特 集 記 事

イネ生殖細胞形成過程を制御する遺伝子群の単離と機能解析

野々村賢一^{1,2)}¹⁾ 国立遺伝学研究所, 実験圃場, 静岡県三島市谷田 1111, 〒411-8540²⁾ 総合研究大学院大学, 生命科学研究科, 静岡県三島市谷田 1111, 〒411-8540

Isolation and functional analysis of genes regulating germ-cell development in rice

Ken-Ichi Nonomura^{1,2)}¹⁾ *Experimental Farm, National Institute of Genetics, Yata 1111, Mishima, Shizuoka 411-8540, Japan*²⁾ *Department of Life Science, Graduate University for Advanced Studies/Sokendai, Yata 1111, Mishima, Shizuoka 411-8540, Japan*

キーワード

イネ, 突然変異体, 生殖細胞, 減数分裂, 多様性

はじめに

イネ属は約 22 種に分類されており, 2 つの栽培種以外は全て野生種で構成される (Vaughan and Morishima 2003). そのほとんど全ての組み合わせで種間雑種の作出が可能であるが, 雑種における減数分裂染色体の対合程度は様々である. この減数分裂での対合程度を指標とする分類はゲノム分析と呼ばれ, イネ属ではこれまで AA, BB, CC, EE, FF, GG の二倍種, および BBCC, CCDD, HHJJ の四倍種に分類されている (Vaughan and Morishima 2003). 著者が所属する国立遺伝学研究所では, 世界中の熱帯, 亜熱帯地方から収集した野生イネを 1,700 系統余り有しており, それらはイネ属のほとんど全ての種を含んでいる (Miyabayashi *et al.* 2007). 野生イネは耐病虫性など農業上重要な形質を豊富に有しており (Brar and Khush 1997), 国内外の多くのイネ研究者に利用されているが, これまで実用化に至った例はほとんどない. その主要因のひとつとして, 異なるゲノム種間では減数分裂期の正常な染色体対合が阻害され, 遺伝子の交換がほとんど起こらず, そのため AA ゲノム種以外の野生イネの形質を栽培イネに導入するのが困難であることが挙げられる. 異なるゲノム種間の減数分裂染色体の構造はどのようにして識別されているのか, その過程にはどのような遺伝子が関与しているのか, という興味が, 本稿の主題であるイネ生殖研究を始めるきっかけとなった. しかし遠縁ゲノム種間の雑種次世代はほとんど得られないことから, ゲノム染色体構造を認識する遺伝子の捕捉は, 通常の遺伝学的アプローチでは不可能である. そこで著者らは, 栽培イネの種子稔性が低下する突然変異系統のなかから,

減数分裂染色体の認識や対合に関与する遺伝子を同定し, 対応する遠縁野生イネの遺伝子構造を解読して, 遺伝子構造や機能を比較するという試みを行っている. 種子不稔性を示す約 600 の培養変異系統から, イネ内在性レトロトランスポゾン *Tos17* の転移による遺伝子破壊 (Hirochika *et al.* 1996, Yamazaki *et al.* 2001) を利用して, 幸いにもこれまでに 4 つの遺伝子を捕捉することができた. 2 つは望み通り減数分裂の染色体認識に関わる遺伝子であったが, 2 つは減数分裂以前の, 生殖細胞の発生・分化に関わる遺伝子であった. これらの遺伝子群の機能およびイネ属内多様性を調べることで, イネ属ゲノム種間でみられる生殖障壁を克服するためのヒントが得られることを期待している.

1. イネの生殖細胞の成り立ち

動物では, 生殖細胞系列が生殖始原細胞として発生過程の非常に早い時期に体細胞系列から分離する. また多くの動物の生殖細胞は, 生殖巣とは離れた領域で分化し, その後生殖巣原基に移動する. 一方, 植物の生殖始原細胞は, 体細胞系列が栄養成長を終え, 花芽形成, そして花器官原基の形成が誘導された後に初めて発生を開始する. 動物のように生殖細胞が場所を移動することもない. 従って植物の生殖システムを制御する遺伝子群も, 動物とはかなり違っていることが予想されるが, ほとんど未解明のままである.

イネの生殖細胞の系譜を図 1 に示す. 植物の生殖始原細胞は孢子原基細胞 (胞原細胞; archesporial cell) と呼ばれる. 葯原基の表皮直下では, 小孢子嚢の予定領域 4 カ所で胞原細胞が分化する. その後, 体細胞分裂を繰り返して, 葯壁の 3 つの内層および花粉母細胞を形成する. 葯壁の分化が完了後, しばらくして花粉母細胞は減数分

図1. イネの葯および珠心における細胞系譜の概略

裂に移行する。一方胚珠では、やはり珠心の表皮直下に胞原細胞が分化し、1つの胚嚢母細胞を形成する。

シロイヌナズナで、胞子形成細胞の形成に重要な役割を果たす転写因子 *SPL* (*SPOROCTELESS*) が同定された (Schiefthaler *et al.* 1999, Yang *et al.* 1999)。また *SPL* 遺伝子の調節領域に、葯および心皮の運命を決定する転写因子 *AGAMOUS* が結合する可能性が示され (Ito *et al.* 2004)、植物の生殖細胞の発生が、花器官の形態形成に連なるプログラムの制御下に置かれていることが示唆された。著者らは、イネの胞原細胞の分化後のかなり早い時期に発現を開始する *MEL1* (*MEIOSIS ARRESTED AT LEPTOTENE1*) 遺伝子を同定した (Nonomura *et al.* 2007)。*MEL1* mRNA は、雌雄の胞原細胞および胞子形成細胞の発生過程、そして雌雄の胞子母細胞が減数分裂を開始する直前までの間で特異的に検出された (図2)。*MEL1* は small RNA を介した遺伝子サイレンシング機構の鍵酵素である Argonaute (*AGO*) ファミリーに属するタンパク質をコードしていた。イネには18コピー、シロイヌナズナには10コピーの *AGO* 遺伝子が存在する。これまでに機能の分かっている *AGO* タンパク質として *AGO1* と *PNH* (*PINHEAD*) があり、シロイヌナズナおよびイネで共に茎頂分裂組織の維持に重要な役割を果たすことが知られる (Lynn *et al.* 1999, Moussian *et al.* 1998, Vaucheret 2006, Nishimura *et al.* 2002)。その他、シロイヌナズナの *AGO4* は RNA-directed DNA methylation および転移因子の抑制に (Zilberman *et al.* 2003)、*ZIPPER/AGO7* は幼植物から成体への相転換に (Hunter *et al.* 2003, Peragine *et al.* 2004)、それぞれ機能する。また、シロイヌナズナの *ZIPPER* に相同なイネ *AGO* 遺伝子 *SHL4* (*SHOOTLESS4*) は、茎頂分裂組織の分化に必須である (Nagasaki *et al.* 2007)。しかし生殖細胞で特異的に働く *AGO* は、イネの *MEL1* が全植物を通じて初めてである。*MEL1* の *Tos17* 挿入突然変異体では、雌雄の配偶子形成がほぼ完全に不全となり、その原因は第一減数分裂過程の停止であった (Nonomura *et al.* 2007)。また胞子原基細胞に由来する細胞で、異常

図2. イネ *MEL1* 遺伝子の *in situ* ハイブリダイゼーション

(A) 生殖細胞発生の初期過程で、葯原基の長軸方向に沿って表皮直下に *MEL1* mRNA シグナル (濃染部位) が検出される。矢頭はシグナルが飛び飛びで検出される様子を示す。(B) (A) よりも後のステージでは、雌雄の生殖器官で *MEL1* シグナルが検出される。(C) 葯壁が3層の時期に、*MEL1* シグナルは雌雄の胞子形成細胞のみで検出される。(D) *MEL1* の発現は、減数分裂期にはみられない。(EとF) それぞれ (B) と (C) の点線枠を拡大した写真。(E) では珠心原基の *MEL1* シグナルは複数の細胞に跨るが (矢印)、(F) では1つの胚嚢母細胞に局限される。Bars=100 μ m。

な液胞化が起こり、分裂異常から複数の花粉母細胞が融合するなど、多面的な異常が観察された (図3)。幼穂を用いたマイクロアレイ解析では、クロマチン構造や組織発生・生理に関連する数百個の遺伝子の転写産物量が、正常型と変異型で異なっていた (未発表データ)。この結

図3. 減数分裂レプトテン期の葯の横断切片の透過型電子顕微鏡写真

(A) 正常型. (B) *mel1* 突然変異体. 矢印は、隣り合う花粉母細胞 (pmc) の間の細胞膜および細胞壁の形成が不完全で、細胞質が互いに流動的になっている。また、タペト細胞 (ta)、中間層 (ml)、内皮 (en) といった胞原細胞に由来する細胞群も、正常型と比較して液胞がより発達していた。ep は表皮。Bars=10 μ m.

果は、*MEL1* がイネ生殖細胞の正常な成熟過程に必須の遺伝子群を、RNA を介して制御している可能性を示唆する。

生殖細胞を包む保育細胞の発生異常を示すイネ突然変異体の解析から、*MSP1* (*MULTIPLE SPOROCTES 1*) 遺伝子が同定された (Nonomura *et al.* 2003)。*MSP1* 遺伝子は、ロイシンリッチリピート (LRR) 型レセプターキナーゼをコードしており、その *Tos17* 挿入変異体では、雌雄の生殖母細胞が異常に増加する。シロイヌナズナでも保育細胞の形成に必須である LRR キナーゼをコードする *EMS1/EXS* 遺伝子が同定されている (Canales *et al.* 2002, Sorensen *et al.* 2002, Zhao *et al.* 2002)。*ems1* 変異体の表現型は、葯ではイネ *msh1* 変異体に酷似するが、胚珠では表現型がみられない点でイネと異なる。顕花植物の生殖母細胞およびその周辺の細胞層 (葯および珠心の表皮を除く) は、共に孢子原基細胞に由来することから (図1)、生殖母細胞を包み込む細胞群では、生殖母細胞に分化するプログラムが *MSP1* キナーゼによって抑制されることで、保育細胞へと分化している可能性が示された。この可能性は、*MEL1* mRNA の *in situ* 発現解析でも支持され

た。珠心における *MEL1* の発現は、生殖細胞の発生初期には胞原細胞のみで見られるが、明らかに複数の細胞に跨っている (図2E) (Nonomura *et al.* 2007)。しかし発生が進行するにつれ、*MEL1* の発現は1つの細胞、すなわち胚嚢母細胞のみに局限される (図2F)。この観察は、周辺の保育細胞が生殖細胞化する能力を持っているとする *MSP1* 研究で得られた知見を支持する結果である。また、葯の原基における胞原細胞の発生初期では、*MEL1* シグナルは小孢子嚢の長軸方向に添って飛び飛びに観察された (図2A)。これらの観察は、胞原細胞の誘導初期過程がこれまで考えられていたほど単純ではないことを示しており、今後のさらなる研究が待たれる。

2. イネの減数分裂を制御する遺伝子

減数分裂は、2回の連続した細胞分裂の間のDNA複製をスキップすることで、半数性孢子を形成する特殊な細胞分裂過程を指す。生物の遺伝現象の根幹であり、かつ子孫の多様性を創出する遺伝子の相同組換えに必須の過程である。交雑育種は正に減数分裂における遺伝子組換え機構を利用しているため、農業的にも非常に重要な現象であるといえる。シロイヌナズナでは、酵母や動物で同定された遺伝子のホモログを中心として、多くの減数分裂関連遺伝子が同定されている (Caryl *et al.* 2003, Sanchez-Moran *et al.* 2007 など)。しかしイネではほとんど解析されていないのが現状である。著者らは、減数分裂期の相同染色体の認識および対合に重要な2遺伝子、*PAIR1* (*HOMOLOGOUS PAIRING ABERRATION IN RICE MEIOSIS 1*) および *PAIR2* を単離した。

PAIR2 は、シロイヌナズナの *ASY1* と相同な *HORMA* (*Hop1*, *Rev7*, *Mad2*) ドメイン蛋白質をコードしていた (Nonomura *et al.* 2004a)。*PAIR2* タンパク質は、減数分裂前DNA複製期あるいはG2期に減数分裂細胞核への蓄積を開始し、レプトテン期には染色体軸に沿ってフィラメント状に局在する。その後、相同染色体間の対合 (synapsis) が起こった領域から順次離脱し、対合の完了するパキテン期では動原体領域を除くほとんど全ての染色体軸から離脱する (Nonomura *et al.* 2006a)。相同染色体の対合を仲介するタンパク質複合体はシナプトネマ複合体 (synaptonemal complex; SC) と呼ばれる。*PAIR2* の *Tos17* 挿入変異体では、相同染色体の対合が全く起こらず (不對合; asynapsis)、24個の二価染色体が観察される (対合が正常ならばイネでは12個の二価染色体が形成される)。これらの結果から *PAIR2* は、SCのうち、染色体軸要素 (axial element; AE) に一時的に結合して、SCの中央要素 (central component) を相同染色体のAE間に呼び寄せる働きをしていると考えられる。シロイヌナズナでは報告されていないが、イネではパキテン期、およびSCが崩壊して相同染色体がキアズマを介して結合するディアクinesis期において、動原体領域にのみ *PAIR2* が局在

し続ける (Nonomura *et al.* 2006a). この生物学的意味はよく分かっていないが, *pair2* 突然変異体の減数分裂第一中期から後期において, 動原体および微小管の蛍光抗体染色像をよく観察してみると, ほとんど全ての一価染色体の動原体に, 両極から紡錘体微小管が結合していた (図 4) (Nonomura *et al.* 2006a). 通常イネの第一減数分裂では, 対をなす相同染色体の 2 つの動原体は, それぞれ相反する一方の極から伸びる紡錘体微小管と結合する. すなわち, それぞれの動原体は一極性 (monopolarity) を示す. 一方, 第二分裂では, 体細胞分裂と同様に姉妹染色分体分離が起きるが, その際の動原体は二極性 (bipolarity) を示す. *pair2* 変異体では, 第一分裂で一価染色体が二極性を示し, その後どちらか一方の微小管との結合が解消されて, 不均等な染色体分配が起こることから, PAIR2 タンパク質の動原体領域における機能は, 第一分裂における動原体の一極性の維持にあるのかもしれない. 酵母や動物の一極性の維持には, 姉妹染色分体の結合に必須であるコヒーシン (cohesin) 複合体の構成要素である Rec8, そして第一分裂で動原体領域の Rec8 の分解を防いでいる Sgo1 が重要な役割をすることなどが解っている (Watanabe and Nurse 1999, Kitajima *et al.* 2004, Kitajima *et al.* 2005). イネにも Rec8 ホモログである OsRAD21-4 が同定されており (Zhang *et al.* 2006), これが PAIR2 と相互作用する可能性が考えられる.

PAIR1 は, 両末端に塩基性アミノ酸頻度の高いドメインを, 中央にコイルドコイルモチーフを持つ新規核蛋白質をコードしていた (Nonomura *et al.* 2004b). 塩基性ドメインには, DNA 結合モチーフ (S/T-S/T/P-X-X) (Suzuki 1989) が数多く存在し, かつ C 末端の塩基性ドメインは H1 リンカーヒストンの DNA 結合ドメインと弱いながらも相同性を示すことなどから考えて, PAIR1 は DNA あるいはクロマチンと直接結合して機能する可能性が高い. PAIR1 の *Tos17* 挿入変異体では, 減数分裂染色体の対合およびキアズマの形成がほとんど起きない. さらに, パ

図 4. *pair2* 突然変異体の第一減数分裂中期では一価染色体の一極性が失われる
pair2 変異体では, 相同染色体の対合不全により 24 個の一価染色体が第一分裂で不均等に両極に分配される (左図). その際, 多くの一価染色体 (青色) の動原体 (赤色) は両極から伸びてきた紡錘体微小管 (緑色) と結合して相反する方向へと引っ張られるため, 長く伸びた形状を示す (右図).

キテン期に特徴的な減数分裂特異的な染色体凝縮が異常となり, 典型的なパキテン染色体像を観察することができない (図 5). PAIR2 タンパク質は, *pair1* 突然変異体の減数分裂染色体軸にも結合し得ることから (Nonomura *et al.* 2006b), PAIR2 の軸局在性は PAIR1 機能とは独立である. シロイヌナズナにも, イネ PAIR1 と相同性を示す未解析の遺伝子が存在し, その突然変異体はイネの *pair1* 変異体に類似した表現型を示す (R. Mercier, 私信). 以上の結果から PAIR2 は, 軸構造に結合して相同染色体対合を仲介するシナプトネマ構造の確立に関与し, PAIR1 は, 染色体の減数分裂特異的な凝縮および染色体認識に重要な働きをすることが示された.

3. イネ生殖関連遺伝子座における多様性ゲノム解析の展望

PAIR1, PAIR2, MEAL について, 二倍体野生イネ *Oryza rufipogon* (AA), *O. punctata* (BB), *O. officinalis* (CC), *O. australiensis* (EE), および四倍体野生イネ *O. minuta* (BBCC), *O. alta* (CCDD) に由来する BAC クローンを選抜し, 各遺伝子のゲノム配列あるいは cDNA を解読して, 遺伝子構造を比較した (未発表データ). いずれの遺伝子座も, タンパク質のコード領域は非常に高い保存性を示し, 3 つの遺伝子がイネ属の生殖に非常に重要な役割を果たすことが示された. しかし PAIR1 遺伝子座では, N 末端の塩基性ドメインに相当する第 2 エクソンにおいて, 塩基多型および in-frame な挿入/欠失が多数生じていた. 興味深いことに PAIR2 および MEL1 遺伝子座では, 四倍体野生イネを構成する 2 種類のゲノムのうちの一方

図 5. *pair1* 突然変異体では減数分裂特異的な凝縮と対合が異常になる
(A と B) 正常型のパキテン期染色体 (A) とディアキネシス期染色体 (B). (C と D) *pair1* 突然変異体のパキテン期 (C) では, 典型的なパキテン期染色体像は観察されない. しかし, 恐らく体細胞の染色体凝縮システムにより, ディアキネシス期には凝縮した染色体が出現する (D). しかし, 二価染色体はほとんど形成されない. Bar = 20 μ m.

で、多くの塩基置換、欠失、ゲノム再構成が生じ、遺伝子が不活性化していたが、*PAIR1* 座は四倍体の2種類のゲノムともに活性型遺伝子を保存していた。この結果は、各ゲノムタイプの *PAIR1* 遺伝子が、各ゲノム染色体に対して特異的に機能する可能性を示唆する。しかしこれらはあくまで傍証に過ぎず、*PAIR1* 蛋白質にみられるゲノム種間多様性と、自然界でみられるゲノム種分化との関係は、現時点では全く不明であるが、今後は栽培イネ突然変異体も利用しながら、その関係性を調べていく必要がある。また、減数分裂期に若干の対合不全が生じ、かつ交雑後代が得られるような栽培イネと近縁野生イネの組み合わせを探索中である。もし存在すれば、自然界で起こっている減数分裂を介した生殖的隔離の原因遺伝子を、遺伝学的アプローチで補足することが可能になる。

4. 終わりに

イネの生殖関連遺伝子の解析はこれまでほとんど例が無く、全ての局面においてシロイヌナズナの後塵を拝している。また、ここで紹介した4つの遺伝子の、全体のネットワークにおける位置づけなどは全く解っていない。しかし、わずか4つの遺伝子を比較しただけでも、シロイヌナズナとイネの生殖システムに多くの違いがあることが解ってきた。日本国内には、植物生殖細胞の発生初期過程および減数分裂の研究者がほとんどいないのが現状である。本稿が、若い研究者にとって植物生殖分野を志すきっかけになれば幸いである。

謝 辞

本研究に登場する *Tos17* 挿入変異体の選抜に用いた系統に関して、廣近洋彦博士をはじめとする農業生物資源研究所の多くの方々に多大なるご支援を頂いた。また、倉田のり教授をはじめ、国立遺伝学研究所・実験圃場／植物遺伝研究室グループの方々、その他多くの方々に有形無形のご助力を頂いた。この場を借りて、深く感謝の意を表したい。

引用文献

- Brar, D.S. and G.S. Khush (1997) Alien introgression in rice. *Plant Mol. Biol.* 35: 35–47.
- Canales, C., A.M. Bhatt, R. Scott and H. Dickinson (2002) EXS, a putative LRR receptor kinase, regulates male germline cell number and tapetal identity and promotes seed development in *Arabidopsis*. *Curr. Biol.* 12: 1718–1727.
- Caryl, A.P., G.H. Jones and F.C. Franklin (2003) Dissecting plant meiosis using *Arabidopsis thaliana* mutants. *J. Exp. Bot.* 54: 25–38.
- Hirochika, H., K. Sugimoto, Y. Otsuki, H. Tsugawa and M. Kanda (1996) Retrotransposons of rice involved in mutations induced by tissue culture. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93: 7783–7788.
- Hunter, C., H. Sun and R.S. Poethig (2003) The *Arabidopsis* heterochronic gene *ZIPPY* is an *ARGONAUTE* family member. *Curr. Biol.* 13: 1734–1739.
- Ito, T., F. Wellmer, H. Yu, P. Das, N. Ito, M. Alves-Ferreira, J.L. Riechmann and E.M. Meyerowitz (2004) The homeotic protein AGAMOUS controls microsporogenesis by regulation of SPOROCTELESS. *Nature* 430: 356–360.
- Kitajima, T.S., S.A. Kawashima and Y. Watanabe (2004) The conserved kinetochore protein shugoshin protects centromeric cohesion during meiosis. *Nature* 427: 510–517.
- Kitajima, T.S., S. Hauf, M. Ohsugi, T. Yamamoto and Y. Watanabe (2005) Human Bub1 defines the persistent cohesion site along the mitotic chromosome by affecting Shugoshin localization. *Curr. Biol.* 15: 353–359.
- Lynn, K., A. Fernandez, M. Aida, J. Sedbrook, M. Tasaka, P. Masson and M.K. Barton (1999) The *PINHEAD/ZWILLE* gene acts pleiotropically in *Arabidopsis* development and has overlapping functions with the *ARGONAUTE1* gene. *Development* 126: 469–481.
- Miyabayashi, T., K.I. Nonomura, H. Morishima and N. Kurata (2007) Genome size of twenty wild species of *Oryza* determined by flow cytometric and chromosome analysis. *Breed. Sci.* 57: 73–78.
- Moussian, B., H. Schoof, A. Haecker, G. Jurgens and T. Laux (1998) Role of the *ZWILLE* gene in the regulation of central shoot meristem cell fate during *Arabidopsis* embryogenesis. *EMBO J.* 17: 1799–1809.
- Nagasaki, H., J. Itoh, K. Hayashi, K. Hibara, N. Satoh-Nagasawa, M. Nosaka, M. Mukouhata, M. Ashikari, H. Kitano, M. Matsuoka, Y. Nagato and Y. Sato (2007) The small interfering RNA production pathway is required for shoot meristem initiation in rice. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 104: 14867–14871.
- Nishimura, A., M. Ito, N. Kamiya, Y. Sato and M. Matsuoka (2002) OsPNH1 regulates leaf development and maintenance of the shoot apical meristem in rice. *Plant J.* 30: 189–201.
- Nonomura, K.I., K. Miyoshi, M. Eiguchi, T. Suzuki, A. Miyao, H. Hirochika and N. Kurata (2003) The *MSP1* gene is necessary to restrict the number of cells entering into male and female sporogenesis and to initiate anther wall formation in rice. *Plant Cell* 15: 1728–1739.
- Nonomura, K.I., M. Nakano, K. Murata, K. Miyoshi, M. Eiguchi, A. Miyao, H. Hirochika and N. Kurata (2004a) An insertional mutation in the rice *PAIR2* gene, the ortholog of *Arabidopsis* *ASY1*, results in a defect in homologous chromosome pairing during meiosis. *Mol. Genet. Genomics* 271: 121–129.
- Nonomura, K.I., M. Nakano, T. Fukuda, M. Eiguchi, A. Miyao, H. Hirochika and N. Kurata (2004b) The novel gene *HOMOLOGOUS PAIRING ABERRATION IN RICE MEIOSIS1* of rice encodes a putative coiled-coil protein required for homologous chromosome pairing in meiosis. *Plant Cell* 16: 1008–1020.
- Nonomura, K.I., M. Nakano, M. Eiguchi, T. Suzuki and N. Kurata (2006a) *PAIR2* is essential for homologous chromosome synapsis in rice meiosis I. *J. Cell Sci.* 119: 217–225.
- Nonomura, K.I., A. Morohoshi and N. Kurata (2006b) Comparative genome analysis of the meiotic gene *PAIR1* in wild relatives of genus *Oryza*. *Breed. Res.* 8 (Suppl. 2): 159 (in Japanese with an English figure).
- Nonomura, K.I., A. Morohoshi, M. Nakano, M. Eiguchi, A. Miyao, H. Hirochika and N. Kurata (2007) A Germ cell specific gene of

- the *ARGONAUTE* family is essential for the progression of pre-meiotic mitosis and meiosis during sporogenesis in rice. *Plant Cell* 19: 2583–2594.
- Peragine, A., M. Yoshikawa, G. Wu, H.L. Albrecht and R.S. Poethig (2004) SGS3 and SGS2/SDE1/RDR6 are required for juvenile development and the production of trans-acting siRNAs in *Arabidopsis*. *Genes Dev.* 18: 2368–2379.
- Sanchez-Moran, E., J.L. Santos, G.H. Jones and F.C. Franklin (2007) ASY1 mediates AtDMC1-dependent interhomolog recombination during meiosis in *Arabidopsis*. *Genes Dev.* 21: 2220–2233.
- Schiefthaler, U., S. Balasubramanian, P. Sieber, D. Chevalier, E. Wisman and K. Schneitz (1999) Molecular analysis of *NOZZLE*, a gene involved in pattern formation and early sporogenesis during sex organ development in *Arabidopsis thaliana*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 96: 11664–11669.
- Sorensen, A., F. Guerineau, C. Canales-Holzeis, H.G. Dickinson and R.J. Scott (2002) A novel extinction screen in *Arabidopsis thaliana* identifies mutant plants defective in early microsporangial development. *Plant J.* 29: 581–594.
- Suzuki, M (1989) SPXX, a frequent sequence motif in gene regulatory proteins. *J. Mol. Biol.* 207: 61–84.
- Vaucheret, H (2006) Post-transcriptional small RNA pathways in plants: mechanisms and regulations. *Genes Dev.* 20: 759–771.
- Vaughan, D.A. and H. Morishima (2003) Biosystematics of the genus *Oryza*. In “Rice: origin, history, technology, and production”. Smith, C.W. (ed.), John Wiley & Sons, Inc.: pp. 27–65.
- Watanabe, Y. and P. Nurse (1999) Cohesin Rec8 is required for reductional chromosome segregation at meiosis. *Nature* 400: 461–464.
- Yamazaki, M., H. Tsugawa, A. Miyao, M. Yano, J. Wu, S. Yamamoto, T. Matsumoto, T. Sasaki and H. Hirochika (2001) The rice retro-transposon *Tos17* prefers low-copy-number sequences as integration targets. *Mol. Genet. Genomics* 265: 336–344.
- Yang, W.C., D. Ye, J. Xu and V. Sundaresan (1999) The *SPORO-CYTELESS* gene of *Arabidopsis* is required for initiation of sporogenesis and encodes a novel nuclear protein. *Genes Dev.* 13: 2108–2117.
- Zhang, L., J. Tao, S. Wang, K. Chong and T. Wang (2006) The rice OsRad21-4, an orthologue of yeast Rec8 protein, is required for efficient meiosis. *Plant Mol. Biol.* 60: 533–554.
- Zhao, D.Z., G.F. Wang, B. Speal and H. Ma (2002) The *excess microsporocytes1* gene encodes a putative leucine-rich repeat receptor protein kinase that controls somatic and reproductive cell fates in the *Arabidopsis* anther. *Genes Dev.* 16: 2021–2031.
- Zilberman, D., X. Cao and S.E. Jacobsen (2003) ARGONAUTE4 control of locus-specific siRNA accumulation and DNA and histone methylation. *Science* 299: 716–719.