chromosome fixation in response to a persistent DNA double-strand break. *Molecular cell* 33, 335-343.

Kamakaka, R.T., and Biggins, S. (2005). Histone variants: deviants? *Genes & development* 19, 295-310.

Katsumata, K., Hirayasu, A., Miyoshi, J., Nishi, E., Ichikawa, K., Tateho, K., Wakuda, A., Matsuhara, H., and Yamamoto, A. (2016). A Taz1- and Microtubule-Dependent Regulatory Relationship between Telomere and Centromere Positions in Bouquet Formation Secures Proper Meiotic Divisions. *PLoS genetics* 12, e1006304.

Keeney, S., Lange, J., and Mohibullah, N. (2014). Self-organization of meiotic recombination initiation: general principles and molecular pathways. *Annual review of genetics* 48, 187-214.

Keeney, S. (2008). Spo11 and the Formation of DNA Double-Strand Breaks in Meiosis. *Genome dynamics and stability* 2, 81-123.

Keeney, S. (2001). Mechanism and control of meiotic recombination initiation. *Current topics in developmental biology* 52, 1-53.

Keeney, S., Giroux, C.N., and Kleckner, N. (1997). Meiosis-specific DNA double-strand breaks are catalyzed by Spo11, a member of a widely conserved protein family. *Cell* 88, 375-384.

Kelly, T.K., Miranda, T.B., Liang, G., Berman, B.P., Lin, J.C., Tanay, A., and Jones, P.A. (2010). H2A.Z maintenance during mitosis reveals nucleosome shifting on mitotically silenced genes. *Molecular cell* 39, 901-911.

Klein, F., Mahr, P., Galova, M., Buonomo, S.B., Michaelis, C., Nairz, K., and Nasmyth, K. (1999). A central role for cohesins in sister chromatid cohesion, formation of axial elements, and recombination during yeast meiosis. *Cell* 98, 91-103.

Kobor, M.S., Venkatasubrahmanyam, S., Meneghini, M.D., Gin, J.W., Jennings, J.L., Link, A.J., Madhani, H.D., and Rine, J. (2004). A protein complex containing the conserved Swi2/Snf2-related ATPase Swr1p deposits histone variant H2A.Z into euchromatin. *PLoS biology* 2, E131.

Kornberg, R.D., and Lorch, Y. (1999). Twenty-five years of the nucleosome, fundamental particle of the eukaryote chromosome. *Cell* 98, 285-294.

Kosaka, H., Shinohara, M., and Shinohara, A. (2008). Csm4-dependent telomere movement on nuclear envelope promotes meiotic recombination. *PLoS genetics* 4, e1000196.

Koszul, R., and Kleckner, N. (2009). Dynamic chromosome movements during meiosis: a way to eliminate unwanted connections? *Trends in cell biology* 19, 716-724.

Koszul, R., Kim, K.P., Prentiss, M., Kleckner, N., and Kameoka, S. (2008). Meiotic chromosomes move by linkage to dynamic actin cables with transduction of force through the nuclear envelope. *Cell* 133, 1188-1201.

Krogan, N.J., Baetz, K., Keogh, M.C., Datta, N., Sawa, C., Kwok, T.C., Thompson, N.J., Davey, M.G., Pootoolal, J., Hughes, T.R., et al. (2004). Regulation of chromosome stability by the histone H2A variant Htz1, the Swr1 chromatin remodeling complex, and the histone acetyltransferase NuA4. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 101, 13513-13518.

Krogan, N.J., Keogh, M.C., Datta, N., Sawa, C., Ryan, O.W., Ding, H., Haw, R.A., Pootoolal, J., Tong, A., Canadien, V., et al. (2003). A Snf2 family ATPase complex required for recruitment of the histone H2A variant Htz1. *Molecular cell* 12, 1565-1576.

Krogan, N.J., Dover, J., Khorrami, S., Greenblatt, J.F., Schneider, J., Johnston, M., and Shilatifard, A. (2002). COMPASS, a histone H3 (Lysine 4) methyltransferase required for telomeric silencing of gene expression.

The Journal of biological chemistry 277, 10753-10755.

Kurdistani, S.K., Tavazoie, S., and Grunstein, M. (2004). Mapping global histone acetylation patterns to gene expression. *Cell* 117, 721-733.

Kusch, T., and Workman, J.L. (2007). Histone variants and complexes involved in their exchange. *Sub-cellular biochemistry* 41, 91-109.

Labella, S., Woglar, A., Jantsch, V., and Zetka, M. (2011). Polo kinases establish links between meiotic chromosomes and cytoskeletal forces essential for homolog pairing. *Developmental cell* 21, 948-958.

Lange, A., Mills, R.E., Lange, C.J., Stewart, M., Devine, S.E., and Corbett, A.H. (2007). Classical nuclear localization signals: definition, function, and interaction with importin alpha. *The Journal of biological chemistry* 282, 5101-5105.

Leach, T.J., Mazzeo, M., Chotkowski, H.L., Madigan, J.P., Wotring, M.G., and Glaser, R.L. (2000). Histone H2A.Z is widely but nonrandomly distributed in chromosomes of *Drosophila melanogaster*. *The Journal of biological chemistry* 275, 23267-23272.

Lee, C.Y., Conrad, M.N., and Dresser, M.E. (2012). Meiotic chromosome pairing is promoted by telomere-led chromosome movements independent of bouquet formation. *PLoS genetics* 8, e1002730.

Lee, J.S., Smith, E., and Shilatifard, A. (2010). The language of histone crosstalk. *Cell* 142, 682-685.

Leu, J.Y., and Roeder, G.S. (1999). The pachytene checkpoint in *S. cerevisiae* depends on Swe1-mediated phosphorylation of the cyclin-dependent kinase Cdc28. *Molecular cell* 4, 805-814.

Leu, J.Y., Chua, P.R., and Roeder, G.S. (1998). The meiosis-specific Hop2 protein of *S. cerevisiae* ensures synapsis between homologous chromosomes. *Cell* 94, 375-386.

Li, P., Jin, H., Koch, B.A., Abblett, R.L., Han, X., Yates, J.R., 3rd, and Yu, H.G. (2017). Cleavage of the SUN-domain protein Mps3 at its N-terminus regulates centrosome disjunction in budding yeast meiosis. *PLoS genetics* 13, e1006830.

Li, P., Shao, Y., Jin, H., and Yu, H.G. (2015). Ndj1, a telomere-associated protein, regulates centrosome separation in budding yeast meiosis. *The Journal of cell biology* 209, 247-259.

Lindgren, A., Bungard, D., Pierce, M., Xie, J., Vershon, A., and Winter, E. (2000). The pachytene checkpoint in *Saccharomyces cerevisiae* requires the Sum1 transcriptional repressor. *The EMBO journal* 19, 6489-6497.

Lindstrom, K.C., Vary, J.C., Jr., Parthun, M.R., Delrow, J., and Tsukiyama, T. (2006). Isw1 functions in parallel with the NuA4 and Swr1 complexes in stress-induced gene repression. *Molecular and cellular biology* 26, 6117-6129.

Link, J., Leubner, M., Schmitt, J., Gob, E., Benavente, R., Jeang, K.T., Xu, R., and Alsheimer, M. (2014). Analysis of meiosis in SUN1 deficient mice reveals a distinct role of SUN2 in mammalian meiotic LINC complex formation and function. *PLoS genetics* 10, e1004099.

Lisby, M., Barlow, J.H., Burgess, R.C., and Rothstein, R. (2004). Choreography of the DNA damage response: spatiotemporal relationships among checkpoint and repair proteins. *Cell* 118, 699-713.

Liu, Y., Gaines, W.A., Callender, T., Busygina, V., Oke, A., Sung, P., Fung, J.C., and Hollingsworth, N.M. (2014). Down-regulation of Rad51 activity during meiosis in yeast prevents competition with Dmc1 for repair of double-strand breaks. *PLoS genetics* 10, e1004005.

Liu, X., Li, B., and Gorovsky, M.A. (1996). Essential and nonessential histone H2A variants in *Tetrahymena thermophila*. *Molecular and cellular biology* 16, 4305-4311.

Lombardi, M.L., and Lammerding, J. (2010). Altered mechanical properties of the nucleus in disease. *Methods in cell biology* 98, 121-141.

Longtine, M.S., McKenzie, A., 3rd, Demarini, D.J., Shah, N.G., Wach, A., Brachet, A., Philippsen, P., and Pringle, J.R. (1998). Additional modules for versatile and economical PCR-based gene deletion and modification in *Saccharomyces cerevisiae*. *Yeast* 14, 953-961.

Longhese, M.P., Bonetti, D., Guerini, I., Manfrini, N., and Clerici, M. (2009). DNA double-strand breaks in meiosis: checking their formation, processing and repair. *DNA repair* 8, 1127-1138.

Luger, K., Mader, A.W., Richmond, R.K., Sargent, D.F., and Richmond, T.J. (1997). Crystal structure of the nucleosome core particle at 2.8 Å resolution. *Nature* 389, 251-260.

Luk, E., Ranjan, A., Fitzgerald, P.C., Mizuguchi, G., Huang, Y., Wei, D., and Wu, C. (2010). Stepwise histone replacement by SWR1 requires dual activation with histone H2A.Z and canonical nucleosome. *Cell* 143, 725-736.

Luk, E., Vu, N.D., Patteson, K., Mizuguchi, G., Wu, W.H., Ranjan, A., Backus, J., Sen, S., Lewis, M., Bai, Y., et al. (2007). Chz1, a nuclear chaperone for histone H2AZ. *Molecular cell* 25, 357-368.

Lynn, A., Soucek, R., and Borner, G.V. (2007). ZMM proteins during meiosis: crossover artists at work. *Chromosome research : an international journal on the molecular, supramolecular and evolutionary aspects of chromosome biology* 15, 591-605.

MacQueen, A.J., and Hochwagen, A. (2011). Checkpoint mechanisms: the puppet masters of meiotic prophase. *Trends in cell biology* 21, 393-400.

Madigan, J.P., Chotkowski, H.L., and Glaser, R.L. (2002). DNA double-strand break-induced phosphorylation of *Drosophila* histone variant H2Av helps prevent radiation-induced apoptosis. *Nucleic acids research* 30, 3698-3705.

Mahajan, K., Fang, B., Koomen, J.M., and Mahajan, N.P. (2012). H2B Tyr37 phosphorylation suppresses expression of replication-dependent core histone genes. *Nature structural & molecular biology* 19, 930-937.

Malone, C.J., Fixsen, W.D., Horvitz, H.R., and Han, M. (1999). UNC-84 localizes to the nuclear envelope and is required for nuclear migration and anchoring during *C. elegans* development. *Development* 126, 3171-3181.

Marston, A.L., and Amon, A. (2004). Meiosis: cell-cycle controls shuffle and deal. *Nature reviews Molecular cell biology* 5, 983-997.

Martini, E., Diaz, R.L., Hunter, N., and Keeney, S. (2006). Crossover homeostasis in yeast meiosis. *Cell* 126, 285-295.

Matos, J., Blanco, M.G., Maslen, S., Skehel, J.M., and West, S.C. (2011). Regulatory control of the resolution of DNA recombination intermediates during meiosis and mitosis. *Cell* 147, 158-172.

McBryant, S.J., Park, Y.J., Abernathy, S.M., Laybourn, P.J., Nyborg, J.K., and Luger, K. (2003). Preferential binding of the histone (H3-H4)₂ tetramer by NAP1 is mediated by the amino-terminal histone tails. *The Journal of biological chemistry* 278, 44574-44583.

McKee, A.H., and Kleckner, N. (1997). A general method for identifying recessive diploid-specific mutations in *Saccharomyces cerevisiae*, its application to the isolation of mutants blocked at intermediate stages of meiotic prophase and characterization of a new gene SAE2. *Genetics* 146, 797-816.

McMillan, J.N., Sia, R.A., Bardes, E.S., and Lew, D.J. (1999). Phosphorylation-independent inhibition of Cdc28p by the tyrosine kinase Swe1p in the morphogenesis checkpoint. *Molecular and cellular biology* 19, 5981-5990.

Melo, J., and Toczyski, D. (2002). A unified view of the DNA-damage checkpoint. *Curr Opin Cell Biol* 14, 237-245.

Meneghini, M.D., Wu, M., and Madhani, H.D. (2003). Conserved histone variant H2A.Z protects euchromatin from the ectopic spread of silent heterochromatin. *Cell* 112, 725-736.

Millar, C.B., Xu, F., Zhang, K., and Grunstein, M. (2006). Acetylation of H2AZ Lys 14 is associated with genome-wide gene activity in yeast. *Genes & development* 20, 711-722.

Mizuguchi, G., Shen, X., Landry, J., Wu, W.H., Sen, S., and Wu, C. (2004). ATP-driven exchange of histone H2AZ variant catalyzed by SWR1 chromatin remodeling complex. *Science* 303, 343-348.

Monje-Casas, F., Prabhu, V.R., Lee, B.H., Boselli, M., and Amon, A. (2007). Kinetochore orientation during meiosis is controlled by Aurora B and the monopolin complex. *Cell* 128, 477-490.

Morillo-Huesca, M., Clemente-Ruiz, M., Andujar, E., and Prado, F. (2010). The SWR1 histone replacement complex causes genetic instability and genome-wide transcription misregulation in the absence of H2A.Z. *PLoS one* 5, e12143.

Morimoto, A., Shibuya, H., Zhu, X., Kim, J., Ishiguro, K., Han, M., and Watanabe, Y. (2012). A conserved KASH domain protein associates with telomeres, SUN1, and dynactin during mammalian meiosis. *The Journal of cell biology* 198, 165-172.

Mosammaparast, N., Guo, Y., Shabanowitz, J., Hunt, D.F., and Pemberton, L.F. (2002). Pathways mediating the nuclear import of histones H3 and H4 in yeast. *The Journal of biological chemistry* 277, 862-868.

Mosammaparast, N., Jackson, K.R., Guo, Y., Brame, C.J., Shabanowitz, J., Hunt, D.F., and Pemberton, L.F. (2001). Nuclear import of histone H2A and H2B is mediated by a network of karyopherins. *The Journal of cell biology* 153, 251-262.

Nagai, T., Ibata, K., Park, E.S., Kubota, M., Mikoshiba, K., and Miyawaki, A. (2002). A variant of yellow fluorescent protein with fast and efficient maturation for cell-biological applications. *Nature biotechnology* 20, 87-90.

Nagaoka, S.I., Hassold, T.J., and Hunt, P.A. (2012). Human aneuploidy: mechanisms and new insights into an age-old problem. *Nature reviews Genetics* 13, 493-504.

Neumann, F.R., Dion, V., Gehlen, L.R., Tsai-Pflugfelder, M., Schmid, R., Taddei, A., and Gasser, S.M. (2012). Targeted INO80 enhances subnuclear chromatin movement and ectopic homologous recombination. *Genes & development* 26, 369-383.

Neves, L.T., Douglass, S., Spreafico, R., Venkataramanan, S., Kress, T.L., and Johnson, T.L. (2017). The histone variant H2A.Z promotes efficient cotranscriptional splicing in *S. cerevisiae*. *Genes & development* 31, 702-717.

Niu, H., Wan, L., Busygina, V., Kwon, Y., Allen, J.A., Li, X., Kunz, R.C., Kubota, K., Wang, B., Sung, P., et al. (2009). Regulation of meiotic recombination via Mek1-mediated Rad54 phosphorylation. *Molecular cell* 36, 393-404.

Niu, H., Li, X., Job, E., Park, C., Moazed, D., Gygi, S.P., and Hollingsworth, N.M. (2007). Mek1 kinase is regulated to suppress double-strand break repair between sister chromatids during budding yeast meiosis. *Molecular and cellular biology* 27, 5456-5467.

Nyberg, K.A., Michelson, R.J., Putnam, C.W., and Weinert, T.A. (2002). Toward maintaining the genome: DNA damage and replication checkpoints. *Annu Rev Genet* 36, 617-656.

Ohkura, H. (2015). Meiosis: an overview of key differences from mitosis. *Cold Spring Harbor perspectives in biology* 7.

Ontoso, D., Kauppi, L., Keeney, S., and San-Segundo, P.A. (2014). Dynamics of DOT1L localization and H3K79 methylation during meiotic prophase I in mouse spermatocytes. *Chromosoma* 123, 147-164.

Ontoso, D., Acosta, I., van Leeuwen, F., Freire, R., and San-Segundo, P.A. (2013). Dot1-dependent histone H3K79 methylation promotes activation of the Mek1 meiotic checkpoint effector kinase by regulating the Hop1 adaptor. *PLoS genetics* 9, e1003262.

Pacheco, S., Marcet-Ortega, M., Lange, J., Jasin, M., Keeney, S., and Roig, I. (2015). The ATM signaling cascade promotes recombination-dependent pachytene arrest in mouse spermatocytes. *PLoS genetics* 11, e1005017.

Papamichos-Chronakis, M., Watanabe, S., Rando, O.J., and Peterson, C.L. (2011). Global regulation of H2A.Z localization by the INO80 chromatin-remodeling enzyme is essential for genome integrity. *Cell* 144, 200-213.

Pemberton, L.F., and Paschal, B.M. (2005). Mechanisms of receptor-mediated nuclear import and nuclear export. *Traffic* 6, 187-198.

Penedos, A., Johnson, A.L., Strong, E., Goldman, A.S., Carballo, J.A., and Cha, R.S. (2015). Essential and Checkpoint Functions of Budding Yeast ATM and ATR during Meiotic Prophase Are Facilitated by Differential Phosphorylation of a Meiotic Adaptor Protein, Hop1. *PLoS one* 10, e0134297.

Perez-Hidalgo, L., Moreno, S., and San-Segundo, P.A. (2003). Regulation of meiotic progression by the meiosis-specific checkpoint kinase Mek1 in fission yeast. *J Cell Sci* 116, 259-271.

Phillips, C.M., Meng, X., Zhang, L., Chretien, J.H., Urnov, F.D., and Dernburg, A.F. (2009). Identification of chromosome sequence motifs that mediate meiotic pairing and synapsis in *C. elegans*. *Nature cell biology* 11, 934-942.

Phillips, C.M., and Dernburg, A.F. (2006). A family of zinc-finger proteins is required for chromosome-specific pairing and synapsis during meiosis in *C. elegans*. *Developmental cell* 11, 817-829.

Phillips, C.M., Wong, C., Bhalla, N., Carlton, P.M., Weiser, P., Meneely, P.M., and Dernburg, A.F. (2005). HIM-8 binds to the X chromosome pairing center and mediates chromosome-specific meiotic synapsis. *Cell* 123, 1051-1063.

Pierce, M., Benjamin, K.R., Montano, S.P., Georgiadis, M.M., Winter, E., and Vershon, A.K. (2003). Sum1 and Ndt80 proteins compete for binding to middle sporulation element sequences that control meiotic gene expression. *Molecular and cellular biology* 23, 4814-4825.

Pierce M, Wagner M, Xie J, Gailus-Durner V, Six J, Vershon AK, Winter E. (1998). Transcriptional regulation of the SMK1 mitogen-activated protein kinase gene during meiotic development in *Saccharomyces cerevisiae*. *Mol Cell Biol.* 1998;18:5970–5980.

Prinz, S., Amon, A., and Klein, F. (1997). Isolation of COM1, a new gene required to complete meiotic double-strand break-induced recombination in *Saccharomyces cerevisiae*. *Genetics* 146, 781-795.

Prugar, E., Burnett, C., Chen, X., and Hollingsworth, N.M. (2017). Coordination of Double Strand Break Repair and Meiotic Progression in Yeast by a Mek1- Ndt80 Negative Feedback Loop. *Genetics*.

Raisner, R.M., Hartley, P.D., Meneghini, M.D., Bao, M.Z., Liu, C.L., Schreiber, S.L., Rando, O.J., and Madhani, H.D. (2005). Histone variant H2A.Z marks the 5' ends of both active and inactive genes in euchromatin. *Cell* 123, 233-248.

Rangasamy, D., Greaves, I., and Tremethick, D.J. (2004). RNA interference demonstrates a novel role for H2A.Z in chromosome segregation. *Nature structural & molecular biology* 11, 650-655.

Rangasamy, D., Berven, L., Ridgway, P., and Tremethick, D.J. (2003). Pericentric heterochromatin becomes enriched with H2A.Z during early mammalian development. *The EMBO journal* 22, 1599-1607.

Redon, C., Pilch, D., Rogakou, E., Sedelnikova, O., Newrock, K., and Bonner, W. (2002). Histone H2A variants H2AX and H2AZ. *Current opinion in genetics & development* 12, 162-169.

Refolio, E., Cavero, S., Marcon, E., Freire, R., and San-Segundo, P.A. (2011). The Ddc2/ATRIP checkpoint protein monitors meiotic recombination intermediates. *Journal of cell science* 124, 2488-2500.

Ren, Q., and Gorovsky, M.A. (2001). Histone H2A.Z acetylation modulates an essential charge patch. *Molecular cell* 7, 1329-1335.

Ridgway, P., Brown, K.D., Rangasamy, D., Svensson, U., and Tremethick, D.J. (2004). Unique residues on the H2A.Z containing nucleosome surface are important for *Xenopus laevis* development. *The Journal of biological chemistry* 279, 43815-43820.

Rivera, T., and Losada, A. (2006). Shugoshin and PP2A, shared duties at the centromere. *BioEssays : news and reviews in molecular, cellular and developmental biology* 28, 775-779.

- Rockmill, B. (2009).** Chromosome spreading and immunofluorescence methods in *Saccharomyces cerevisiae*. *Methods Mol Biol* 558, 3-13.
- Rockmill, B. and Roeder, G. S. (1990).** Meiosis in asynaptic yeast. *Genetics* 126, 563-74.
- Roeder, G.S., and Bailis, J.M. (2000).** The pachytene checkpoint. *Trends in genetics : TIG* 16, 395-403.
- Rosa, M., Von Harder, M., Cigliano, R.A., Schlogelhofer, P., and Mittelsten Scheid, O. (2013).** The Arabidopsis SWR1 chromatin-remodeling complex is important for DNA repair, somatic recombination, and meiosis. *The Plant cell* 25, 1990-2001.
- Russell, P., Moreno, S., and Reed, S.I. (1989).** Conservation of mitotic controls in fission and budding yeasts. *Cell* 57, 295-303.
- San-Segundo, P.A., and Roeder, G.S. (2000).** Role for the silencing protein Dot1 in meiotic checkpoint control. *Molecular biology of the cell* 11, 3601-3615.
- San-Segundo, P.A., and Roeder, G.S. (1999).** Pch2 links chromatin silencing to meiotic checkpoint control. *Cell* 97, 313-324.
- Santisteban, M.S., Kalashnikova, T., and Smith, M.M. (2000).** Histone H2A.Z regulates transcription and is partially redundant with nucleosome remodeling complexes. *Cell* 103, 411-422.
- Scherthan, H., Wang, H., Adelfalk, C., White, E.J., Cowan, C., Cande, W.Z., and Kaback, D.B. (2007).** Chromosome mobility during meiotic prophase in *Saccharomyces cerevisiae*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 104, 16934-16939.
- Schmitt, J., Benavente, R., Hodzic, D., Hoog, C., Stewart, C.L., and Alsheimer, M. (2007).** Transmembrane protein Sun2 is involved in tethering mammalian meiotic telomeres to the nuclear envelope. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 104, 7426-7431.
- Sharma, U., Stefanova, D., and Holmes, S.G. (2013).** Histone variant H2A.Z functions in sister chromatid cohesion in *Saccharomyces cerevisiae*. *Molecular and cellular biology* 33, 3473-3481.
- Sheff, M.A., and Thorn, K.S. (2004).** Optimized cassettes for fluorescent protein tagging in *Saccharomyces cerevisiae*. *Yeast* 21, 661-670.
- Shia, W.J., Li, B., and Workman, J.L. (2006).** SAS-mediated acetylation of histone H4 Lys 16 is required for H2A.Z incorporation at subtelomeric regions in *Saccharomyces cerevisiae*. *Genes & development* 20, 2507-2512.
- Shibuya, H., Hernandez-Hernandez, A., Morimoto, A., Negishi, L., Hoog, C., and Watanabe, Y. (2015).** MAJIN Links Telomeric DNA to the Nuclear Membrane by Exchanging Telomere Cap. *Cell* 163, 1252-1266.
- Shinohara, M., Oh, S.D., Hunter, N., and Shinohara, A. (2008).** Crossover assurance and crossover interference are distinctly regulated by the ZMM proteins during yeast meiosis. *Nature genetics* 40, 299-309.
- Shinohara, A., Ogawa, H., and Ogawa, T. (1992).** Rad51 protein involved in repair and recombination in *S. cerevisiae* is a RecA-like protein. *Cell* 69, 457-470.
- Smith, A.V., and Roeder, G.S. (1997).** The yeast Red1 protein localizes to the cores of meiotic chromosomes. *The Journal of cell biology* 136, 957-967.
- Sonntag Brown, M., Zanders, S., and Alani, E. (2011).** Sustained and rapid chromosome movements are critical for chromosome pairing and meiotic progression in budding yeast. *Genetics* 188, 21-32.
- Sourirajan, A., and Lichten, M. (2008).** Polo-like kinase Cdc5 drives exit from pachytene during budding yeast meiosis. *Genes & development* 22, 2627-2632.
- Starr, D.A., and Han, M. (2002).** Role of ANC-1 in tethering nuclei to the actin cytoskeleton. *Science* 298, 406-409.

Storzazzi, A., Gargano, S., Ruprich-Robert, G., Falque, M., David, M., Kleckner, N., and Zickler, D. (2010). Recombination proteins mediate meiotic spatial chromosome organization and pairing. *Cell* 141, 94-106.

Storzazzi, A., Xu, L., Schwacha, A., and Kleckner, N. (1996). Synaptonemal complex (SC) component Zip1 plays a role in meiotic recombination independent of SC polymerization along the chromosomes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 93, 9043-9048.

Straube, K., Blackwell, J.S., Jr., and Pemberton, L.F. (2010). Nap1 and Chz1 have separate Htz1 nuclear import and assembly functions. *Traffic* 11, 185-197.

Stuckey, S., Mukherjee, K., and Storici, F. (2011). In vivo site-specific mutagenesis and gene collage using the delitto perfetto system in yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Methods Mol Biol* 745, 173-191.

Subramanian, V.V., and Hochwagen, A. (2014). The meiotic checkpoint network: step-by-step through meiotic prophase. *Cold Spring Harbor perspectives in biology* 6, a016675.

Sung, M.K., and Huh, W.K. (2007). Bimolecular fluorescence complementation analysis system for in vivo detection of protein-protein interaction in *Saccharomyces cerevisiae*. *Yeast* 24, 767-775.

Suto, R.K., Clarkson, M.J., Tremethick, D.J., and Luger, K. (2000). Crystal structure of a nucleosome core particle containing the variant histone H2A.Z. *Nature structural biology* 7, 1121-1124.

Swaminathan, J., Baxter, E.M., and Corces, V.G. (2005). The role of histone H2Av variant replacement and histone H4 acetylation in the establishment of Drosophila heterochromatin. *Genes & development* 19, 65-76.

Sym, M., and Roeder, G.S. (1994). Crossover interference is abolished in the absence of a synaptonemal complex protein. *Cell* 79, 283-292.

Sym, M., Engebrecht, J.A., and Roeder, G.S. (1993). ZIP1 is a synaptonemal complex protein required for meiotic chromosome synapsis. *Cell* 72, 365-378.

Talbert, P.B., and Henikoff, S. (2017). Histone variants on the move: substrates for chromatin dynamics. *Nature reviews Molecular cell biology* 18, 115-126.

Talbert, P.B., and Henikoff, S. (2010). Histone variants--ancient wrap artists of the epigenome. *Nature reviews Molecular cell biology* 11, 264-275.

Tamura, K., Iwabuchi, K., Fukao, Y., Kondo, M., Okamoto, K., Ueda, H., Nishimura, M., and Hara-Nishimura, I. (2013). Myosin XI-i links the nuclear membrane to the cytoskeleton to control nuclear movement and shape in Arabidopsis. *Current biology : CB* 23, 1776-1781.

Tatout, C., Evans, D.E., Vanrobays, E., Probst, A.V., and Graumann, K. (2014). The plant LINC complex at the nuclear envelope. *Chromosome research : an international journal on the molecular, supramolecular and evolutionary aspects of chromosome biology* 22, 241-252.

Thacker, D., Lam, I., Knop, M., and Keeney, S. (2011). Exploiting spore-autonomous fluorescent protein expression to quantify meiotic chromosome behaviors in *Saccharomyces cerevisiae*. *Genetics* 189, 423-439.

Thatcher, T.H., and Gorovsky, M.A. (1994). Phylogenetic analysis of the core histones H2A, H2B, H3, and H4. *Nucleic acids research* 22, 174-179.

Tibbles, K.L., Sarkar, S., Novak, B., and Arumugam, P. (2013). CDK-dependent nuclear localization of B-cyclin Clb1 promotes FEAR activation during meiosis I in budding yeast. *PLoS one* 8, e79001.

Tomita, K., and Cooper, J.P. (2007). The telomere bouquet controls the meiotic spindle. *Cell* 130, 113-126.

Trelles-Sticken, E., Bonfils, S., Sollier, J., Geli, V., Scherthan, H., and de La Roche Saint-Andre, C. (2005). Set1- and Clb5-deficiencies disclose the differential regulation of centromere and telomere dynamics in *Saccharomyces cerevisiae* meiosis. *Journal of cell science* 118, 4985-4994.

Trelles-Sticken, E., Dresser, M.E., and Scherthan, H. (2000). Meiotic telomere protein Ndj1p is required for

meiosis-specific telomere distribution, bouquet formation and efficient homologue pairing. *The Journal of cell biology* 151, 95-106.

Tsubouchi, H., and Roeder, G.S. (2003). The importance of genetic recombination for fidelity of chromosome pairing in meiosis. *Dev Cell* 5, 915-925.

Tsubouchi, H., and Roeder, G.S. (2002). The Mnd1 protein forms a complex with hop2 to promote homologous chromosome pairing and meiotic double-strand break repair. *Mol Cell Biol* 22, 3078-3088.

Tung, K.S., Hong, E.J., and Roeder, G.S. (2000). The pachytene checkpoint prevents accumulation and phosphorylation of the meiosis-specific transcription factor Ndt80. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 97, 12187-12192.

Tung, K.S., and Roeder, G.S. (1998). Meiotic chromosome morphology and behavior in *zip1* mutants of *Saccharomyces cerevisiae*. *Genetics* 149, 817-832.

Tzur, Y.B., Wilson, K.L., and Gruenbaum, Y. (2006). SUN-domain proteins: 'Velcro' that links the nucleoskeleton to the cytoskeleton. *Nature reviews Molecular cell biology* 7, 782-788.

Uetz, P., Giot, L., Cagney, G., Mansfield, T.A., Judson, R.S., Knight, J.R., Lockshon, D., Narayan, V., Srinivasan, M., Pochart, P., et al. (2000). A comprehensive analysis of protein-protein interactions in *Saccharomyces cerevisiae*. *Nature* 403, 623-627.

Uhlmann, F. (2003). Chromosome cohesion and separation: from men and molecules. *Current biology : CB* 13, R104-114.

Updike, D.L., and Mango, S.E. (2006). Temporal regulation of foregut development by HTZ-1/H2A.Z and PHA-4/FoxA. *PLoS genetics* 2, e161.

van Attikum, H., Fritsch, O., and Gasser, S.M. (2007). Distinct roles for SWR1 and INO80 chromatin remodeling complexes at chromosomal double-strand breaks. *The EMBO journal* 26, 4113-4125.

van Daal, A., and Elgin, S.C. (1992). A histone variant, H2AvD, is essential in *Drosophila melanogaster*. *Molecular biology of the cell* 3, 593-602.

van Leeuwen, F., Gafken, P.R., and Gottschling, D.E. (2002). Dot1p modulates silencing in yeast by methylation of the nucleosome core. *Cell* 109, 745-756.

Varas, J., Graumann, K., Osman, K., Pradillo, M., Evans, D.E., Santos, J.L., and Armstrong, S.J. (2015). Absence of SUN1 and SUN2 proteins in *Arabidopsis thaliana* leads to a delay in meiotic progression and defects in synapsis and recombination. *The Plant journal : for cell and molecular biology* 81, 329-346.

Viera, A., Alsheimer, M., Gomez, R., Berenguer, I., Ortega, S., Symonds, C.E., Santamaria, D., Benavente, R., and Suja, J.A. (2015). CDK2 regulates nuclear envelope protein dynamics and telomere attachment in mouse meiotic prophase. *Journal of cell science* 128, 88-99.

Voelkel-Meiman, K., Moustafa, S.S., Lefrancois, P., Villeneuve, A.M., and MacQueen, A.J. (2012). Full-length synaptonemal complex grows continuously during meiotic prophase in budding yeast. *PLoS genetics* 8, e1002993.

Wan, L., de los Santos, T., Zhang, C., Shokat, K., and Hollingsworth, N.M. (2004). Mek1 kinase activity functions downstream of RED1 in the regulation of meiotic double strand break repair in budding yeast. *Molecular biology of the cell* 15, 11-23.

Wanat, J.J., Kim, K.P., Koszul, R., Zanders, S., Weiner, B., Kleckner, N., and Alani, E. (2008). Csm4, in collaboration with Ndj1, mediates telomere-led chromosome dynamics and recombination during yeast meiosis. *PLoS genetics* 4, e1000188.

Wang, A.Y., Aristizabal, M.J., Ryan, C., Krogan, N.J., and Kobor, M.S. (2011a). Key functional regions in the histone variant H2A.Z C-terminal docking domain. *Molecular and cellular biology* 31, 3871-3884.

Wang, Y., Chang, C.Y., Wu, J.F., and Tung, K.S. (2011b). Nuclear localization of the meiosis-specific

transcription factor Ndt80 is regulated by the pachytene checkpoint. *Molecular biology of the cell* 22, 1878-1886.

Watanabe, S., Radman-Livaja, M., Rando, O.J., and Peterson, C.L. (2013). A histone acetylation switch regulates H2A.Z deposition by the SWR-C remodeling enzyme. *Science* 340, 195-199.

Watanabe, Y., and Kitajima, T.S. (2005). Shugoshin protects cohesin complexes at centromeres. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 360, 515-521, discussion 521.

Watson, J.D. and Crick, F.H. (1953) Molecular structure of nucleic acids; a structure for deoxyribose nucleic acid.

Weber, C.M., Henikoff, J.G., and Henikoff, S. (2010). H2A.Z nucleosomes enriched over active genes are homotypic. *Nature structural & molecular biology* 17, 1500-1507.

West, M.H., and Bonner, W.M. (1980). Histone 2A, a heteromorphous family of eight protein species. *Biochemistry* 19, 3238-3245.

Winter, E. (2012). The Sum1/Ndt80 transcriptional switch and commitment to meiosis in *Saccharomyces cerevisiae*. *Microbiology and molecular biology reviews* : MMBR 76, 1-15.

Woglar, A., and Jantsch, V. (2014). Chromosome movement in meiosis I prophase of *Caenorhabditis elegans*. *Chromosoma* 123, 15-24.

Wood, T.J., Thistlethwaite, A., Harris, M.R., Lovell, S.C., and Millar, C.B. (2013). Mutations in non-acid patch residues disrupt H2A.Z's association with chromatin through multiple mechanisms. *PLoS one* 8, e76394.

Wu, W.H., Alami, S., Luk, E., Wu, C.H., Sen, S., Mizuguchi, G., Wei, D., and Wu, C. (2005). Swc2 is a widely conserved H2AZ-binding module essential for ATP-dependent histone exchange. *Nature structural & molecular biology* 12, 1064-1071.

Yoshida, M., Katsuyama, S., Tateho, K., Nakamura, H., Miyoshi, J., Ohba, T., Matsuhara, H., Miki, F., Okazaki, K., Haraguchi, T., et al. (2013). Microtubule-organizing center formation at telomeres induces meiotic telomere clustering. *The Journal of cell biology* 200, 385-395.

Yu, H., Braun, P., Yildirim, M.A., Lemmens, I., Venkatesan, K., Sahalie, J., Hirozane-Kishikawa, T., Gebreab, F., Li, N., Simonis, N., et al. (2008). High-quality binary protein interaction map of the yeast interactome network. *Science* 322, 104-110.

Zlatanova, J., and Thakar, A. (2008). H2A.Z: view from the top. *Structure* 16, 166-179.

BIFC	<i>Bimolecular Fluorescence Complementation</i> (complementación bimolecular fluorescente)
CDK	<i>Cyclin-Dependent Kinase</i> (quinasa dependiente de ciclina)
ChIP-Seq	<i>Chromatin immunoprecipitation followed by sequencing</i>
CO	<i>Crossovers</i> (entrecruzamiento recíproco)
dHJ	<i>double Holliday Junction</i> (unión doble de Holliday)
DNA	<i>deoxyribonucleic acid</i> (ácido dexosirribonucleico)
DP	<i>Ditipo Parental</i>
DNP	<i>Ditipo No Parental</i>
DSB	<i>Double Strand Break</i> (rotura de doble cadena)
EN	<i>Envuelta Nuclear</i>
FRAP	<i>Fluorescence Recovery After Photobleaching</i> (Recuperación de la fluorescencia posterior al foto-blanqueamiento)
HZADs	<i>H2A.Z activated domains</i> (dominios de cromatina activados por H2A.Z)
INM	<i>Inner Nuclear Membrane</i> (membrana nuclear interna)
JMs	<i>Joint Molecules</i>
LEs	<i>Lateral Elements</i> (elementos laterales)
LINC	<i>Linker of nucleoskeleton and cytoskeleton</i>
MSE	<i>Middle Sporulation Elements</i> (elementos de esporulación media)
NCO	<i>Non-crossover</i> (entrecruzamiento no recíproco)
NCP	<i>Nucleosome Core Particle</i> (core del nucleoma)
NLS	<i>Nuclear Localization Signal</i> (señal de localización nuclear)
NPCs	<i>Nuclear Pore Complexes</i> (complejos de poro nucleares)
ONM	<i>Outer Nuclear Membrane</i> (membrana nuclear externa)
ORF	<i>Open Reading Frame</i> (fase de lectura abierta)
PC	<i>Pairing Centers</i> (centros de apareamiento)
rDNA	<i>DNA ribosómico</i>
ROIs	<i>Regions Of Interest</i> (regiones de interés)
RPMs	<i>Rapid Prophase Movements</i> (Movimiento rápido de los cromosomas durante la profase meiótica)
SAC	<i>Spindle Assembly Checkpoint</i> (<i>checkpoint</i> de ensamblaje del huso)
SC	<i>Synaptonemal Complex</i> (complejo sinaptonémico)
SDSA	<i>Synthesis-Dependent Strand Annealing</i>
SGD	<i>Saccharomyces cerevisiae Genome Database</i>
SPB	<i>Spindle Pole Body</i> (cuerpo polar del huso)
ssDNA	<i>single stranded DNA</i> (DNA de cadena sencilla)

