総説

シロイヌナズナを用いた植物の有性生殖研究における最近の展開2003
～植物減数分裂遺伝子、点から線へ、線からネットワークへ～

神奈川大学理学部生物科学科　*安積良隆
神奈川大学理学部生物科学科　鈴木秀穂

Recent Progress in Research on Plant Sexual Reproduction in *Arabidopsis thaliana* 2003. An Emerging Network of Plant Meiosis Genes

*Yoshitaka Azumi and Hideho Suzuki
Department of Biological Sciences, School of Science, Kanagawa University

要旨

有性生殖を行う全ての生き物は染色体数が半減した半数体の雌性と雄性の配偶子を作り、この雌雄の配偶子が融合（受精）することによって２倍体に復帰し、次世代の細胞を生み出す。配偶子を作るのに、染色体数を半減させる作業（減数分裂）は避けて通ることはできない。ゲノムの恒常性を維持し、正常な子孫を生み出すのに減数分裂の正確性は非常に重要である。しかし、その正確性を保証する減数分裂のメカニズムの分子レベルでの研究は体細胞分裂のそれに関する詳細な研究と比べると大きな遅れをとってきた。特に植物の分野では減数分裂変異体の原因遺伝子の解析が進まず、停滞していたと言って良い。しかしモデル植物シロイヌナズナでの原因遺伝子の同定を前提とした変異体作出法が開発されて以来、胞子形成、減数分裂、あるいは配偶子形成の変異体単離とそれらの原因遺伝子の解析結果が毎年報告されるようになった。特に2003年にはシロイヌナズナから多くのこれらの減数分裂に関連する変異体が単離され、さらにその原因遺伝子の正体が明らかにされて、植物の減数分裂研究に大きな進歩が見られた。これらの遺伝子には転写調節因子、細胞周期調節因子、相同組換え関連因子、染色体構造調節タンパク質、減数分裂期染色体構成要素などの遺伝子が含まれる。このような生殖に重要な働きをする遺伝子が明らかにされつつあり、植物における生殖過程の全体像が分子のレベルで明らかにされようとしている。シロイヌナズナを用いた花器官形成以降の生殖過程の研究の近年の進歩について、特に減数分裂に関する研究に重点を置きながら、整理する。

SUMMARY

Gamete generation is prerequisite for all sexual reproductive organisms. Chromosome number of gametes have to be halved in preparation for the union (fertilization) of male and female gametes, which doubles the chromosome number of the fertilized cell. Meiosis is the special cell division for this task to reduce chromosome number, in which chromosomes are once replicated and segregated twice. To maintain genome contents, meiosis has to be performed with uncomparable strictness. In contrast with the large progress in mitosis study, which revealed much of molecular mechanism of cell cycle control, progress of meiosis has been very small. Especially, study of plant meiosis, though its long history of isolation of meiotic mutants, has been left far behind, because the mutated genes were remained to be identified. But, since *Arabidopsis thaliana* was adopted as a model organism and as the result, gene-tagging method, a mutagenesis to identify the mutated gene, was exploited, the situation has been changing totally. Few genes have been isolated from sporogenesis-, meiosis- and gametogenesis-mutants every year since late'90s, but in 2003 more than 10 genes were isolated and analyzed. They include transcription factors, cell cycle regulating elements, recombination proteins, a subunit of chromatin remodeling complex, and a component of synaptonemal complex. Due to the analysis of these reproduction-related genes, the structure of molecular mechanism of plant reproduction is on the way to emerge. In this paper, focusing on meiosis, recent progress in research on plant reproductive process after flower organ formation will be reviewed.

Key words; シロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana*)、有性生殖 (sexual reproduction) 胞子形成 (sporogenesis)、減数分裂 (meiosis)、配偶子 (gamete)、突然変異体 (mutant)

*Corresponding author; yoshitk@info.kanagawa-u.ac.jp
2946 Tsuchiya, Hiratsuka, Kanagawa 259-1293, Japan

１．植物の有性生殖に関わる諸過程の概説

１.１　植物の生殖

有性生殖（sexual reproduction）は種内に遺伝的多様性を生み出し、進化を促進する、病原菌に対する抵抗性を高めるなどの重要な役割を担ってきたが、これには他個体の細胞との融合が起こらなければならない。有性生殖を行う生物はこの目的で配偶子と呼ばれる特殊な細胞を進化の過程で生み出した。つまり雄性配偶体から作られる雄性配偶子（精子、植物では花粉の精核）と雌性配偶体から作られる雌性配偶子（卵）とが融合する受精によって次世代を生み出すしくみであるが、配偶子は異種の細胞とは融合を起こさず、同種の異性配偶子とのみ受精を行うしくみを備えている。配偶子は同種の異性配偶子を識別し、これと融合する能力がなければならないが、さらに染色体数を一定に保つには配偶子の染色体数をそれが由来した胞子体の染色体数の半分にまで予め半減させておくか、受精後に染色体数を半減させなければならない。大部分の生物は前者の方法を採用し、一般に配偶子を生み出す配偶体（gametophyte）は半数体であり、胞子を生み出す胞子体（sporophyte）は２倍体である。胞子体の細胞はその父親由来と母親由来の２組の染色体を核内に有するため、配偶体をつくるのに減数分裂（meiosis）を行って染色体数を半減させる。実際に減数分裂を行うのは胞子体中で分化した胞子である。胞子体内で分化してつくられた胞子が減数分裂を行って配偶体細胞をつくり、その細胞がさらに何度かの細胞分裂を行って配偶子がつくられる。

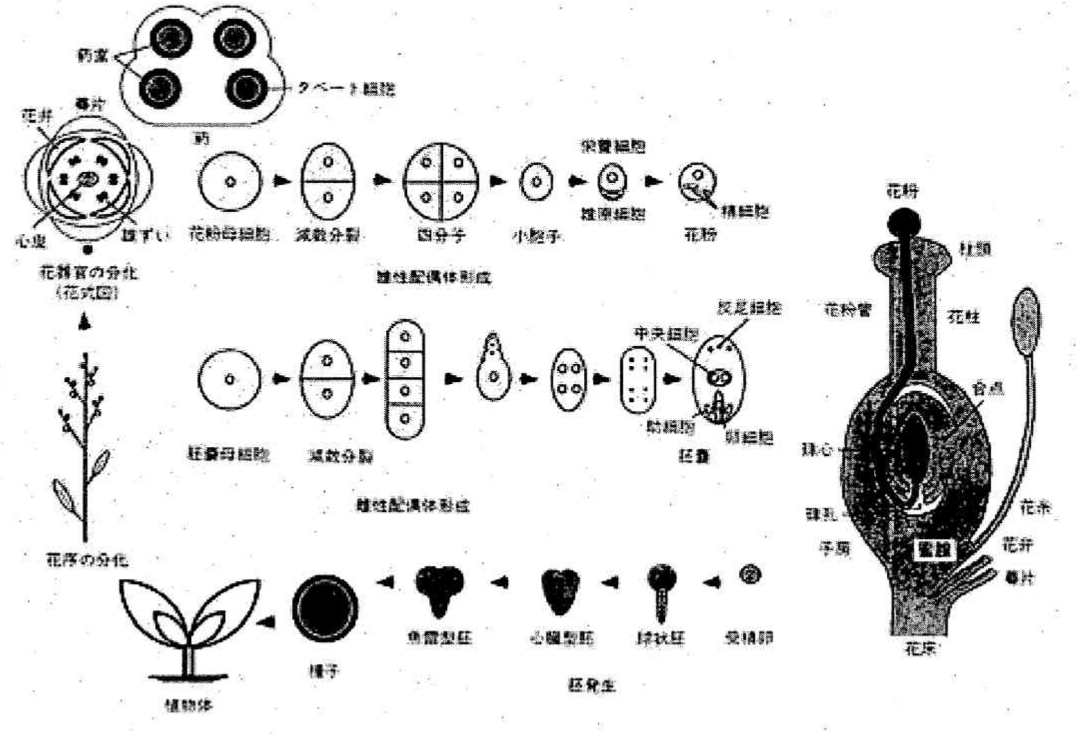

図１．高等植物の生活環の模式図。受精卵は胚発生の過程を経て種子を形成する。この種子が発芽し、栄養成長を続けることによって大きくなる。花成誘導がかかると花を作り、雄しべと雌しべの中に雌雄の配偶体、花粉と胚嚢を形成する。精細胞と卵細胞が融合して受精卵が生まれる。参考文献７のｐ７から複写。

植物の配偶体が形成される過程は、動物とは大きく異なっている。発芽した種子は栄養成長を開始し、茎、根、葉を作り出す。この段階では生殖細胞系列（germ line；胞原細胞から卵母細胞あるいは花粉母細胞を経て、配偶子に至るまでの細胞系列）は存在しない。植物では外部環境からの刺激、内因性の成長プログラムに従って花を分化するようになり（花成誘導）、雄しべと雌しべの中に新たに（de novo）に生殖細胞がつくられる（図１）。胚発生の段階ですでに生殖細胞がすでに分化しており、適当な時期が来るとそれが卵や精子を作るようになる動物とは大きく異なる。

注；この節の詳しいことは参考文献２，７を参照

１．２ 花成誘導

花を分化し生殖を始めるかどうかの決定は、発芽するかどうかの決定と同様、植物にとって最重要問題である。特にシロイヌナズナのような一年生の植物にとって、一生に一度の生殖であり、いつ花をつけ始めればより多くの子孫を残せるかという重要な問題である。そのため自分自身の成長状態と自分の置かれた環境とを分析し、慎重に判断しなければならない。それでさまざまな植物体外の環境からの刺激と植物体内からのシグナルを感知し、それによって花成に進むべきかどうかを判断するシステムを持っている。これらのシグナルは内因性の発生プログラム、光、温度（春化処理）から発せられると考えられている。これらの刺激の複合作用の結果、花成が誘導された植物の茎頂分裂組織は成長相が栄養成長から生殖成長に転換され、花序分裂組織（inflorescence meristem）として機能する。花序分裂組織では側生器官として栄養成長期の葉の代わりに、ある期間次々と花芽分裂組織（floral meristem）を分化し、花の原基あるいは花枝を生み出す。成長相が生殖成長に転換されても、次々と新しい細胞を生み出すという茎頂の分裂組織として機能には変化はない。従って*STM*、*CLV*、*WUS*、*KNOX*のような茎頂分裂組織維持に関わる遺伝子の発現は花序分裂組織でも引き継がれる。

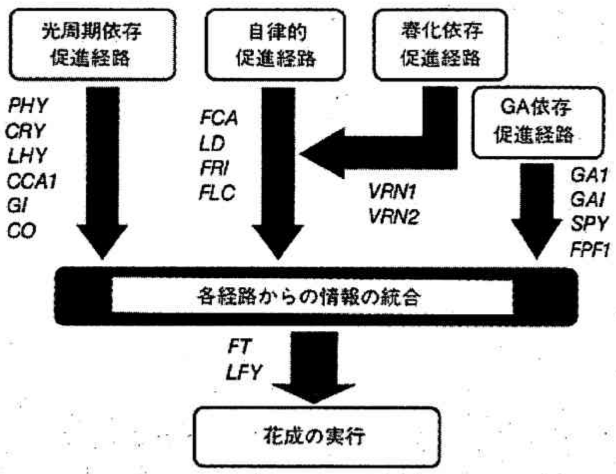

図２．花成を誘導する４つの過程。日長を感じてシグナルを発する光周期依存促進経路、デフォルトの花成誘導プログラムとして組み込まれている自律（構成）的促進経路、低温処理によって促進する春化依存促進経路、植物ホルモンであるジベレリン依存促進経路があると考えられている。参考文献７のｐ27より複写。

花成誘導に関してはこれまで短日植物であるアサガオなどで現象が詳細に調べられてきたが、シロイヌナズナは長日植物で、これまでに調べられてきた現象を分子レベルで説明するという目的にはシロイヌナズナはあまり有効ではない。しかし近年シロイヌナズナから花成誘導に関する変異体が多数単離され、その原因遺伝子のクローニングも進み、現在では花成誘導の分子機構はシロイヌナズナでもっとも良く調べられている。その成果として、構成的促進経路（autonomous pathway）、光周期依存促進経路（photoperiod pathway）、春化処理依存促進経路（vernalization pathway）、ジベレリン依存促進経路（gibberellin pathway）が存在することが示され、各経路に関わる遺伝子が明らかにされつつある（図２）。しかしこれらの遺伝子の機能に関して得られた結果の解釈はまだ統一的な見解が得られていないものも数多くあり、今後さらに慎重な解析が進められなければならない。しかし以下にこれまでに得られている実験結果を基にした花成へと導く諸経路についての概略を示す。

シロイヌナズナでは（おそらく大部分の植物では）花成へのプログラムは潜在的に進行すべく組み込まれていると考えられている。このプログラムは花成への構成的促進的プログラムと呼ばれる。*emf1*（*embryonic flower1*）変異体では子葉展開後、栄養成長期を経ずに花を咲かせる。これは胚発生後、茎頂分裂組織ができれば花成が可能であることを示しており、*EMF1*遺伝子は茎の発生プログラム中にデフォルトで存在する、花をつけようとする構成的促進プログラムを抑制しているものと理解されている。つまり通常の生育条件下では花成を抑制する活性（花成抑制活性）によってブロックされている状態にあり、花成誘導とは花成抑制活性からの解放であると考えられている。この解放条件が長日植物では長日であり、短日植物では短日であると考えられる。*EMF1*の他にも、*FLC*（*Flowering Locus C*）／*FLF*（*Flowering Locus F*）、*TFL1*（*Terminal Flower1*）なども花成抑制遺伝子であると考えられている。構成的促進経路に関わる遺伝子に変異が起こった場合には花成遅延が起こると考えられるが、そのような変異体がいくつか単離されている。*LUMINDEPENDENS*（*LD*）、*FCA*、*FRIGIDA*（*FRI*）などである。これらの遺伝子は花序分裂組織決定遺伝子である*LEAFY*（*LFY*）や*APETALA1*（*AP1*）などの遺伝子の発現を誘導することによって実際に花成を引き起こすものと考えられている。

光周期刺激は光周期依存促進経路を経て伝達される。この経路は光受容体であるフィトクロームとクリプトクロームの遺伝子に始まり、概日時計遺伝子（*LHY*、*CCA１*、*GI*、*ELF3*）を経由して*CONSTANS*（*CO*）に至る。シロイヌナズナのフィトクロム（phytochrome）遺伝子の一つ*PHYB*は白色光下で花成を抑える働きを持つ。これはこの条件下でCOの機能発現を抑制しているものと考えられている。シロイヌナズナには青色光受容体であるクリプトクロム（cryptochrome）の２つの遺伝子*CRY1*と*CRY2*が存在するが、*CRY2*が長日条件下での花成促進のための光受容体であり、*CRY2*が*CO*の発現を上昇させることが示されている。*GI*遺伝子はそれ自身の発現が概日性リズムを刻み、*CCA1*、*LHY*の発現リズムにも影響を及ぼしていることから、日長計測反応において重要な働き

をしていることが示されている。*CO*は転写因子をコードしており*LFY*、*AP1*の発現を正に制御することで、これらの遺伝子による花芽分裂組織への分化を促進する。

春化処理は花成抑制を緩和・解除する働きがあると考えられているが、これは春下処理依存促進経路を経て働く。春化処理依存促進経路に関わる遺伝子として*VRN1*、*VRN2*が知られている。

ジベレリン依存促進経路にはジベレリン合成系遺伝子・情報伝達遺伝子の他に*FLOWERING PROMOTING FACTOR1*（*FPF1*）のような機能のわかっていない新奇のタンパク質をコードするものがある。遺伝学的な解析から光周期依存促進経路、構成的促進経路とは独立の経路と考えられている。

花成開始には*LFY*と*FT*の共同作業が必要と考えられている。*LFY*は光周期依存性経路、ジベレリン促進依存経路、自律的促進経路から正の制御を受けている。光周期依存経路とジベレリン依存経路は*LFY*遺伝子の異なる制御領域を介して調節していることが示されており、４つの経路はそれぞれ異なるシグナル伝達経路を持っている可能性がある。*FT*遺伝子に関しても*CO*遺伝子を介した光周期依存経路と光周期に依存しない経路によって制御されており、この遺伝子の制御にもその経路に独自のシグナル伝達経路を持っているものと考えられる。

花芽分裂組織は分裂能が有限で中心の分裂組織が雌しべに分化すると、それ以上の分裂能を失う。花序分裂組織が花芽分裂組織化せずに、分裂能を維持するのに最も重要な遺伝子は花成抑制活性も持つとされている*TERMINAL FLOWER 1*（*TFL1*）と呼ばれる遺伝子であると考えられている。*tfl1*変異体では生殖成長に入るとすぐに茎の先端に花をつけて成長を停止する。この表現型は*TFL1*が機能せず、花成誘導後の早い時期に花序分裂組織が花芽分裂組織化し、花を作ってしまい、成長が停止したためと考えられる。この遺伝子はホスファチジルエタノールアミン結合タンパク質様のタンパク質をコードしている。*TFL1*遺伝子は*LEAFY*（*LFY*）、*APETALA1*（*AP1*）といった花芽分裂組織決定遺伝子の発現を抑制することによって花序分裂組織の性質維持に寄与しているものと考えられる。*FT*は*FTL1*同様、ホスファチジルエタノールアミン結合タンパク質様のタンパク質をコードし、*ft*は*ftl1*の正反対の表現型を示すことから、*FT*は*TFL1*と拮抗的に働くと推定されている。

注；この節の詳しいことは参考文献４，５，７、８を参照。

１．３ 花器官形成

花序分裂組織の性質の転換には花芽分裂組織決定遺伝子（floral meristem identity gene）が関与しており、この中では*LEAFY*（*LFY*）、*APETALA1*（*AP1*）、*CAULIFLOWER*（*CAL*）が主要な働きをしている。これらに加えて*UNUSUAL FLOWER*（*UFO*）、*APETALA2*（*AP2*）も花芽分裂組織として副次的な機能を持つとされている。これらの遺伝子に変異を起こした植物体では花芽の誘導が強く抑制されること

が知られている。花芽分裂組織ではLFYがまず最初に発現誘導され、転写因子であるLFYはAP1の発現を誘導する。AP1の発現にはLFYの他にFTの働きも必要であることが知られている。花芽分裂組織決定遺伝子は花芽でTFL1遺伝子が発現し花序化するのを抑制するのに対し、TFL1は花序分裂組織で花芽分裂組織決定遺伝子が発現するのを抑え、花序の分裂能を維持する（図３）。

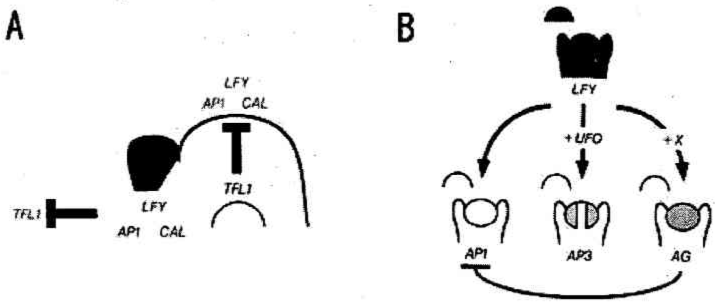

図３．花序と花芽。A．花序ではTFL1がLFYなどの発現を抑制し、花芽では逆にLFYなどがTFL1の発現を抑制する。B．本文参照。XはWUSであることが知られている。参考文献７のｐ42とp45から複写。

花芽が誘導された後、それが発達して花となるわけであるが、この過程は器官決定遺伝子（floral homeotic gene）によって支配されている。シロイヌナズナでは花の各器官を決定するしくみは、萼片、花弁、雄しべ、雌しべがA、B、Cの３つの器官決定遺伝子群により決定されるというABCモデルによって説明される（図４、５）。A遺伝子のみが発現する最外輪（first whorl）では萼片が作られ、A、B遺伝子が発現する第二外輪（second whorl）には花弁がつくられ、B、C遺伝子が発現する第三外輪（third whorl）には雄しべが、C遺伝子のみが発現する最内輪（forth whorl）には雌しべが誘導される。A遺伝子としてはAP1とAP2が、B遺伝子としてはAP3とPIが、C遺伝子としてはAGが知られている。AP2遺伝子以外はMADS-box遺伝子であり、転写因子と考えられる。AP2遺伝子もAP2ドメインと呼ばれるDNA結合モチーフを持ち転写因子と考えられる。これまでのところABC遺伝子のターゲット遺伝子、すなわち下流で働く遺伝子については多くのことはわかっていない。しかしABC遺伝子の影響下で、顎、花弁、雄しべ、雌しべが分化するのは明白となっている。

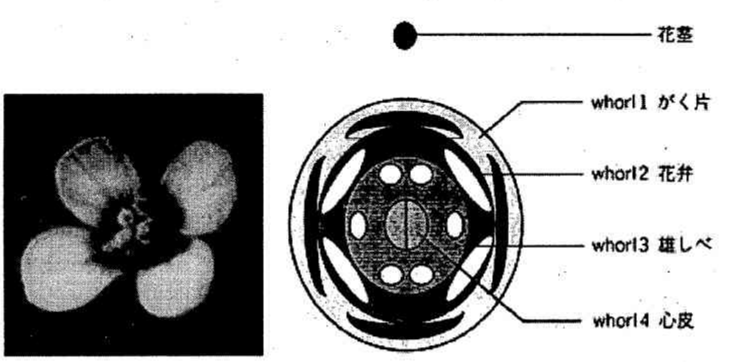

図４．シロイヌナズナの花の構造。花の外側からwhorl１，２，３，４でそれぞれに４枚のがく片、４枚の花弁、６本の雄しべ、２枚の心皮が形成される。文献４のp297より複写。

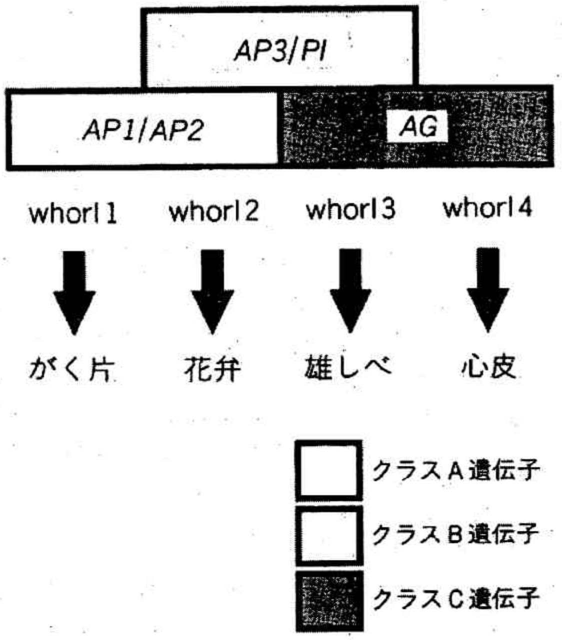

図５．花の器官決定を説明するABCモデル。花の器官決定はAクラス、Bクラス、Cクラスの３種類の器官決定遺伝子によって行われるとするモデルですでに一般に受け入れられている。Aクラス遺伝子であるAP1あるいはAP2遺伝子が発現する領域ではがく片が、Aクラス遺伝子とBクラス遺伝子であるAP3あるいはPIが発現する領域では花弁が、Bクラス遺伝子とCクラス遺伝子であるAGが発現する領域では雄しべが、Cクラス遺伝子のみが発現する領域では心皮が発達する。文献４のp299より複写。

ABC遺伝子の発現を制御するしくみについても多くのことが明らかになってきている(図3B)。*LFY*がまずつぼみの原基で一様に発現する。これによって*AP1*の発現が誘導される。さらにつぼみの発生が進むと*WUSCHEL*（*WUS*）が最内輪で発現するようになり、*LFY*と*WUS*の働きにより*AG*の発現が誘導される。また*LFY*と*UFO*の働きにより*PI*と*AP3*の発現が誘導される。Aクラスの遺伝子とCクラスの遺伝子は互いに発現を抑制しあう働きがあることが判っている。

雄しべの原基が発達し雄しべが形作られ始める頃、その内部では表皮細胞と胞原細胞との分化が起こる。胞原細胞は側膜細胞と胞子形成細胞に分化し、最終的には内皮細胞、中間層細胞、タペート細胞、花粉母細胞（小胞子；microsporocyte）がつくられる（図６、７）。

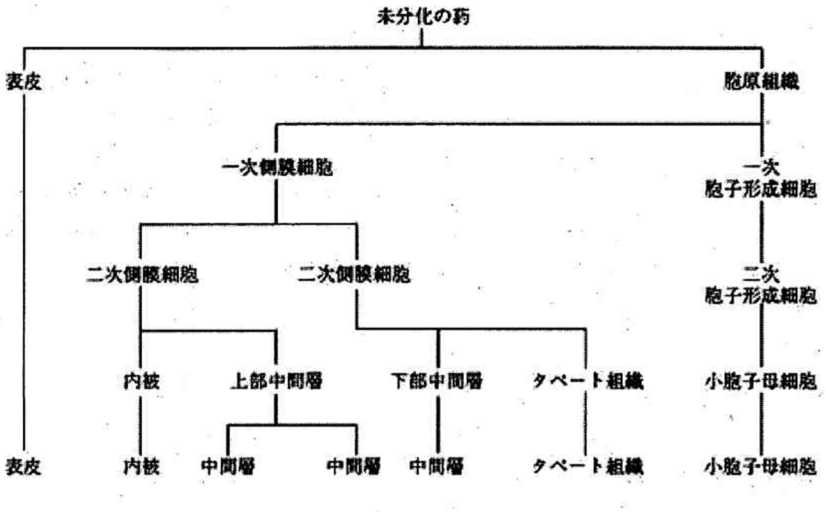

図６．葯の細胞が分化する過程。図はゴマノハグサ科の植物の分化過程を示しているが、シロイヌナズナでもほぼ同様の過程で進むものと考えられる。文献２のp12より複写。

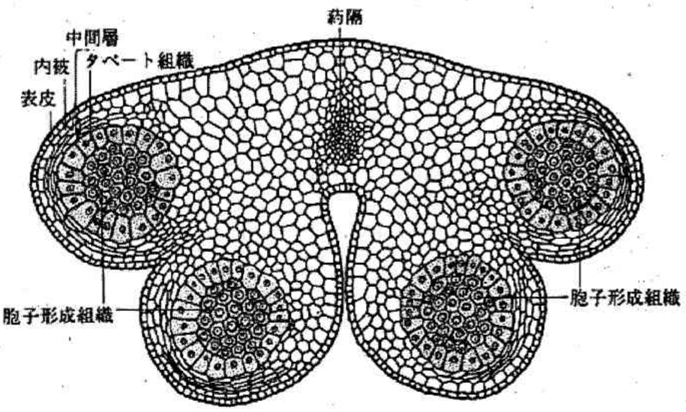

図７．葯の断面図。典型的な四分胞子嚢の模式図である。シロイヌナズナの成熟した葯もこのような構造をとっている。文献２のp10より複写。

花粉母細胞が減数分裂を行い、染色体数が半減した雄性配偶体である花粉（pollen）が作られる。花粉小胞子がまず一回目の花粉細胞分裂（pollen mitosis I）によって栄養細胞と雄原細胞となる。雄原細胞はさらに細胞分裂（pollen mitosis II）を行い２つ雄性配偶子であるの精細胞（sperm cell）を形成する。

一方、雌しべ原基が発達して柱頭（stigma）と子房（overy）を形作る頃、子房の内壁が突出し始め、これはやがて胚珠（ovule）となる（図８）。この突出は遠位近位の軸に沿って遠位側から珠心（nucellus）、珠皮（integument）、珠柄（funicle）と分化し、珠心の細胞が卵母細胞（大胞子；megasporocyte）に分化する。卵母細胞が減数分裂を行うことによって生み出される４つの細胞のうちの一つが雌性配偶体である胚嚢母細胞（embryo sac）となる。胚嚢母細胞は３回の核分裂をして、３つの反足細胞、２つの助細胞、２つの極核、１つの卵細胞（egg cell）からなる７細胞性の胚嚢（図９）となり、その卵細胞が雌性配偶子として機能する。シロイヌナズナでは植物体の成長過程が詳細に調べられ、細かなステージに分けられている（Bowman, 1993；Sanders, 1999；Robinson-Beers, 1992）。

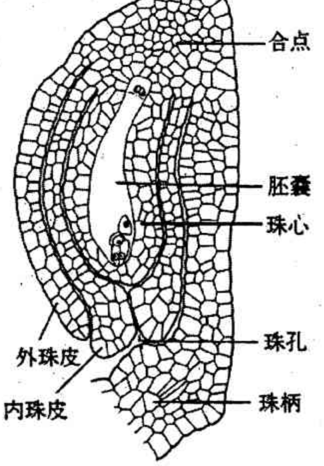

図８．胚珠の縦断面図。文献２のp55より複写。

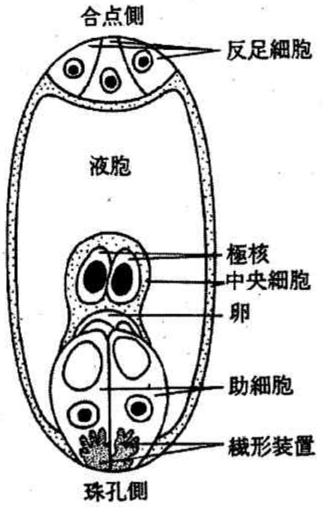

図９．胚嚢の模式図。文献２のp41より複写。

注；この節の詳しいことは参考文献２，４，５，６，７を参照。

１．４ 細胞分裂制御

体細胞分裂ではその分裂周期を調節している重要な因子としてサイクリン・CDK（サイクリン依存性キナーゼ；Cyclin-Dependent Kinase）複合体が知られている。CDKはこの複合体においては触媒サブユニットであり一般に細胞周期を通じて存在し、その活性はサイクリン他、様々な因子によって調節されている。サイクリンは調節サブユニットで通常、細胞周期の特定の時期に発現する。細胞周期はG1期、S期、G2期からなる細胞分裂を準備している間期と実際に細胞分裂が起こるM期からなるが、この細胞周期において、サイクリン・CDK複合体が機能するポイントは二か所あり、この複合体からの指示に従って染色体の複製あるいは細胞分裂を開始する。このしくみについては酵母での研究が進んでおり、酵母のサイクリン・CDK複合体による細胞周期の制御のモデルを示すと次のようになる。前回の細胞分裂で娘細胞に分配された染色体の複製開始点にはすでにOrc（Origin recognition complex）と呼ばれるタンパク質Orc1～6が結合している。M期の後期にはCdc6とCdt1が結合し、さらに６つのMcmタンパク質（Mcm2～7）が結合し、pre-RC（pre-replicative complex）を形成する。この状態をG1期の後期まで維持する。G1期に発現量が増加するG1タイプのサイクリンに活性化されたCDKがCdc6をリン酸化し、それがシグナルとなってCdc6とCdt1をユビキチン依存性タンパク質分解系が分解する。そうするとCdc7／Dbf4キナーゼ複合体がpre-RCに取り込まれ、これがMcmタンパク質をリン酸化することによってMcmタンパク質の持つヘリカーゼ活性を上昇させ、DNAがほどけるものと考えられている。さらにCdc45を介して、DNAポリメラーゼが呼び込まれて、複製が開始される。その後、Cdc7／Dbf4キナーゼ複合体は複製開始点から離れ、DNA複製が終了するとMcmタンパク質もDNAから離れ、複製開始点はOrc1～6のみが結合したpost-RCの状態になる。

細胞分裂の開始はG2期からM期に発現量の増加するM期サイクリンによって活性化されるCDKによって調節されているが、このCDKの活性化は何段階もの巧妙な仕組みによって制御されている（図10）。前回の分裂後、M期サイクリンは分解されて、単体であったCDKはまずG2期の後半に蓄積し始めたM期サイクリンと結合し、Wee1あるいはMik1によって１４番目のスレオニンと１５番目のチロシンがリン酸化される。次にCAK（CDK activating kinase）によって、１６１番目のチロシンがリン酸化され、さらにCdc25脱リン酸化酵素によって１４番目のスレオニンと１５番目のチロシンが脱リン酸化されて、はじめて活性型のCDKとなる。この状態のCDKが様々な標的タンパク質をリン酸化することでM期が進行する。M期の開始は非常に重要な決定であるので、このように何重もの条件を満たさなければ起こらないように制御されている。

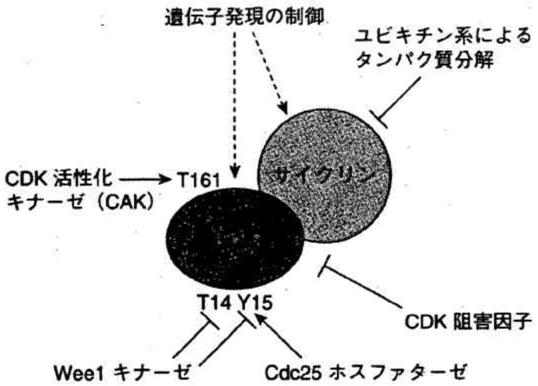

図10. サイクリン依存性キナーゼ（CDK）の活性調節。ヒトのCDKであるCdc2を例にしたCDKの活性調節の概念図。サイクリンとの結合、CAKあるいはWee1によるリン酸化、Cdc25による脱リン酸化によって活性化され、CDK阻害因子や分解によって不活性化される。文献6のp38より複写。

細胞周期を制御するには、それぞれの役割を担ったCDKやサイクリンなどの因子がその役割に応じた時期に順序良く働き、役割を負えると速やかに不活性化されるか除去される必要がある。細胞は脱リン酸化などによってタンパク質を不活性化するしくみの他、細胞周期の特定の時期に働くタンパク質分解機構によってタンパク質を除去するしくみを備えている。G1期からS期への移行期に働くものとM期に働くものがある。前者はSCFと呼ばれるSkp1、Cdc53、F-boxタンパク質複合体が主な働きをする。F-boxタンパク質によって、分解されるべくリン酸化されたタンパク質が認識される。Skp1によってF-boxタンパク質がCdc53に結び付けられ、F-boxタンパク質に結合したタンパク質がCdc53を介してユビキチン化される。ユビキチン化されたタンパク質はプロテアゾームによって分解される。SCFによって分解されるタンパク質にはG1後期に作られるCln1、Cln2があり、S期に進行するには役割を終えたこれらのサイクリンを分解する必要がある。すでにCdc28/Cln1、Cdc28/Cln2はSic1をリン酸化しており、それがシグナルとなってSic1もSCF経由で分解される。Sic1によって不活性化されていたCdc28/Clb5、Cdc28/Clb6が解放され、活性化される。このCDKの働きによってDNA複製が開始される。M期での分解にはサイクロソーム（cyclosome）とも呼ばれるAPC（anaphase promoting complex）タンパク質複合体が働く。この複合体はdestruction boxと呼ばれるアミノ酸配列を持つタンパク質を分解する。APCの標的タンパク質にはG2期からM期への進行を制御するサイクリンClb2、Clb3や後期阻害因子（anaphase inhibitor）であるPds1などがある。これらのタンパク質が分解されることがM期を正常に終了するのに不可欠である。ここで述べたものは酵母で調べられたものであるが、同様の働きをする遺伝子がその他の生物にも確認されており、基本的なしくみは真核生物に保存されているものと考えられている。

CDKは細胞周期のエンジンと呼ばれることもあるが、これを制御するブレーキが用意されている（図11）。チェックポイントと呼ばれるもので体細胞分裂ではDNA損傷チェックポイント、DNA複製チェックポイント、紡錘体形成チェックポイント、形態チェックポイントがある。これらのチェックポイントは細胞分裂の過程に異常がない場合には作動しないが、問題が生じた時、細胞分裂の進行を停止させ、問題を解決するための時間を稼

ぐ。この間にDNAの修復や複製、染色体の赤道面上への整列、細胞の成長が進む。異常が解決できない場合には細胞はアポトーシス（apoptosis）を起こし、崩壊してゆく。

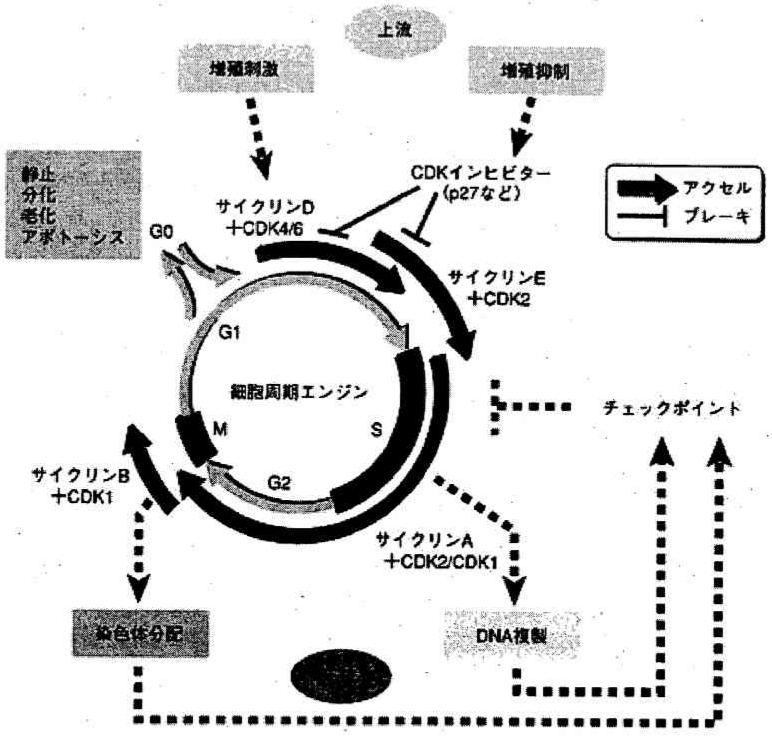

図11. 細胞周期エンジンの制御の概念図。細胞周期は数種類あるCDKによって推進されるが、これらのCDKの活性を上昇させる因子や抑制する因子があり、厳密に制御されている。参考文献９のp521より複写。

高等植物のCDKは１種類の植物にも複数存在し、その類似性からCDKA～Eの５種類に分類されている（Joubes *et al.* 2000)。CDKA類が酵母や動物で見られるCDC2/CDC28に相当すると考えられている。CDKB類は植物に特異的なCDKで植物特有の働きを持っているのかも知れない。このCDKは細胞周期に依存した発現をする。CDKC類はCDK類似因子として知られているが、分裂組織で発現せず、細胞分裂における役割は不明である。CDKD類はCDK活性化キナーゼCAKであると考えられる。CDKEは一つしか知られておらず、細胞周期中低レベルで発現しているが、その働きは不明である。サイクリンは大きく分けるとM期への移行を促進するM期サイクリンと染色体の複製を開始させるG1期サイクリンの２つに大別されるが、植物ではA1～3の種類のAタイプ、B1～2の２種類のBタイプ、D1～3の3種類のDタイプが知られている（Renaudin *et al.* 1996)。AタイプとBタイプがM期サイクリンでDタイプがG１サイクリンと考えられている。Dタイプのサイクリンの発現量は細胞周期を通じてかわらない。

動物ではG1期からS期への移行は、サイクリンDがCDK4あるいはCDK6を活性化し、サイクリンEがCDK2を活性化し、それらの活性化されたCDKがRbタンパク質をリン酸化してE2F転写因子から解離させ、E2FによるS期制御遺伝子の転写活性化が起こり、進行するものと考えられている。植物でもRbタンパク質遺伝子やE2F転写因子遺伝子の存在が確かめられており、同様の制御機構が働いているものと考えられている。

注；この節の詳しいことは参考文献３，６，９，10，11を参照。

１．５ 減数分裂

減数分裂時には一度の染色体の複製に続き２度の細胞質分裂が起こり、１個の胞子から染色体数が半減した４個の細胞が作られる。胞子細胞がN対の相同染色体を持っていたとすると（シロイヌナズナの場合は５対、つまり2n=10)、配偶体の細胞は各対の相同染色体の１本づつを有するのでN本の染色体を持つ（シロイヌナズナの配偶体の場合、５本)。体細胞分裂と比較して減数分裂に特徴的なのは減数第一分裂の前期で、この時体細胞分裂では見られない相同染色体の対合が起こる。減数第一分裂の結果作られる２つの細胞にはこの対合した相同染色体のいずれかが分配される。相同染色体は全く同じというわけではないので、この２つの細胞はすでに異なる遺伝情報を受け取ったことになる。

減数分裂の過程では遺伝情報の運び屋である染色体を過不足無く娘細胞に分配しなければならず、厳密な制御が不可欠である。その分子機構の解明は、細胞の構造が簡単で、ゲノムサイズも小さく、実験材料として非常に都合のいい単細胞生物である酵母を用いて主に行われてきた。多細胞生物の中でも構造の簡単な線虫も近年減数分裂の研究に大きく貢献している。マウスなどの哺乳類でも、ヒトへの応用などから重要と考えられ、精力的に研究が進められている。トマトやトウモロコシのような染色体が容易に観察できる植物は細胞生物学的研究が盛んで、減数分裂研究においても長い歴史を持つが、これらの植物では減数分裂変異体が単離されても、その原因遺伝子を同定するのが困難で分子レベルでの研究にはなかなか発展しなかった。

減数分裂に関する研究は様々なアプローチによって進められてきた。古くからあるものとしては顕微鏡を用いて染色体の様子を観察する細胞生物学的なアプローチがある。タンパク質やその他の細胞構成成分を精製し、酵素活性などを解析するといった生化学的なアプローチもある。精製したタンパク質からアミノ酸配列の情報が得られ、また抗体を作成することができる。細胞内に多く蓄積するタンパク質の精製は順調に進むが、蓄積量の低い転写因子などの場合には生化学的に精製し解析するのは難しい。タンパク質のアミノ酸配列から設計されたプローブはサザンハイブリダイゼーション法に、抗体はイムノスクリーニング法に利用される。このような方法を用いるのが分子生物学的アプローチである。生化学的データを必要としない分子生物学的なアプローチもある。Differential screeningなどの方法である。この方法によって組織特異的な発現をする遺伝子をクローニングすることができる。この場合でも発現量が非常に低い遺伝子をクローニングし、解析するのは困難である。突然変異体を単離し、その原因遺伝子を解明するといった分子遺伝学的アプローチを用いた場合にはターゲットとなる遺伝子がたとえ発現量がどんなに低くても、その遺伝子の機能が不可欠であれば、その遺伝子が欠損した場合には表現型として現れ、変異体を判別し、単離することができる。非常に鋭敏な手法と言える。しかし機能的に重複した遺伝子が存在する場合には一つの遺伝子を破壊しても表現型として現れず、変異体を

選抜することができない場合もある。このような場合には変異体同士を交配し、二重、三重の変異体を作成する必要がある。また一つの遺伝子が様々な発生段階で機能している場合には特定の段階での機能を調べることが困難となる。例えば減数分裂に必要な遺伝子が、発生初期の成長段階でも必須の遺伝子であった場合、この遺伝子に変異が起きた変異体が作られたとしても減数分裂に至る前にその変異体は死んでしまい、減数分裂時の表現型を調べることはできない。最近ではこのような遺伝子を解析する方法としてRNAiの手法の利用が考えられている。つまり先のような例の場合には減数分裂時だけその遺伝子が発現できないように減数分裂に特異的なプロモーターを用いて２本鎖RNAを作らせるといった方法である。シロイヌナズナではこのような新しい手法を利用できるといった点も非常に魅力的である。

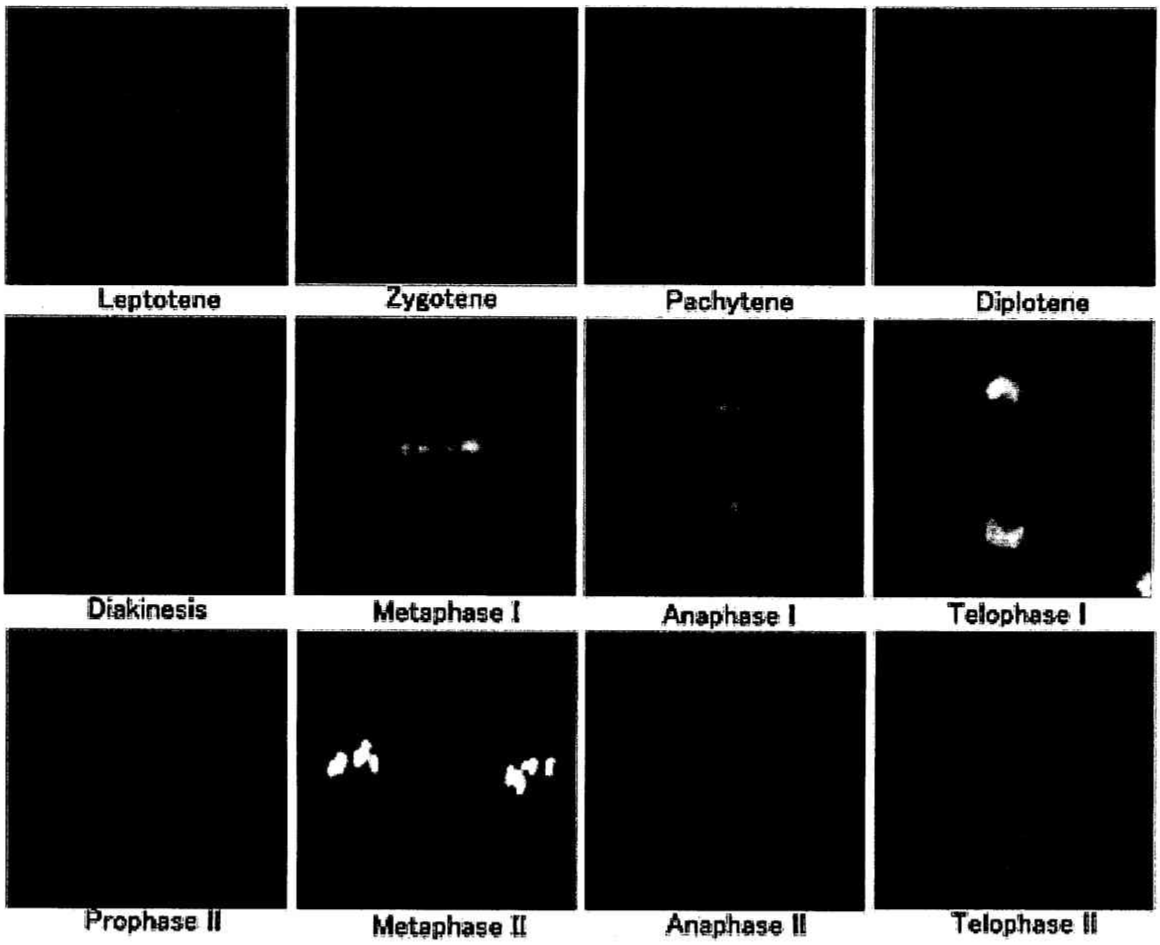

図12. シロイヌナズナの花粉の減数分裂の様子。酵素処理によって細胞壁を消化した後、染色体をスライドガラス上に展開して、染色体をDAPIで染色したもの。減数第一分裂前期（leptotene期、zygotene期、pachytene期、diplotene期、diakinesis期）、減数第一分裂中期（metaphase I）、減数第一分裂後期（anaphase I）、減数第一分裂期終期（telophase I）、減数第二分裂前期（prophase II）、減数第二分裂中期（metaphase II）、減数第二分裂後期（anaphase II）、減数第一分裂終期（telophase II）。

花粉母細胞の減数分裂も卵母細胞の減数分裂も減数分裂前間期(premeiotic interphase ; G１期、S期、G２期からなる）に続く、減数第一分裂と減数第二分裂からなる。次に、より詳しく調べられている花粉の減数分裂の様子について記述する（図13)。細胞分裂様式の体細胞分裂から減数分裂への切り換えは減数分裂前間期以前に決定されており、切り換えが正常に起こらない変異体も単離されている。減数分裂で特に特徴的なのは相同染色体の対合が起こる減数第一分裂の前期である。このステージは染色体が糸状に見え始めるレプトテン期、相同染色体同士の対合が始まるザイゴテン期、シナプトネマ構造が完成するパキテン期、シナプトネマ構造が崩壊し染色体が凝縮するディプロテン期、染色体がほぼ凝縮し終わったダイアキネシス期の５つサブステージに分類される。ザイゴテン期には組み換え反応が進行するものと考えられており、パキテン期には相同染色体同士が全長にわたって対合して、ディプロテン期にはキアズマが形成される。その後、減数第一分裂中期にはキアズマによって連結した５組１０本の相同染色体が赤道面に整列する。減数第一分裂後期には染色体が２つの極に分配され、減数第一分裂後期には分配された染色体が極付近に集合し核膜が形成されるが、シロイヌナズナの場合は細胞質分裂は起こらない。赤道面付近にはオルガネラバンドが観察される。減数第二分裂の前期にはオルガネラバンドによって分離された二つの領域内に見られる核内で染色体が一度糸状に分散するが、減数第二分裂の中期にはそれぞれの領域内の赤道面上に染色体が整列する。減数第二分裂の後期にはそれぞれの染色体は染色分体に分離し、それぞれの領域内の２つの極に分配される。合計４つの染色分体のグループを中心にして核が形成され、細胞質分裂が起こり４つの花粉小胞子を含む花粉四分子が形成される。花粉四分子の細胞壁が崩壊し、花粉小胞子が放出されて、雄性配偶体世代が始まる。それぞれの小胞子が発達して花粉となる。卵の減数分裂も基本的に同様にして進行する。但し、同じつぼみの中でも花粉の減数分裂は卵の減数分裂よりも先に進行する。

減数分裂時には体細胞分裂時とは異なり相同染色体が対合する。そして相同染色体間で組換えが起こり、キアズマが形成される。体細胞分裂時の相同組換えは複製された姉妹染色体間で起こるのに対し、減数分裂時には相同染色体対上の非姉妹染色体間で優先的に組換え反応が起こるように制御されている。この組換え反応の分子機構も酵母を用いた実験系から次々と新しい知見が得られている。組換え反応はSPO11による二本鎖切断に始まり、Rad50、Mre11、Xrs2らによる切断部位から３'→５'方向への切除が起こって、一本鎖部分が露出される。これがホモロジーサーチ機能に必須であると考えられている。Rad51、Dmc1の働きにより鎖の交換が起こる。組み換え部位にはキアズマが形成される。通常一組の相同染色体間では１つから数個のキアズマが形成されるように制御されており、キアズマは非常に隣接した部位では作られないしくみになっている（cross-over interference)。

複製された姉妹染色体はコヒーシンと呼ばれるタンパク質複合体によって互いに接着しており、減数分裂に特異的なコヒーシンサブユニットとしてRec8が知られている。減数

第一分裂前期に相同染色体間で組み換えが起こり、相同染色体乗り換えが起こるには、それまでに染色体の動原体以外の部分ではコヒーシンが除かれて、姉妹染色体が乖離していなければならない。動原体部分のコヒーシンは減数第二分裂中期まで姉妹染色体をつなぎ止めるために保持されているが、減数第二分裂後期が始まる前には分解・除去されるものと考えられている。このコヒーシンの分解にはサイクロソーム（APC; Anaphase Promoting Complex）が働いていることが知られている。サイクロソームは分裂中期（metaphase）から分裂後期（anaphase）への進行に必要な、タンパク質分解装置である。注；この節の詳しいことは参考文献１，４，９、10、11を参照。

１．６ モデル植物シロイヌナズナ

シロイヌナズナが、ゲノムサイズが小さいこと、通常の実験室で容易に栽培できること、一世代の時間が約１ヶ月と短いことなどから植物のモデル生物に採用されて以来、この植物に対して多方面から集中的な研究が進められた。シロイヌナズナの特徴をまとめた専門書も数多く出版されている（Bowman, 1994; Meyerowitz & Somerville, 1994)。胚珠や葯の発生過程を詳しく調べた報告もある(Robinson-Beers *et al.* 1992；Grossniklaus & Schneitz 1998；Sanders *et al.* 1999)。このようにシロイヌナズナの様々な部位や器官の発生過程に関する形態的知見は年々蓄積されている。

2000年12月にはゲノムの全塩基配列が決定され（Arabidopsis Genome Initiative, 2000)、また数多くのcDNAクローンが解析されてDNAマイクロアレイが作製されるなど遺伝子発現の網羅的も研究が進められている（Vandepoele *et al.* 2002)。しかしこのような分子生物学的な研究における利点と対照的に、シロイヌナズナのゲノムサイズの小ささは染色体サイズの小ささに反映され、シロイヌナズナが有する１０本（2n=10）の染色体を顕微鏡下で識別するといった細胞生物学的な研究には問題があった。しかしこの問題も多くの研究者の努力により克服されつつある。Rossらは減数分裂期の花粉の染色体を光学顕微鏡下で観察する手法を確立した（1996)。Franszらはシロイヌナズナの染色体に対してFluorescence *in situ* hybridization(FISH)を行うのに成功し、染色体上の特定の部位を同定するのを可能にした（1998)。さらにLysacらは連続したBACクローンからプローブを合成することによって１本の染色体全体を他の染色体から識別することに成功した(2001)。著者たちのグループもシロイヌナズナの花粉の減数分裂期の全てのステージの染色体に対してシグナルの検出可能な方法を開発している（Azumi *et al.* 2001)。このような研究によって減数分裂期の染色体を詳細に観察することが可能になり、減数分裂変異体の表現型の解析精度が格段に上昇した。シロイヌナズナの染色体あるいは減数分裂に関する総説も多数まとめられている（Bhatt *et al.* 2001；Mercier *et al* 2001；Armstrong & Jones 2003；Caryl & Jones 2003；Jones & Armstrong 2003：Koornneef & Fransz 2003；Schwarzacher 2003)。

減数分裂変異体はトマト、トウモロコシなどで数多く単離されているが、シロイヌナズ

ナがモデル植物として採用されて以来、シロイヌナズナから減数分裂変異体が単離されるようになった。初期の変異体は化学的処理による変異体で原因遺伝子の同定には非常に多くの労力と資金が必要とされ、なかなか原因遺伝子の同定に至らなかった。トランスポゾンタギング法と呼ばれる変異体の作製法が開発され、この方法によって作成された変異体の原因遺伝子を同定することは比較的容易である（Dean *et al.* 1991 ; Bancroft *et al.* 1992 ; Aarts *et al.* 1993 ; Sundaresan *et al.* 1995）。この方法により作成された変異体が報告され始め、1997年から減数分裂変異体の単離とその原因遺伝子の同定が組になって報じられる様になった。以来毎年数報の論文が発表されてきたが、2003年には10報以上の論文が発表され、大きな前進が見られた年であった。

シロイヌナズナではゲノムの全塩基配列が解っているので、テロメアやセントロメアに対する分子プローブを作製することが可能で、FISH法により染色体各部分が可視化され、減数分裂期の挙動が追跡調査されている（Armstrong *et al.* 2001; Haupt *et al.* 2001）。その結果、減数分裂前間期に他の生物ではテロメアが核膜の一部に集合するのに対して、シロイヌナズナでは核小体の周辺に集合することなどが明らかにされている。このような分子生物学的な手法を取り込んだ細胞生物学的手法の発達により、染色体の挙動が詳しく調べられるようになり、その挙動を制御するしくみに注目が集められている。そのしくみを明らかにする目的で減数分裂の変異体が単離され、解析が進められている。本論文においては減数分裂とその誘導過程に焦点を絞り、この過程に関係する変異体の解析によって得られた新たな知見についてまとめる。

これまでの概説に関する日本語の参考文献。英文の参考文献に関しては本論文の末尾に記載した。

1. 減数分裂と遺伝子組変え　堀田康雄　東京大学出版会　1988年
2. 植物の発生学　植物バイオの基礎　足立泰二、丸橋　亘訳　講談社　1995年
3. 細胞周期の新しい展開　チェックポイント制御と癌　野島　博編集　羊土社　1998年
4. 蛋白質核酸酵素３月号増刊 Vol.43 No.4　生殖細胞の発生と性分化　共立出版　1998年
5. 細胞工学別冊植物細胞工学シリーズ　新版植物の形を決める分子機構　－形態形成を支配する遺伝子のはたらきに迫る－　岡田清孝ら監修　秀潤社　2000年
6. 細胞工学別冊植物細胞工学シリーズ　植物細胞の分裂　－分裂装置とその制御機構－　町田泰則、福田裕穂監修　秀潤社　2000年
7. 花　性と生殖の分子生物学　日向康吉編著　学会出版センター　2001年
8. 蛋白質核酸酵素９月号増刊Vol.47 No.12　植物の形づくり　遺伝子から見た分子メカニズム　岡田清孝ら編集　共立出版　2002年
9. 実験医学 Vol.20 No.4　細胞周期：サイクリンの発見から20年　羊土社　2002年
10. 改訂第２版　分子生物学イラストレイテッド　田村隆明、山本　雅編集　羊土社　2003年
11. 実験医学増刊 Vol.21 No.5　細胞周期研究の新局面　野島　博編集　羊土社　2003年

2．シロイヌナズナの生殖過程に関わる遺伝子

シロイヌナズナの生殖過程に関わる遺伝子としては、酵母の生殖関係遺伝子との相同性から単離された遺伝子やディファレンシャルスクリーニング法によって生殖に特異性が見つかっている遺伝子なども報告されている。ここではEMS変異、トランスポゾン挿入変異、アンチセンスRNAによるコサプレッション、RNAi等の方法により遺伝子の機能が阻害された変異体で、実際に表現型に影響が出るといった機能的解析が行われているものについて取り上げた。

2．1 胞子形成変異体

*AtMSI*遺伝子（Hennig *et al.* 2003）はWD40繰り返し配列を持つ、chromatin assembly complex 1（CAF-1）のサブユニットと考えられるタンパク質をコードする。WD40 repeat タンパク質は酵母の*MSI1*（*multicopy suppressor of ira1*）タンパク質やretino blastoma-associated protein RbAp46/48などに見られる。*AtMSI*遺伝子はほぼ全ての器官で発現するが、この遺伝子の発現を抑えると茎頂分裂組織は花序分裂組織として花芽を分化することができず、腋芽から発生した花は齢が進むにつれ、徐々に花の形態を失っていく。そのような花では胚珠が発達せず、雌性配偶体である胚のうが形成されないため、雌性不稔となる。また葉で花の器官決定遺伝子である*AG*と*AP2*が発現するようになる。*AtMSI*遺伝子は染色体の構造決定に役割を演じるだけではなく、様々な器官でAP2やAGなどの遺伝子発現を正しく調節することによって花の器官形成や雌性配偶体の発達に影響するものと考えられる。

STERILE APETALA（*SAP*）遺伝子（Byzova *et al.* 1999）は新奇な転写因子をコードするものと考えられる。*SAP*遺伝子は花序分裂組織、花芽分裂組織で発現した後、第２、第３、第４whorlで発現し、一度減少した後、今度は胚珠で発現するようになる。*SAP*遺伝子の変異体ではがくが心皮化し、花弁は細小化あるいは数が減少する。雄しべは数が減ったり、構造も異常で葯の中で花粉は作られない。雌しべは外見的には正常で胚珠も形成される。その胚珠では珠柄、珠皮、珠心が分化し、卵母細胞は減数第一分裂を開始するが、四分子の形成にまで至らず、二分子となり、減数分裂を完了することができない。柱頭に着床した花粉は発芽し、花粉管を花柱を通りながら延ばすが、珠孔には達することができない。

*SAP*遺伝子と*AP2*遺伝子は、これらの二重変異体は個々の変異体よりも多くの表現型で激しさが増すことから、同じプロセスに働くことが示されている。*AG*遺伝子との二重変異体は初期の花では*ag*変異体と同じ表現型を示すことから、*AG*遺伝子が上位にあると予想される。また*sap*変異体では*AG*遺伝子が異所的に発現するようになることから、*SAP*遺伝子は*AG*遺伝子の発現を抑制する働きがあるものと考えられる。*AP2*遺伝子は他の遺伝子と共同作業で*AG*遺伝子の発現を抑制することが知られており、*SAP*遺伝子も*AP2*遺伝子の共同作業で*AG*遺伝子の発現を制御し、花の器官形成に寄与していると考え

られる。*SAP*遺伝子の卵母細胞の減数分裂を制御するしくみについては不明である。

BELL（*BEL1*）遺伝子（Ray *et al.* 1994; Reiser *et al.* 1995）はPlant Homeo Domain（PHD）を持つ転写因子をコードしている。RNAレベルでは葉や根でも発現しており、BEL1は核に局在する。雌しべ内でのこの遺伝子の発現は胚珠の発達開始時期には胚珠全体で、つぎに珠心（nucellus）と珠柄（funiculus）の間で、さらにその後ではそこから発達し始めた２層の珠皮（integument）で見られる。この遺伝子に変異が起こると珠皮の発達が起こらない。これはこの遺伝子が胚珠における近位遠位軸（Proximal-Distal axis）の中心を決定し、この部分からの珠皮の発達を促しているものと考えられる。卵母細胞は減数分裂を開始するが胚のうは形成されない。珠皮の発達が胚のうの発達に大きな影響を与えているものと考えられる。

AINTEGUMENTA（*ANT*）遺伝子（Elliot *et al.* 1996; Klucher *et al.* 1996）はAP２ドメインを共通に有する*AP2*遺伝子族の一員で転写因子をコードする。この遺伝子は様々な組織で複雑な発現をするが胚珠、特に珠皮で強く発現する。この遺伝子の変異は珠皮細胞の正常な発達を阻害し、その結果として卵母細胞の減数分裂が異常を来し、四分子の状態で停止する。雌しべ以外の花の器官でも器官数の減少や形態異常を引き起こす。この遺伝子の場合も変異の直接的な影響は珠皮に対するものであるが、これが卵母細胞の減数分裂に影響を与えている。*AP2*遺伝子との二重変異体ではより表現型が激化するため、*AP2*遺伝子と花の器官形成において同じ役割を果たしているものと考えられる。

*ANT*と*BEL1*の関係も興味深く、二重変異体での解析が行われている（Klucher *et al.* 1996）。*bel1*では外珠皮は分化し始めるがその後異常な形で発達が終わり、内珠皮は全く発達しない。*ant*では外珠皮も内珠皮も分化しない。*bel1*での内珠皮の発達にANTが必要かどうかを調べるために二重変異体が作成された。この二重変異体では内珠皮も発達しないことからANTは珠皮の発達に一般に必要で、BEL1は内珠皮の分化と外珠皮のその後の発達に必要であり、*ANT*は*BEL1*の上位にあると考えられる。しかし*ant*でもBEL1遺伝子は正常に発現していることが示されており、ANTはBEL1の発現を転写レベルで調節しているのではないと考えられる。

SPOROCYTELESS（*SPL*）／*NOZZLE*（*NZZ*）遺伝子（Yang *et al.* 1999; Schiefthaler *et al.* 1999; Balasubramanian *et al.* 2000 ; Balasubramanian et al. 2002）は胞子体形成に必須の遺伝子として単離された。この遺伝子の変異体では胞原細胞の分化に異常があると考えられ、花粉母細胞や卵母細胞は形成されない。卵母細胞を取り巻く珠皮細胞は正常に分化するのに対して、花粉母細胞を取り巻くタペート細胞の分化には異常が生じている。この遺伝子の発現部位はYangらとSchiefthalerらとで異なる結果が報告されており、さらなる解析が必要である。*SPL*／*NZZ*遺伝子はMADSボックス型の転写因子をコードすることが明らかにされており、卵母細胞や花粉母細胞への分化に必要な遺伝子の転写を活性化するのではないかと考えられる。あるいはこの遺伝子は胚珠や葯内での極性を決定する働きがあり、この機能に欠損が起こると花粉母細胞や卵母細胞が

作られなくなるのではないかという考え方もある。*SPL* ／*NZZ*遺伝子は*BEL1*と共に胚珠内の遠位近位軸の極性を決定するのに働き、珠皮が分化し始める合点（chalaza）領域を規定していると考えられている。また背腹軸の極性を決定し、維持するのに必須であることが知られている*INO*（*INNER NO OUTER*）（Villanueva *et al.* 1999）の発現に不可欠であることから、*SPL* ／*NZZ*遺伝子は胚珠内の遠近位軸、背腹軸の決定に関与している可能性が示唆されている。

SQUAMOSA PROMOTER BINDING PROTEIN-LIKE8 (*SPL8*) 遺伝子（Unte *et al.* 2003）はsquamosa promoter binding protein 様であるから命名された遺伝子で、転写因子をコードしていると考えられる。この遺伝子の変異体では雄しべの伸長が悪く花粉を受粉させることができない。さらにこの変異体では花粉母細胞あるいは卵母細胞へと分化する胞原細胞の発達に異常があることがわかっている。雄しべの葯では胞原細胞が分化しないことが多く、その結果この変異体では葯に４つの花粉嚢が形成されない場合が多い。しかし人工授粉によって次世代が得られていることから、また葯切片の観察で花粉ができているのが見られることから、花粉嚢ができた場合には減数分裂を行って花粉をつくることができると考えられる。卵母細胞の方は減数分裂を行えず、その前で停止しているようである。*SPL8*遺伝子は雄しべが発達し始める時期には雄しべ原基全体で発現しているが、花粉嚢が発達するに連れて花粉母細胞で強く発現しているのが確かめられている。しかし成熟した花粉では発現しない。*SPL8* 遺伝子がどのような遺伝子の発現を調節しているのかは非常に興味深い。

EXCESS MICROSPOROCYTES1 (*EMS1*)／*EXTRA SPOROGENOUS CELLS* (*EXS*)遺伝子（Zhao *et al.* 2002; Canales *et al.* 2002）はLRR（leucine-rich repeat）receptor kinaseをコードし、葯内での花粉母細胞やこれを取り巻くタペート細胞、中間層細胞の分化を決定している。レセプターキナーゼをコードしていることから花粉母細胞への分化のシグナルを感知し伝達していると考えられる。Zhaoらによると*EMS1*変異体では本来タペート細胞になるべき細胞が花粉母細胞へと分化し異常に多くの花粉母細胞が作られたと報告されている。減数分裂そのものは正常に進行しているのが観察されている。しかし細胞質分裂は起こらず、花粉四分子は形成されない。Canalesらによると*EXS*遺伝子は種子の発達にも関与し、この変異体では胚を形成する細胞は小さく、分裂が遅れ、小さな胚が形成される。このため*EXS*は多くの局面でシグナル伝達の役割を果たしていると結論付けている。

TAPETUM DETERMINANT1 (*TPD1*) 遺伝子（Yang *et al.* 2003）は幼植物全体、葉、花芽で発現するが、*in situ* hybridization法によって詳しく調べたところ、花序分裂組織、花芽分裂組織、発達し始めたばかりの雌しべ原基でも発現することがわかった。雄しべの分化が進むに連れ、胞原細胞から花粉母細胞となる系列では最初から強く、タペート細胞となる系列では初めは弱く、タペート細胞では強く発現しているのが観察された。*TPD1*遺伝子に変異が起こるとタペート細胞になるべき細胞が花粉母細胞様の細胞となる。

花粉母細胞は形成されているが花粉四分子は観察されないことから、花粉母細胞の減数分裂は正常には進行していないと考えられる。花粉は作られず、そのため雄性不稔となる。花粉母細胞を取り囲む中間層細胞の崩壊も遅れると報告されている。これらの表現型は*EMS1*／*EXS*遺伝子の変異体のものとよく似ている。*EMS1*／*EXS*遺伝子は主にタペート細胞で発現するが発現部位が非常に隣接している。*TPD1*変異体と*EMS1*／*EXS*遺伝子と*TPD1*遺伝子二重変異体は*TPD1*変異体と類似していることも考えあわせると、この２つの遺伝子は協調して働いているのかも知れない。176アミノ酸からなる小さなタンパク質をコードしているが、これが*EMS1*／*EXS*がコードしている*LRR*レセプターキナーゼと共同でタペート細胞の分化を決定している可能性が示唆されている。

２．２ 減数分裂変異体

Arabidopsis skp1-like1-1 (*ASK1*) 遺伝子（Yang *et al.* 1999; Zhao *et al.* 1999; Zhao *et al.* 2001）は酵母やヒトで見つかっている*SKP1*（*Supressor Kinetochore Protein1*）遺伝子のホモローグである。ヒトの*SKP1*遺伝子はcyclin A-CDK2複合体と結合しS期への進行を制御する。酵母の*SKP1*遺伝子もいくつかのサイクリンおよびCDKと相互作用し、キネトコアの成分であることも知られている。酵母での*SKP1*遺伝子の変異体の解析からS期への進入とM期の終了に*SKP1*遺伝子が必要であることが示されている．SKP1タンパク質はSCF複合体と呼ばれる、SKP1、CDC53／cullin、Fボックスタンパク質からなる、分解されるタンパク質のユビキチン化を行う複合体の構成要素である。ユビキチンという標識をつけられたタンパク質はプロテアゾームによって分解される。酵母のSKP1は体細胞分裂時にキネトコアに結合して他のキネトコア成分のユビキチン化を進め、姉妹染色体の分離を実現するというモデルが提案されている。シロイヌナズナの*SKP1*遺伝子の変異体では花粉の減数第一分裂時に相同染色体が正常に分離することができない。SCF複合体が相同染色体を結び付けているタンパク質を分解することによって染色体が分離できると仮定するとこの現象を説明することができる。*SKP1*変異体では栄養成長においても細胞分裂の回数が減少する異常が認められる。また花の器官形成においても花弁や雄しべの数が減少し、小さくなるのが分かっている。*UFO*（*UNUSUAL FLOWER ORGANS*）もこれら第２、第３whorlに影響する遺伝子で、しかもFボックスタンパク質であることが明らかにされている。*ASK1*と*UFO*の二重変異体の研究からこれらの遺伝子は協調して働き、*LFY*と相互作用するものと考えられる。また*ASK1*と*UFO*は第２、第３whorlの器官決定遺伝子*AP3*と*PI*のリプレッサーを分解することによって発現を誘導し、器官の発達を促すのではないかという考えもある。*ASK1*は植物の栄養成長、生殖成長の両方において深く関わっているものと考えられる。

SYN1／*DETERMINATE INFERTILE1* (*DIF1*) 遺伝子（Peirson *et al.* 1997; Bai *et al.* 1999; Cai *et al.* 2003; Bhatt *et al.* 1996; Bhatt *et al.* 1999）は分裂酵母のコヒーシンサブユニット*RAD21*／*REC8*遺伝子と相同性が高い。*RAD21*は体細胞分裂時に*REC8*

は減数分裂時に不可欠な遺伝子で、いずれも染色体の凝縮と姉妹染色分体の接着に機能する。この遺伝子の変異体では減数分裂に異常が見られることからシロイヌナズナの減数分裂に特異的なコヒーシンのサブユニットの遺伝子と考えられる。*SYN1*／*DIF*遺伝子変異体では雄性雌性ともに不稔となる。花粉の減数第一分裂の前期から染色体に異常が見られ、不均一で異常な凝縮をし、二価染色体となれない。野生型では減数第一分裂中期には赤道面付近に５対の相同染色体が観察されるのに対し、この変異体では一価染色体と思われる染色体が赤道面に集合する。減数第一分裂後期には染色体が異常な分離比を示し、染色体の断片化も観察される。SYN1タンパク質に対して作られた抗体を用いて花粉母細胞内での局在性が調べられた。レプトテン期には細胞質に散らばっていたSYN1タンパク質が、ザイゴテン期には染色体上に分布するようになる。初めは染色体上に点在していたものが、パキテン期には染色体上に連続して観察される。ディプロテン期以降は減少し、減数第一分裂中期以降は検出されない。この変異体の解析から染色体の凝縮異常が相同染色体の対合にも影響していると考えられる。

染色体の正常な凝縮にはコンデンシンと呼ばれるタンパク質複合体の働きが必須である。この複合体はSMC (Structual Maintenance of Chromosome) 2とSMC4タンパク質からできている。*AtCAP-E1*／*TITAN3*と*AtCAP-E2*遺伝子 (Siddiqui *et al.* 2003) はコンデンシンのサブユニットをコードする。この二つの遺伝子は分裂組織で強く発現する。これらの遺伝子は重複した機能を持つ遺伝子と考えられ、単独の変異では大きな変異は見られないが両方に変異が起こると、胚発生の時点での致死性のため二重変異体は得られない。ヘテロの正常な遺伝子数が減少した変異体では、減数分裂時の染色体の凝縮にも異常が生じ、個々の染色体を別々に識別することができない。

相同染色体が対合できない変異体は非対合変異体 (asynaptic mutant)、対合を維持できない変異体は対合不全変異体 (desynaptic mutant) と呼ぶことができる。*ASY1*遺伝子 (Ross *et al.* 1997; Caryl *et al.* 2000; Armstrong *et al.* 2002) は非対合変異体で、出芽酵母のシナプトネマ構造の構築に必須の*HOP1*遺伝子と相同性を有し、この遺伝子に変異が生じると雌雄の両性で減数分裂に障害が起こる。相同染色体間にシナプトネマ構造は形成されず、減数第一分裂中期の大部分の染色体は１価染色体として存在する。染色体は均等に分配されず、花粉のサイズも不均一となる。*ASY1*タンパク質に対して準備された抗体を用いた間接免疫蛍光法によって、このタンパク質がレプトテン期から染色体上に点在するのが見え始め、ザイゴテン期にはテロメア以外の染色体の全域に渡って連続して観察された。ディプロテン期の後期には染色体上に検出できなくなる。さらに免疫電顕法により、SYN1タンパク質はシナプトネマ構造そのものではなく、シナプトネマ構造のlateral elementに付着する染色糸に結合していることが明らかにされている。これらのことからSYN1タンパク質はシナプトネマ構造そのものではないかもしれないが、この構造の成立に密接に関与しているものと結論できる。

MEI1／*MCD1* (*MEIOTIC CHROMOSOME DISRUPTION MUTANT1*) 遺伝子 (He

et al. 1996 ; He *et al.* 1998; Mathilde *et al.* 2003; Ross *et al.* 1997）の変異体は単離された当初は異常な数の花粉四分子が作られることから雄性減数分裂に変異があると報告されていた。しかしその後の研究から雌雄の両性の減数分裂で染色体の断片化と染色体間の架橋が見つかった。減数第一分裂中期には５対の二価染色体が観察されるが、後期には染色体が正常に分離できず、架橋している様子が窺える。相同染色体の対合と凝縮の過程は正常に進行しているものと考えられる。減数第二分裂でも染色分体間に架橋ができているのが観察される。これらのことが原因で花粉母細胞では異数四分子が作られることが明らかとなった。原因遺伝子ははじめは８９アミノ酸からなるトリプシンインヒビター様のタンパク質をコードすると考えられたが、その後ゲノムプロジェクトの進行に伴いBRCTドメインを有するタンパク質をコードしていることが判明した。BRCTドメインはBreast Cancer Tumour Suppressor タンパク質に見つけられたドメインで、DNA修復や細胞周期チェックポイントに働くタンパク質に多く見られる。さらにBRCTドメイン以外にもこの遺伝子はDNA複製やDNA損傷応答に働く遺伝子と相同性を有している。*SPO11*との二重変異体でも架橋や断片化も観察されることから、この遺伝子はSPO11によって引き起こされる相同組換え時の二重鎖切断の修復に関与しているわけではないことが示されている。以上のことから、*MEI1*／*MCD1*遺伝子は減数分裂時の二重鎖切断の修復以外の染色体の修復に関与する可能性が高い。

ARABIDOPSIS HOMOLOGUE PAIRING2 (*AHP2*) 遺伝子（Schommer *et al.* 2003）は雌雄の両性で二価染色体を形成するのに必須の遺伝子で、この遺伝子のホモローグ*meu13*$^{+}$は酵母やマウスでも見つかっている。相同染色体が対合する前には相同染色体が並列し相同性検索を行うが、これと同時に非相同部分での対合を起こさせないしくみがあり、この両方の過程に*meu13*$^{+}$は関与していると考えられている。シロイヌナズナ、マウス、酵母では相同染色体の対合に染色体間の組換えが必須であるのに対し、ショウジョウバエ、線虫では対合が起こるのに組換えは必須ではない。シロイヌナズナ、マウス、酵母で保存されている*AHP2*遺伝子はこれらの生物に共通の組換え反応に必要な遺伝子とも考えられるが、現段階ではそこまで限定できず、相同染色体の正確な対合を促進するのに必要なものと考えられる。FISH法により*ahp2*変異体でも染色体がブーケ構造を取るところまでは進行しているが、相同染色体同士のペアリングは起きていないと示されている。第一分裂前期の終わりには染色体が絡まっているように観察され、第一分裂の後期には１０個の染色体が見られないことから、いくつかの染色体は絡み合ったままであると考えられる。これは*ahp2*変異体では不適切な対合が起こってしまっているためと解釈され、AHP2遺伝子は正常な相同染色体の対合に必要であるという考えを支持している。

*SPO11-1*遺伝子は減数分裂期相同組換えを開始するのに必要な二本鎖切断を触媒する酵素をコードしている。*AtSPO11-1*遺伝子（Hartung & Puchta 2000 ; Grelon *et al.* 2001）はシロイヌナズナの*SPO11*の相同遺伝子である。他の生物では*SPO11*遺伝子は１つしか見つかっていないが、シロイヌナズナでは３つの*SPO11*遺伝子が見つかっている。

*AtSPO11-1*遺伝子に変異が起こると相同染色体は減数第一分裂前期に対合できず、キアズマが形成されない。染色体は通常通り凝縮するが減数第一分裂中期には二価染色体としてではなく、一価染色体として観察される。減数第一分裂後期には染色体は無作為に両極に分配されたり、あるいは赤道面付近に残る。花粉の減数分裂の場合、異数四分子(polyad) が形成される。花粉小胞子は正規の染色体セットを有しないため異常な花粉となり１０％程度しか発芽しない。卵の減数分裂も異常で正常な胚のうは極めてまれにしか観察されない。ショウジョウバエや線虫では相同染色体の対合に*AtSPO11*は必要ないが、真菌類同様、植物では相同染色体の対合に*AtSPO11*が必要であることが示された。つまりショウジョウバエや線虫では組換えと対合は独立した現象であるが、真菌類や植物では相同染色体が対合するには組換えが起こる必要がある。

*DMC1*遺伝子は、*SPO11*の働きによって作られた二本鎖切断部位がけずられて作られた3'１本鎖突出末端に*RAD51*などと共に作用し、相同部位の検索に働く。*RAD51*は体細胞分裂にも関与し、姉妹染色分体間の組換えによるDNA修復にも機能するが、*DMC1*は減数分裂に特異的で相同染色体間の組換えのみに関与する。*AtDMC1*遺伝子 (Klimyuk & Jones 1997; Couteau *et al.* 1999) はシロイヌナズナの*DMC1*相同遺伝子で、減数分裂が起こっていると考えられる葯や雌しべで発現する。*AtDMC1*遺伝子のプロモーターはGUS遺伝子などのマーカー遺伝子に連結されて、減数分裂中の細胞であるかどうかの指標として使われている。この遺伝子に異常が生じた場合も減数第一分裂時に相同染色体は二価染色体になれず、後期においては染色体の分配が無秩序となる。減数分裂の結果、花粉では異数四分子が作られ、卵では減数分裂後に発生が停止するようで、正常な胚のうはほとんど観察されない。しかし完全な不稔ではないことから、まれに胚嚢が形成されるものがあると考えられる。

*Rad51*遺伝子は組換えDNA修復と相同染色体間の組換えに関与していると考えられており、類似した遺伝子がいくつか存在する (酵母では*Rad55*、*Rad57*、*Dmc1*、脊椎動物では*Rad51B*、*Rad51C*、*Rad51D*、*Xrcc2*、*Xrcc3*、*Dmc1*)。シロイヌナズナにも相同遺伝子が発見され、*AtXrcc3*と命名された (Bleuyard & White 2004)。この遺伝子の変異体の花粉母細胞ではパキテン期の細胞が観察されることから、相同染色体の対合は起こっているものと考えられる。パキテン期以降、二価染色体として凝縮していくが、染色体の断片化が顕著に起こっていた。その結果、異数四分子が形成される。卵の減数分裂については詳しくは調べられていないが、減数分裂は終了するがその後に発生が停止し、胚嚢は形成されないと報告されている。卵の減数分裂にも異常があった可能性が考えられる。これらのことから*AtXrcc3*は少なくとも花粉の減数分裂には必須であることが解る。マイトマイシンやブレオマイシンといった染色体のクロスリンクや二本鎖切断を引き起こす試薬に対して感受性であることからシロイヌナズナでもDNAの修復にも関与しているものと考えられる。

*Rad50*遺伝子 (Gallego *et al.* 2001) は二本鎖切断修復に関与する遺伝子でテロメアの

構造維持にも不可欠である。*Rad50*は*MRE11*、*XRS2*と共に複合体を形成する。シロイヌナズナでは、この遺伝子（*AtRAD50*）に変異が起こると不稔になる。*AtRAD50*遺伝子は花や分裂組織で特に強く発現しているが、その他の部位でも低レベルながら発現しているのが確認されている。この遺伝子の変異体では減数分裂期の染色体の観察は行われておらず、表現型についてはよくわからない。しかしメチルメタンサルフォネイトといった二本鎖切断を引き起こす試薬に非常に敏感であることから、おそらく植物でも*AtRAD50*は二本鎖切断後の修復に機能しているのではないかと考えられる。

*AtATM*遺伝子（Garcia *et al.* 2003）は酵母やほ乳類で知られている*ATM*（*ataxia telangiectasia mutation*）遺伝子の相同遺伝子である。*ATM*遺伝子はDNAに損傷、特に二本鎖切断が起きた場合に誘導される遺伝子で、タンパク質リン酸化酵素をコードしている。リン酸化のターゲットはDNA修復、細胞周期調節、アポトーシスに関連したタンパク質である。*AtATM*遺伝子に変異が起こると、卵母細胞から胚嚢に発達する割合は１６％程度で、花粉も稔性のあるものの割合は低く、弱稔性になる。花粉の減数分裂時のパキテン期には相同染色体が対合しているのが観察される。しかしその後、減数第一分裂後期には染色体間に架橋が見られ、染色体が断片化しているのが観察された。それが原因で異数四分子が生み出され、異常な花粉が作られる。*AtATM*遺伝子の変異体でも遺伝子組換えの頻度に変化はなく、組換えに必要な遺伝子は発現していると報告されている。この変異体は二本鎖切断を引き起こす処理に対して野生型より敏感で、*AtATM*遺伝子は、二本鎖切断を引き起こす放射線照射を受けた時の修復あるいは応答に関わる遺伝子である*AtRAD1*、*AtPARP1*、*ATGR1*、*AtLIG4*遺伝子を誘導するシグナル伝達に必須であることが示された。*AtATM*遺伝子は減数分裂時にもDNA修復に必要な遺伝子の発現誘導時と同様な働きをしているものと考えられる。

*CDC45*遺伝子はDNA複製の開始に必要で、DNAポリメラーゼをDNA複製の開始点に結合している複合体（origin recognition complex）に引き寄せるのに必須であることが知られている。シロイヌナズナの*CDC45*遺伝子はG1/S期に発現し、RNAi法によってこの遺伝子の減数分裂期の発現を阻止した場合には染色体の断片化が起こることが明らかにされた（Stevens *et al.* 2004)。

SOLO DANCERS (*SDS*)遺伝子（Azumi *et al.* 2002）はサイクリン遺伝子と相同性があり、卵母細胞と花粉母細胞の減数分裂を行う細胞でのみ発現することから減数分裂に特異的なサイクリンの遺伝子と考えられる。この遺伝子に変異が起こると相同染色体の対合がほとんど起こらず、凝縮は正常に起こるが、二価染色体になれない。減数第一分裂中期には１０本の一価染色体が赤道面に整列できずに、第一分裂後期には染色体は不均等に分配される。赤道面付近に残るものもあり、染色体が多極化する。第二分裂ではそれぞれの染色体が染色分体に分離するため、異数四分子が形成され、大小様々な不均一な花粉がつくられ、種子はほとんど作られない。酵母のTwo-Hybridシステムを利用した実験から、シロイヌナズナのサイクリン依存性キナーゼ（CDK）であるCDC2aとCDC2bタンパク質

と相互作用することが確かめられている。このこともSDSタンパク質がサイクリンとして機能していることを支持している。しかしこれらの遺伝子が花粉母細胞あるいは卵母細胞で発現しているかどうかは調べられていない。SDSタンパク質と相互作用するSDS依存性キナーゼの同定が望まれる。この変異体では相同染色体の対合が起こらないこと以外には欠陥が見られないことから、未知のSDS依存性キナーゼは相同染色体の対合に必要な過程を調節していると考えられる。

MALE STERILITY5 (*MS5*)／*POLLENLESS3*／*THIRD DIVISION MUTANT1* (*TDM1*)遺伝子 (Glover *et al.* 1998; Sanders *et al.* 1999; Ross *et al.* 1997) はタンパク質-タンパク質間の相互作用に関与するタンパク質をコードする。このタンパク質には核局在化シグナルが存在する。この遺伝子は花粉の減数分裂の終盤に発現することが確かめられている。この遺伝子に変異が起こると減数第二分裂後、第三の分裂が誘導され、異数四分子が形成される。この遺伝子は*CDC23*という細胞周期の調節をしている遺伝子と相同性があることから、減数第二分裂の細胞周期を制御するものと考えられる。

SWITCH1 (*SWI1*)／*DYAD*遺伝子 (Motamayor *et al.* 2000; Mercier *et al.* 2001; Mercier *et al.* 2003; Siddiqi *et al.* 2000; Agashe *et al.* 2002) はいずれの既知のタンパク質とも相同性を示さない新奇のタンパク質をコードしている。swi1／dyad変異体では胚珠は形態的に正常に発達するが、胚のうが形成されない。つまり野生型では卵母細胞が減数分裂を行った後、減数分裂産物の４つの細胞のうち一つの細胞が細胞分裂をして、７細胞性の胚のうを形成する。しかし、この変異体では胚のうができるはずのところに２つの細胞が観察された。初めはこれは卵母細胞の減数分裂後、胚のうを形成し始める前にもう一度細胞分裂が起きているためであると考えられていた。しかしその後の研究から減数分裂の途中で止まってしまい、２細胞からなる減数分裂産物ができたためであることがわかった。この原因は第一分裂時に相同染色体が二価染色体となれず、一価のまま赤道面に整列する。それで卵母細胞では減数第一分裂で進行が止まり二細胞の状態で観察される。相同染色体が二価染色体となれない変異体は他にも知られているが、それらとこの変異体との違いは、他の変異体では一価染色体が赤道面に並ぶことができないのに対し、swi1／dyad変異体では一価染色体が赤道面上に並ぶことである。この変異体では姉妹染色分体が接合せず、axial elementが形成されない。またASY1は染色糸上に観察されたが、その分布は野生型で見られたもののように連続的ではなかった。SYN／DIFも染色糸上に観察されたが、やはり正常に分布していなかった。さらにこの変異体では染色体上にRAD51は検出されず、染色体の断片化が見られなかった。これらのことからSWI1／DYAD遺伝子は姉妹染色分体の接着、シナプトネマ構造の構築、相同組換えに重要な働きをしていると考えられる。

*DUET*遺伝子 (Reddy *et al.* 2003) はPHD-finger ドメインを持つタンパク質をコードし、この遺伝子に変異が生じると花粉母細胞の減数分裂が遅れ、途中で停止して四分子のかわりに２つの細胞が形成されるものが多く現れる。これらの２つの細胞には２つない

しは３つの核が観察され、これらの細胞はこの後、崩壊する。染色体はパキテン期まではほぼ正常に機能しているがディプロテン期からダイアキネシス期にかけて染色体は凝縮するが、野生型と比べ拡散していて染色体が個別に区別することができない細胞もある。染色体が正常に凝縮できないために細胞周期の進行が抑制されている可能性が考えられる。減数分裂の結果として２つの細胞が作られるという点において*duet*変異体は*dyad／swi1*変異体とよく似ている。*dyad／swi1*変異体では卵と花粉の両方の減数分裂において染色体の凝縮異常を引き起し、特に卵の減数分裂の進行に必須であるのに対して、*duet*変異体では卵の減数分裂には異常は認められない。*duet／＋*植物では花粉形成に大きな影響は見られないのに対し、*dyad／dyad*、*duet／＋*植物では花粉形成が阻害されることから、この二つの遺伝子は協調して働いていることが考えられる。

ARABIDOPSIS THALIANA KINESIN1 (*ATK1*) 遺伝子（Chen *et al.* 2002）は紡錘体の形成に重要な働きをするカイネシンをコードしており、花粉母細胞の他、雌しべや花弁の原基でも発現する。*ATK1*遺伝子に変異が導入されると花の形状に異常は起こらないが、花粉に異常が生じ、雄性不稔となる。花粉の減数分裂は第一分裂の前期が終わるまでは野生型とほとんど変わらない。パキテン期には相同染色体は対合し、そのまま凝縮して５対の二価染色体として赤道面に移動する。しかしこの変異体では第一分裂の中期に赤道面に集まらないものも出てくる。DAPIで染色された染色体を見ても、集まった染色体が引っ張られる方向が平行ではないのがわかる。チューブリンに対する抗体を用いて紡錘体を可視化してみると、減数第一分裂中期に見られる変異体の紡錘体は野生型のように両極で収束せずに拡散した形態をとる。第一分裂終期には染色体は２局以上に別れて集合して第一分裂を終わる。第二分裂ではそれぞれの局の染色体が染色分体に別れるため、その結果として異数四分子が形成される。これから生じる花粉の大きさは不均一で、種は野生型の１０％程度しか作られない。シロイヌナズナには少なくとも、４つのカイネシン遺伝子（*ATK1-ATK4*）が存在するが、*ATK1*遺伝子は花粉母細胞の減数分裂時の紡錘体の形態と染色体の分配に特に重要な働きをしているものと考えられる。

MALE MEIOCYTE DEATH1 (*MMD1*) 遺伝子（Yang *et al.* 2003）はPHD-Fingerドメインを含む転写因子をコードしている。*MMD1*遺伝子は花芽以外ではほとんど発現せず、花芽でも特に花粉母細胞で強く発現していた。この遺伝子に変異が起こると正常な花粉は作られず、雄しべの花糸も短く雄性不稔となる。花粉の減数第一分裂前期のディプロテン期までは正常で相同染色体が対合しているパキテン期の細胞が観察されるが、ダイアキネシス期以降に染色体に異常が見られるようになる。野生型では中期には５組の相同染色体が見られるのに対し、この変異体では１つから６つの染色体グループが形成され、染色体間に架橋が見られる。第一分裂中期には染色体は赤道面に整列するが、後期には染色体の架橋のため、分配に異常が見られる。ダイアキネシス期以降、花粉母細胞は萎縮し、染色体は断片化して細胞死（アポトーシス）が進行する。この変異体では異数四分子は見られず、ほとんどの細胞が第一分裂の後期辺りで細胞分裂を停止し、カロースに囲まれた

一つの細胞死を起こした細胞が観察される*MMD1*遺伝子は花粉の減数分裂に必要な遺伝子の発現を調節し、*MMD1*遺伝子に変異が生じると細胞分裂が進まず、細胞死が誘導されるのかも知れない。また*MMD1*遺伝子はアポトーシスを抑制する働きがあるのかも知れない。今後の解析が待たれる。

TETRASPORE (*TES*)／*STUD* (*STD*) 遺伝子 (Spielman *et al.* 1997; Yang *et al.* 2003; Hulskamp *et al.* 1997) はカイネシンが持つモータードメインと相同性がある。カイネシンは微小管を脱重合させることによって微小管と連結した小胞、細胞小器官、染色体などを移動させる。*TES*／*STD*遺伝子は一般に分裂組織でよく発現し、発達過程にある花粉で強く発現するが成熟した花粉では発現しない。この遺伝子に変異が生じても減数第一、第二分裂でも正常に紡錘体は形成されるが、最後の花粉四分子期に核間で形成される微小管が形成されず、細胞質分裂が正常に起こらず、花粉小胞子の分離が起こらない。TES／STD遺伝子は花粉四分子が細胞質分離をする際に必要なカイネシンをコードしているものと考えられる。

QUARTET3 (*QRT3*) 遺伝子 (Rhee *et al.* 1998 ; Rhee *et al.* 2003) はポリガラクツロナーゼ様のタンパク質をコードしている。この遺伝子は花粉が四分子期にタペート細胞で発現するが、そのタンパク質は分泌されて花粉四分子に働き、花粉小胞子を分離させると考えられる。この遺伝子に変異が起こると小胞子が分離できない。胚珠でも発現が確認されているが、そこでの働きは不明である.

2.3 配偶子形成変異体

ABORTED MICROSPORES (*AMS*)遺伝子 (Sorensen *et al.* 2003) はMYCクラスの転写因子をコードしており、プロモーター解析から花粉細胞とタペート細胞で発現しているのが確認されている。*AMS*遺伝子の変異体でも花粉四分子は正常に作られるため減数分裂には異常はないものと考えられる。カロースが分解されて花粉四分子が放出された後、この花粉小胞子は縮退し始める。そのころタペート細胞では液胞が異常に発達し、タペート細胞が巨大化する。最後には花粉細胞はタペート細胞に圧迫されて崩壊する。この遺伝子は花粉母細胞とタペート細胞で発現することから、これらの細胞が正常なプログラムに従って発達するのに必要な遺伝子の発現調節をしているものと考えられる。

MALE STERILITY1(*MS1*)遺伝子 (Wilson *et al.* 2001) は植物に特有なPHD-fingerドメインを有し、転写因子の一種と考えられる。この遺伝子に変異が起こると花粉四分子が放出された後、タペート細胞と花粉細胞は崩壊して、雄性配偶子は発達しない。*MS1*遺伝子はタペート層の細胞で発現することが確られている。*MS1*遺伝子がコードする転写因子はタペート細胞が雄性配偶子、つまり花粉の発達を促進するのに必要な遺伝子の発現を誘導するのではないかと考えられる。

MALE STERILITY2 (*MS2*) 遺伝子 (Aarts *et al.* 1997) はjojobaという名の植物で見つかったfatty acyl reductase (JJFAR) と相同性がある。この酵素は種子のワックス

のエステル形成に関与している。*MS2*は花粉細胞壁外層のexineの成分であるsporopolleninの合成に関与している可能性が考えられる。*MS2*遺伝子の変異体では花粉母細胞が減数分裂を終了するころまでは花粉母細胞もタペート細胞も正常であるが、四分子が作られる辺りから、タペート細胞に液胞が野生型より発達する。花粉四分子から放出された小胞子は野生型の様に球形でなく形状がいびつで、花粉細胞に特有のexineを含む細胞壁の発達が見られない。タペート細胞は肥大化し、やがて花粉小胞子とともに最終的には崩壊し、受粉は起こらない。しかし齢の進んだ植物の後発の花では種をつける。そのためホモの個体を維持することができる。この遺伝子はタペート細胞でのみ発現が確認されている。この遺伝子の場合もタペート細胞で発現する遺伝子が花粉小胞子の細胞壁の発達に決定的な影響を及ぼしている点が興味深い。ここでのタペート細胞と花粉小胞子との間のやりとりがただ単に花粉細胞壁の合成に必要な原料あるいは酵素を提供しているだけか、さらに花粉小胞子内での代謝あるいは遺伝子発現にまで影響を及ぼしているのかはまだ不明である。

FACELESS POLLEN-1（*FLP1*）遺伝子（Ariizumi *et al.* 2003）の変異体は湿度が低いと雄性不稔となる。この変異体の花粉の表面は滑らかで、花粉細胞壁の外層であるexine層に変化が生じているものと考えられた。電子顕微鏡によって細胞壁の構造を調べたところ、tryphineが表面を過剰に覆っているのが観察された。tryphineの油滴の大きさが小さいことからtryphineの成分が変化していると考えられた。tryphineの主な成分はsporopolleninである。*FLP1*遺伝子はワックス生合成に関わる遺伝子と相同性があることが判っている。この遺伝子の発現部位は詳しくは調べられていないが、ヘテロな変異体では花粉は正常であることから、タペート細胞でこの遺伝子は機能し、その働きによって作られたsporopolleninの前駆体が花粉母細胞に輸送されて花粉の細胞壁が作られるのではないかと考えられる。

*NOMEGA*遺伝子（Kwee & Sundaresan 2003）はAnaphase Promoting Complex／Cyclosome（APC／C）の構成成分であるAPC6／CDC16サブユニットと相同性を有している。APC／Cは文字どおり細胞分裂の中期から後期へ移行を促進する因子で、CDC16、CDC23、CDC27のコアタンパク質とCDC20、CDH1といった調節タンパク質から構成される。APC／Cはユビキチンリガーゼでdestruction boxと呼ばれる配列を持つタンパク質を特異的にユビキチン化することによって分解へと導く。この標的の中にはsecurinという名の後期阻害因子が含まれる。securinが分解されると姉妹染色体は分離し後期へと細胞終期は進行する。この他にM期サイクリンも標的タンパク質である。この遺伝子に変異が起こると、卵母細胞の減数分裂は正常に進行するが、それによって形成された大胞子が胚のうへと発達することができず、２細胞期に停止していた。*NOMEGA*遺伝子のプロモーターをつないだGUS遺伝子は根端分裂組織、成熟した胚のうと花粉以外のほぼ全ての組織で発現していた。若い胚珠では弱く、発達するにつれて強く発現するようになるが、成熟した胚のうでは発現しない。*NOMEGA*遺伝子は胚のう形成時の細胞分裂を

進行させるのに必要な遺伝子であると考えられるが、卵母細胞や胚のう細胞で発現しているかどうかは不明である。この遺伝子の変異体では胚のうでのcyclin Bの分解が不十分であることが示されている。

3. まとめ

この論文に記載した胞子形成、減数分裂、配偶子形成に関与する遺伝子を整理するために同定された年代順に表にした（表１）。さらに発現時期と発現部位を考慮して花の発生過程に各遺伝子を配置した図を作成した（図13)。

表１. 減数分裂に関わる変異体の原因遺伝子

Year	Gene's name	Homologue	Phenotype	1st Author
1995	BEL1	PHD 型転写因子	珠皮の発達異常	Leonore Reiser
1996	ANT	Apetala2	珠皮の発達異常	Kevin M. Klucher
1996	ANT	Apetala2	珠皮の発達異常	Robert C. Elliot
1997	AtDMC1*[1]	DMC1		Victor I. Klimyuk
1997	MS2	fatty acyl reductase	花粉細胞壁異常	Mark G. M. Aarts
1998	MEI1	BRACT domain	染色体の断片化	Caiping He
1998	MS5/POLLENLESS3	CDC23	減数第三分裂の誘導	Julie Glover
1999	SAP	転写因子	卵の減数分裂停止	Marina V. Byzova
1999	ASK1	SKP1	染色体の分離異常	Ming Yang
1999	ASK1*[2]	SKP1	染色体の分離異常	Dazhong Zhao
1999	AtDMC1	DMC1	相同染色体の不対合	Florence Couteau
1999	DIF1/SYN1	RAD21/REC8	染色体の分配異常	Anuj M. Bhatt
1999	SYN1/DIF1	RAD21/REC8	染色体の分配異常	Xuefang Bai
1999	POLLENLESS3/MS5	CDC23	減数第三分裂の誘導	Paul M. Sanders
1999	SPL/NZZ	MADSbox 型転写因子	胞子不形成	Wei-Cai Yan
1999	NZZ/SPL	MADSbox 型転写因子	胞子不形成	Ursula Schiefthaler
2000	ASY1	Hop1	相同染色体の非対合	Anthony P. Caryl
2000	AtSPO11-1,2*[1]	SPO11		Frank Hartung
2001	ASK1*[3]	SKP1	花弁と雄しべの発育不全	Dazhong Zhao
2001	AtRAD50	RAD50	不稔	Maria E. Gallego
2001	AtSPO11-1	SPO11	相同染色体の非対合	Mathilde Grelon
2001	MS1	PHD 型転写因子	花粉配偶体の崩壊	Zoe A. Wilson

2001	SWI1/DYAD	なし	卵母細胞の減数分裂停止	Raphael Mercier
2002	ASY1*2	HOP1	相同染色体の非対合	Susan J. Armstrong
2002	ATK1	kinesin	紡錘体異常	Chanbin Chen
2002	DYAD/SWI1	なし	卵母細胞の減数分裂停止	Bhavna Agashe
2002	EMS1	LRR receptor kinase	タペート細胞の花粉母細胞化	Dazhong Zhao
2002	EXS	LRR receptor kinase	タペート細胞の花粉母細胞化	Claudia Canales
2002	SDS	cyclin	相同染色体の不対合	Yoshitaka Azumi
2003	AMS	MYC 型転写因子	花粉配偶体異常	Anna-Marie Sorensen
2003	APH2	MEU13	非相同染色体対合	Carla Schommer
2003	AtATM	ATM	染色体の断片化	Valerie Garcia
2003	AtCAP-E1,2	condensin	染色体の凝縮異常	Najeeb U. Siddiqui
2003	AtMSI	WD40	花芽形成不全	Lars Hennig
2003	MEI1	BRACT domain	染色体の断片化	Grelon Mathilde
2003	MMD1	PHD 型転写因子	染色体の分配異常	Xiaohui Yang
2003	SPL8	SPB-box 遺伝子	胞子形成異常	Ulrike S. Unte
2003	SWI1/DYAD*2	なし	卵母細胞の減数分裂停止	Raphael Mercier
2003	SYN1/DIF1*2	RAD21/REC8	染色体の分配異常	Xue Cai
2003	TES	kinesin	細胞質不分離	C-Y. Yang
2003	QRT3	polygalacturonase	細胞質不分離	Seung Y. Rhee
2003	DUET	PHD 型転写因子	染色体の凝縮異常	Thamalampudi Venkata Reddy
2003	TPD1	なし	タペート細胞の花粉母細胞化	Shu-Lan Yang
2003	FLP1	GL1（脂質輸送蛋白質）	花粉細胞壁異常	Ariizumi Tohru
2004	AtXrcc	Xrcc	染色体の断片化	Jean-Yves Bleuyard
2004	AtCDC45	CDC45	染色体の断片化	Rebecca Stevens

＊１；遺伝子クローニングの報告、＊２；２報目の報告、＊３；３報目の報告。

ここで取り上げた変異体の多くはトランスポゾンタギング法によって作成されたものである。もともとトウモロコシで発見されたAc/Dsトランスポゾンをシロイヌナズナで遺伝子破壊に利用できるように改変して用いるこの方法は、遺伝子にトランスポゾンを導入して破壊し、その機能欠損表現型からの機能の推測と、その破壊された遺伝子のトランスポゾンをタグとして利用するクローニングと分子生物学的解析を可能にした。しかしこの方法による変異体の作出は時間と労力が必要で簡単には十分な変異体のコレクションを準備することはできない。いくつかのグループによってタギングラインのコレクションが作成されているが、シロイヌナズナの全ての遺伝子を網羅できるようなものはまだできてお

らず、それぞれのコレクションで興味深い表現型を示すものから解析されている（Dean *et al.* 1991 ; Bancroft *et al.* 1992 ; Aarts *et al.* 1993 ; Sundaresan *et al.* 1995）。減数分裂関係の変異体は不稔の表現型示すものとして単離されたものが多い。不稔の変異体のスクリーニングは種のさやの大きさを調べるだけなので、スクリーニングは容易であるが、完全不稔の場合はホモの個体を維持することができないので、ヘテロの状態で維持しなければならない。タギング法による不稔の変異体の作出と維持は容易ではないが、ここで紹介したように重要な知見が次々と得られている。

変異体の作出と同様に重要なのは変異体の解析法の開発である。シロイヌナズナは個体も花器官も小さく、減数分裂を行っている時期の蕾はその大きさは0.3mm〜0.5mm程度である。そのような蕾を切開して、雄しべや雌しべの構造を観察する必要がある。細胞自体は他の植物と比べ特に小さいわけではないが、ゲノムの大きさに比例して染色体は非常に小さい。５対の染色体を染色パターンによって識別することはできない。各染色体に特異的なDNAプローブを用いればFISH法によって区別し、個別に染色体の挙動を追跡調査することも可能である。ゲノムプロジェクトが終了しているシロイヌナズナでは染色体上のどの部分でも配列情報を得ることができるので、任意の染色体部分の調査が可能である。またチューブリンに対する抗体を用いて紡錘体の様子を観察することも可能である。染色体や紡錘体を可視化することは現在でも可能であるが、いずれも固定された死んだ細胞を観察したものである。現時点では減数分裂あるいはこれに至る胞子形成の過程を細胞が生きたまま経時的に追跡することにはだれも成功していない。今後、減数分裂を誘導できる培養細胞系統の確立や、植物体内の発生過程の生きた細胞で染色体などを観察する技術の開発が大きな課題であろう。

タギング法の開発と細胞生物学的な観察法の進歩が相まって、減数分裂研究の大きな前進に結びついた。その一つの重要な成果として細胞の分化は細胞同士の相互作用なしには成り立たないと言う事実の再確認であろう。これはだれもが予想することであるが、花粉母細胞や卵母細胞の分化・発達にもこれらを取り巻く細胞との相互作用が必須であることが明らかとなった。*ANT*と*BEL1*遺伝子はともにこれらの遺伝子に変異が導入されると、その変異体は珠皮を発達させることができなくなり、卵は減数分裂を終えた時点で細胞分裂を停止する。これらの遺伝子は卵母細胞では発現が認められないので、珠皮の発達不全が卵の減数分裂に影響を及ぼしたものと考えられる。卵母細胞は珠心の中に埋め込まれているのに、どのようにして珠皮の発達が卵に影響するのかは不明である。

*SAP*遺伝子変異体ではがくが心皮化するといった器官決定にも異常が生じるが、卵の減数分裂が途中で停止し、胚嚢が発達しない。胚珠の珠心、珠皮、珠柄の分化は正常に進行しているのが観察されている。*SAP*遺伝子は珠皮の原基が現れる前は珠心でも発現しているが、珠皮が発達し始める頃には珠皮で強く発現するようになる。卵母細胞で発現するわけではないので、珠皮で*SAP*遺伝子が発現しその影響が卵母細胞に達し、減数分裂を促進するものと考えられる。珠皮に形態的に異常がないため、*SAP*遺伝子産物は転写

因子で、卵の減数分裂の促進のみに働くなんらかの遺伝子の発現調節を珠皮で行っている可能性が考えられる。

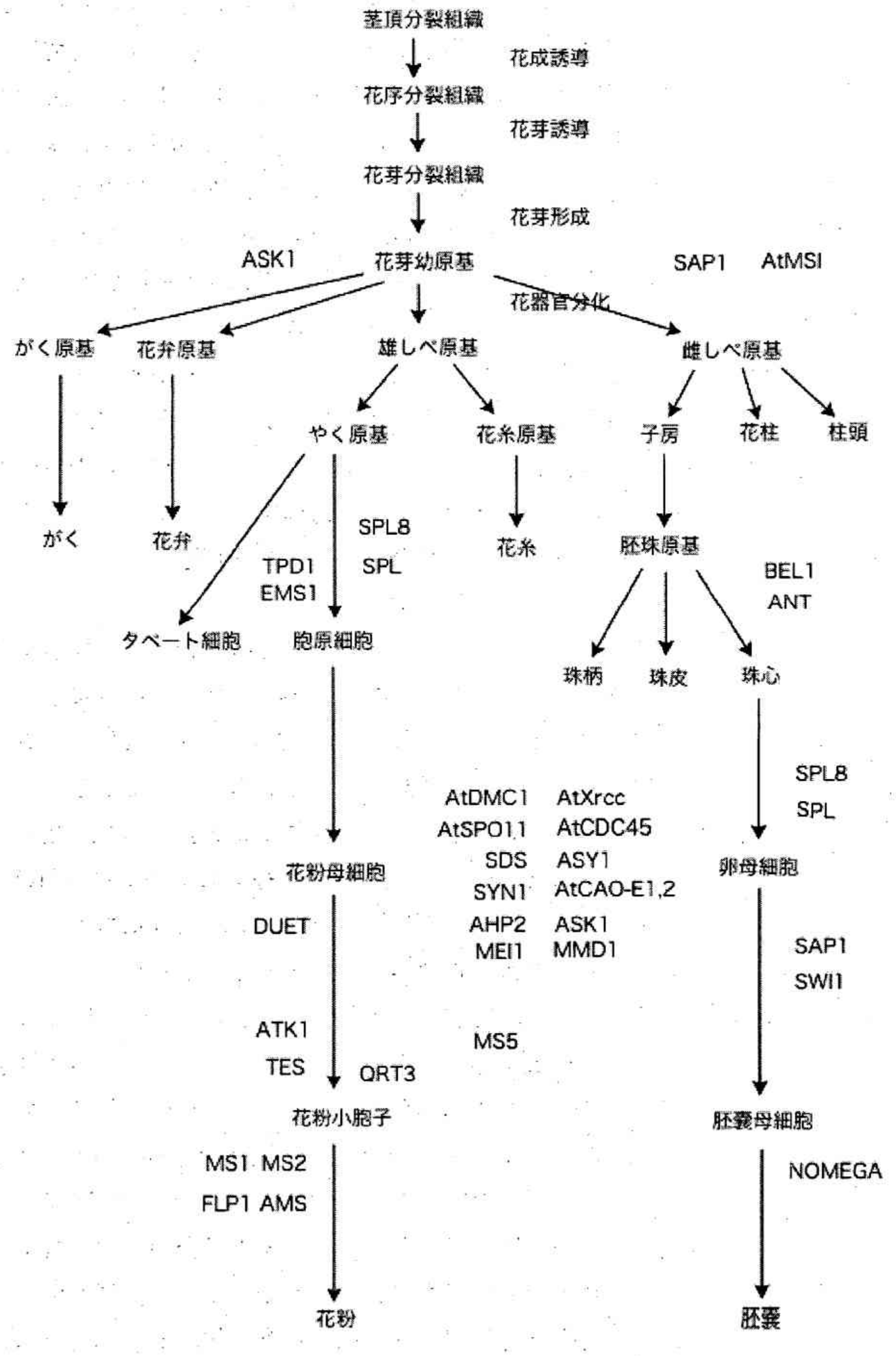

図13. 雄しべ、雌しべの分化から配偶体形成に至るまでのまでの過程に関わるに遺伝子。発現時期と発現部位によって分類し、配置した。生殖以外の過程でも発現する遺伝子やある程度の期間発現する遺伝子もあると考えられるが、この図は生殖過程に関してのみ、そして重要な働きをするポイントのみを考慮して作製した。ここに記載されている遺伝子は変異体の作出等によって機能解析が行われているものに限定した。

EXS／*EMS1*遺伝子と*TPD1*遺伝子の関係も興味深い。これらの遺伝子の変異体ではタペート細胞が花粉母細胞に分化することから、タペート細胞の正常な発達に必要と考えられるが*EXS*／*EMS1*は花粉母細胞で発現し、*TPD1*はタペート細胞で発現する。この２つの遺伝子はタペート細胞の発達に花粉母細胞側からとタペート細胞側からとで協力しているというモデルを考えることが可能である。ここで注目したいのはタペート細胞も花粉母細胞に分化する潜在能力を十分持っており、その能力が*EXS*／*EMS1*-*TPD1*系によって抑えられているが、これらの遺伝子に変異が起こるとタペート細胞も花粉母細胞へと分化する。細胞の運命は発達過程において徐々に決定されていくものと考えられるが、タペート細胞へ分化するか花粉母細胞へ分化するかは発達の最終段階に近い段階で決定されており、この２種類の細胞は多くのものを共有していると考えられ、またその反面これらの細胞での違いが花粉母細胞への分化を決定しており、興味深い。この違いが明らかになれば花粉母細胞への分化の最終段階で必要とされるものが何であるかが明らかにされる。タペート細胞が花粉母細胞へと分化する潜在能力には、何らかの原因で花粉母細胞の発達が阻害された時にそれを補完する働きがあるのかという憶測を誘導するものであるが、実際に発達中の花粉の胞原細胞をレーザーで焼き殺した場合に、タペート細胞がかわりに花粉母細胞へと分化するのかといった実験も可能であれば望まれる。

これまでの研究で明らかになったもう一つの重要な成果は減数分裂の中でも染色体に関係する機構で種を超えた普遍性があるものと種の特殊性があるものが明確にされたことであろう。減数分裂に必要な*AtSPO11*、*AtDMC1*、*AtRAD51*、*AtXrcc3*、*AtCDC45*などの、他の生物で同定されている遺伝子がシロイヌナズナでも単離されたことから、減数分裂期のDNA修復、相同組換えのしくみに関しては関与する遺伝子の多くが種を超えて保存されているのがわかる。コンデンシン（*AtCAP-E1.2*）やコヒーシン（SYN1/DIF1）といった染色体の凝縮と接着に関する遺伝子も保存されている。これに対し、シナプトネマ構造を構成するタンパク質に関しては保存性が低く、ほとんどホモローグが見つかっていない。唯一出芽酵母の*HOP1*と相同性を有する*ASY1*がシナプトネマ構造に付着したクロマチンに結合するタンパク質の遺伝子として単離されている。シナプトネマ構造を構成するタンパク質の遺伝子は酵母やマウスで単離されているがこれらの遺伝子間では配列の一次構造には保存性は認められない。例えばラットのScp1と出芽酵母のZIP1はともにシナプトネマ構造のcentral elementを構成するタンパク質と考えられるが配列の上では相同性がない。このような構成タンパク質の違いが相同染色体の対合の相同組換え依存性の違いを生み出しているのかも知れない。ショウジョウバエや線虫では相同染色体が対合するのに組換えは必要ないが、哺乳類と酵母と植物では相同染色体間で組換えが起こることが対合の前提条件として必要である。

染色体関連以外のものでは植物に特有のものも多い。*SWI1*/*DYAD*遺伝子は全くどの遺伝子とも相同性を示さない新奇の遺伝子である。*DUET*等も植物に特有の転写因子と考えられている。筆者らが解析している*SDS*遺伝子はサイクリンの一種と考えられるが、減

数分裂に特有の、そして相同染色体の対合に必要なサイクリンはSDSの他には知られていない。植物には相同染色体の対合を誘導する特別なしくみがあり、それに必要なタンパク質の活性をあるいは遺伝子の発現をSDS遺伝子が調節しているのかも知れない。SDSと相互作用するCDKとそのCDKのターゲットが何であるかが判れば、相同染色体対合のメカニズムの解明に大きな前進があるものと期待される。

植物に特有の現象として、植物の減数分裂においてはチェックポイントがないのではないかと疑われていたが、植物にもやはりあるのではないかという報告も最近されている。動物ではパキテンチェックポイントや紡錘体チェックポイントが存在し、対合や染色体の赤道面上への整列が正常に起こらないと次のステップへ進めないしくみになっている(Roeder & Bailis, 2000)。チェックポイントが作動して停止した細胞は必要なことが正常に復帰しない限りアポトーシスへと進み、細胞は最終的には崩壊する。しかしシロイヌナズナで観察される限り、相同組換えが起こらなくても、二価染色体が赤道面に整列しなくても減数分裂は完了する。しかし最近単離された*MMD1*遺伝子の変異体ではダイアキネシス期に染色体間に架橋が見られ、染色体が癒着し第一分裂後期には染色体の断片化が起こる。これ以降細胞分裂は進行せずにアポトーシスに向かう。他の変異体の場合にはアポトーシスは起こらないのに、なぜ*mmd1*ではアポトーシスが起こるのかは興味深い疑問である。*MMD1*が実際にどのような現象に関わっているのか、その解明が待たれる。

*SDS*の場合と同様にターゲットが問題となるのが転写因子をコードする場合である。ここで列挙した遺伝子の中にも転写因子をコードするものが多く存在する（*BEL1*、*ANT*、*SAP*、*SPL/NZZ*、*MS1*、*AMS*、*MMD1*、*SPL8*、*DUET*）。これらの遺伝子が調節する遺伝子の正体が何であるか、今後の研究の進展が楽しみである。シロイヌナズナの全遺伝子の約10%が転写因子であることが、シロイヌナズナのゲノムプロジェクトの成果として報告されており、もともと転写因子の遺伝子の割合は高いと言える。しかしこれまでに得られた生殖過程に関連する変異体の原因遺伝子における、転写因子遺伝子の割合はそれに比べても高い。これはこの変異体を単離してその原因遺伝子を解析するという戦略の限界を示唆するものであるかもしれない。つまり転写因子のように多くの遺伝子に影響を与え、機能欠損が起きた場合に表現型として現れやすい遺伝子の変異体が集中的にとられてきたのではないだろうか。これまでに単離された変異体の多くは稔性が低い、あるいは全くの不稔であるといった目につきやすい際立った表現型を基準に選抜されてきた。今後はもっと細かな部分に着目した繊細なスクリーニングが必要かもしれない。それによって減数分裂に微妙な影響を及ぼしている遺伝子の単離が可能となるかもしれない。Sorensen らの開発したextinction screen法などは減数分裂初期に必要な遺伝子にターゲットを絞ったスクリーニング法で新たな変異体が単離されている (2002)。このような工夫が今後さらなる減数分裂関連遺伝子を単離するには有効かもしれない。

これまでに、特に2003年には多くの減数分裂関連の遺伝子が解析されて大きな進歩があったと言える。今後はさらに多くの減数分裂に関連する遺伝子を単離するとともに単離され

た遺伝子間の関係を明らかにすることが重要であると考えられる。*ANT*と*BEL1*の研究においてその関係が示されたように、他の遺伝子においてもどの遺伝子がどの遺伝子の上流に位置するかといった研究が進められることを期待する。しかし、植物の減数分裂の場合、それぞれのプロセスに関与する遺伝子が十分に単離されていないと言うのが現状であろう。研究の道具としては現在でも*AtDMC*遺伝子のプロモーター活性が減数分裂細胞の指標として使われたり、ASY1に対する抗体が*SYN1*や*SWI1*の解析に用いられる等、遺伝子間の交流は盛んになりつつある。

変異体解析では減数分裂以外に役割を持っている遺伝子の場合、その遺伝子を単離することが難しい。細胞周期の研究に見られるような網羅的研究が減数分裂の研究にも有効かもしれない (Menges *et al.* 2002; Vandepoele *et al.* 2002)。筆者らも*SDS*遺伝子がどのような遺伝子の発現に影響を及ぼすのかを遺伝子アレイを用いて解析する実験を進めているところである。このような研究が様々な変異体で進めば遺伝子間の関係が明らかとなるものと予想される。またバイオインフォマティクスの技法を利用した減数分裂関係の遺伝子の探索が行われているが (Bogdanov *et al.* 2003)、シロイヌナズナでも応用されれば、植物の新たな減数分裂遺伝子が発見されるかもしれない。今後はモデル植物としての利点を生かした研究の進展が望まれる。

References

Aarts, M. G., W. G. Dirkse, et al. (1993). "Transposon tagging of a male sterilitygene in Arabidopsis." Nature 363: 715-7.

Agashe, B., C. K. Prasad, et al. (2002). "Identification and analysis of DYAD: a gene required for meiotic chromosome organisation and female meiotic progression in Arabidopsis." Development 129: 3935-43.

Arabidopsis Genome Initiative (2000). "Analysis of the genome sequence of the flowering plant Arabidopsis thaliana." Nature 408: 796-815.

Ariizumi, T., Hatakeyama, K. et al. (2003) "A novel male-sterile mutant of Arabidopsis thaliana, faceless pollen-1, produces pollen with a smooth surface and an acetolysis-sensitive exine. " Plant Mol Biol 53:107-116.

Armstrong, S. J., A. P. Caryl, et al. (2002). "Asy1, a protein required for meioticchromosome synapsis, localizes to axis-associated chromatin in Arabidopsis and Brassica." J Cell Sci 115: 3645-55.

Armstrong, S. J., F. C. Franklin, et al. (2001). "Nucleolus-associated telomere clustering and pairing precede meiotic chromosome synapsis in Arabidopsis thaliana." J Cell Sci 114: 4207-17.

Armstrong, S. J. and G. H. Jones (2003). "Meiotic cytology and chromosome behaviour in wild-type Arabidopsis thaliana." J Exp Bot 54: 1-10.

Azumi, Y., D. Liu, et al. (2002). "Homolog interaction during meiotic prophase I in Arabidopsis requires the SOLO DANCERS gene encoding a novel cyclin-like protein." Embo J 21: 3081-3095.

Azumi, Y., T. Toyama, et al. (2001). "A sensitive fluorescence in situ hybridization procedure

applicable to whole stages of male meiosis of Arabidopsis thaliana." Chromosome Sci 5: 1-6.

Bai, X., B. N. Peirson, et al. (1999). "Isolation and characterization of SYN1, a RAD21-like gene essential for meiosis in Arabidopsis." Plant Cell 11: 417-30.

Balasubramanian, S. and K. Schneitz (2000). "NOZZLE regulates proximal-distal pattern formation, cell proliferation and early sporogenesis during ovule development in Arabidopsis thaliana." Development 127: 4227-38.

Balasubramanian, S. and K. Schneitz (2002). "NOZZLE links proximal-distal andadaxial-abaxial pattern formation during ovule development in Arabidopsis thaliana." Development 129: 4291-300.

Bancroft, I., A. M. Bhatt, et al. (1992). "Development of an efficient two-elementtransposon tagging system in Arabidopsis thaliana." Mol Gen Genet 233: 449-61.

Bhatt, A. M., C. Canales, et al. (2001). "Plant meiosis: the means to 1N." Trends Plant Sci 6: 114-21.

Bhatt, A. M., C. Lister, et al. (1999). "The DIF1 gene of Arabidopsis is required for meiotic chromosome segregation and belongs to the REC8/RAD21 cohesin gene family." Plant J 19: 463-72.

Bhatt, A. M., T. Page, et al. (1996). "Use of Ac as an insertional mutagen in Arabidopsis." Plant J 9: 935-45.

Bleuyard, J. Y. and C. I. White (2004). "The Arabidopsis homologue of Xrcc3 plays an essential role in meiosis." Embo J 23: 439-49.

Bogdanov, Y. F., S. Y. Dadashev, et al. (2003). "In silico search for functionally similar proteins involved in meiosis and recombination in evolutionarily distant organisms." In Silico Biol 3: 173-85.

Bowman, J. (1994). Arabidopsis. An Atlas of Morphology and Development, Springer-Verlag.

Byzova, M. V., J. Franken, et al. (1999). "Arabidopsis STERILE APETALA, a multifunctional gene regulating inflorescence, flower, and ovule development." Genes Dev 13: 1002-14.

Cai, X., F. Dong, et al. (2003). "The Arabidopsis SYN1 cohesin protein is required for sister chromatid arm cohesion and homologous chromosome pairing." J Cell Sci 116: 2999-3007.

Canales, C., A. M. Bhatt, et al. (2002). "EXS, a putative LRR receptor kinase, regulates male germline cell number and tapetal identity and promotes seed development in Arabidopsis." Curr Biol 12: 1718-27.

Caryl, A. P., S. J. Armstrong, et al. (2000). "A homologue of the yeast HOP1 gene is inactivated in the Arabidopsis meiotic mutant asy1." Chromosoma 109: 62-71.

Caryl, A. P., G. H. Jones, et al. (2003). "Dissecting plant meiosis using Arabidopsis thaliana mutants." J Exp Bot 54: 25-38.

Chen, C., A. Marcus, et al. (2002). "The Arabidopsis ATK1 gene is required for spindle morphogenesis in male meiosis." Development 129: 2401-9.

Couteau, F., F. Belzile, et al. (1999). "Random chromosome segregation without meiotic arrest in both male and female meiocytes of a dmc1 mutant of Arabidopsis." Plant Cell 11: 1623-34.

Dean, C., C. Sjodin, et al. (1991). "Development of an efficient transposon tagging system in Arabidopsis thaliana." Symp Soc Exp Biol 45: 63-75.

Dong, F., X. Cai, et al. (2001). "Cloning and characterization of two Arabidopsis genes that belong to the RAD21/REC8 family of chromosome cohesin proteins." Gene 271: 99-108.

Elliott, R. C., A. D. Betzner, et al. (1996) "AINTEGUMENTA, an APETALA2-like gene of Arabidopsis with pleiotropic roles in ovule development and floral organ growth. " Plant Cell 8: 155-168.

Fransz, P., S. Armstrong, et al. (1998). "Cytogenetics for the model system Arabidopsis thaliana." Plant J 13: 867-76.

Gallego, M. E., M. Jeanneau, et al. (2001). "Disruption of the Arabidopsis RAD50 gene leads to plant sterility and MMS sensitivity." Plant J 25: 31-41.

Garcia, V., H. Bruchet, et al. (2003). "AtATM is essential for meiosis and the somatic response to DNA damage in plants." Plant Cell 15: 119-32.

Glover, J., M. Grelon, et al. (1998). "Cloning and characterization of MS5 from Arabidopsis: a gene critical in male meiosis." Plant J 15: 345-56.

Grelon, M., D. Vezon, et al. (2001). "AtSPO11-1 is necessary for efficient meioticrecombination in plants." Embo J 20: 589-600.

Grossniklaus, U. and K. Schneitz (1998). "The molecular and genetic basis of ovule and megagametophyte development." Semin Cell Dev Biol 9: 227-38.

Hartung, F. and H. Puchta (2000). "Molecular characterisation of two paralogousSPO11 homologues in Arabidopsis thaliana." Nucleic Acids Res 28: 1548-54.

Haupt, W., T. C. Fischer, et al. (2001). "The centromere1 (CEN1) region of Arabidopsis thaliana: architecture and functional impact of chromatin." Plant J 27: 285-96.

He, C., U. Tirlapur, et al. (1996) "An Arabidopsis mutant showing aberrations inmale meiosis." Sex Plant Reprod 9: 54-57.

He, C. and J. P. Mascarenhas (1998) "MEI1, an Arabidopsis gene required for male meiosis: isolation and characterization. " Sex Plant Reprod 11: 199-207

Hennig, L., P. Taranto, et al. (2003). "Arabidopsis MSI1 is required for epigenetic maintenance of reproductive development." Development 130: 2555-65.

Hulskamp, M., N. S. Parekh, et al. (1997). "The STUD gene is required for male-specific cytokinesis after telophase II of meiosis in Arabidopsis thaliana." DevBiol 187: 114-24.

Jones, G. H., S. J. Armstrong, et al. (2003). "Meiotic chromosome synapsis and recombination in Arabidopsis thaliana; an integration of cytological and molecular approaches." Chromosome Res 11: 205-15.

Joubes, J., C. Chevalier, et al. (2000). "CDK-related protein kinases in plants." Plant Mol Biol 43: 607-20.

Klimyuk, V. I. and J. D. Jones (1997). "AtDMC1, the Arabidopsis homologue of the yeast DMC1 gene: characterization, transposon-induced allelic variation and meiosis-associated expression." Plant J 11: 1-14.

Klucher, K. M., H. Chow, et al. (1996). "The AINTEGUMENTA gene of Arabidopsis required for ovule and female gametophyte development is related to the floral homeotic gene APETALA2." Plant Cell 8: 137-53.

Koornneef, M., P. Fransz, et al. (2003). "Cytogenetic tools for Arabidopsis thaliana." Chromosome Res 11: 183-94.

Kwee, H. S. and V. Sundaresan (2003). "The NOMEGA gene required for femalegametophyte development encodes the putative APC6/CDC16 component of theAnaphase Promoting Complex in Arabidopsis." Plant J 36: 853-66.

Lysak, M. A., P. F. Fransz, et al. (2001). "Chromosome painting in Arabidopsis thaliana." Plant J 28: 689-97.

Mathilde, G., G. Ghislaine, et al. (2003). "The Arabidopsis MEI1 gene encodes a protein with five BRCT domains that is involved in meiosis-specific DNA repair events independent of SPO11-induced DSBs." Plant J 35: 465-75.

McKnight, T. D., K. Riha, et al. (2002). "Telomeres, telomerase, and stability of the plant

genome." Plant Mol Biol 48: 331-7.

Menges, M., L. Hennig, et al. (2002). "Cell cycle-regulated gene expression in Arabidopsis." J Biol Chem 277: 41987-2002.

Mercier, R., S. J. Armstrong, et al. (2003). "The meiotic protein SWI1 is required for axial element formation and recombination initiation in Arabidopsis." Development 130: 3309-18.

Mercier, R., M. Grelon, et al. (2001). "How to characterize meiotic functions in plants?" Biochimie 83: 1023-8.

Mercier, R., D. Vezon, et al. (2001). "SWITCH1 (SWI1): a novel protein required for the establishment of sister chromatid cohesion and for bivalent formation at meiosis." Genes Dev 15: 1859-71.

Meyerowitz, E. M. and Somerville, C. R. (1994). " Arabidopsis". CSHL press.

Motamayor, J. C., D. Vezon, et al. (2000) "Switch (swi1), an Arabidopsis thalianamutant affected in the female meiotic switch." Sex Plant Reprod 12: 209-218

Peirson, B. N., S. E. Bowling, et al. (1997). "A defect in synapsis causes male sterility in a T-DNA-tagged Arabidopsis thaliana mutant." Plant J 11: 659-69.

Ray, A., K. Robinson-Beers, et al. (1994). "Arabidopsis floral homeotic gene BELL (BEL1) controls ovule development through negative regulation of AGAMOUS gene (AG)." Proc Natl Acad Sci U S A 91: 5761-5.

Reddy, T. V., J. Kaur, et al. (2003). "The DUET gene is necessary for chromosome organization and progression during male meiosis in Arabidopsis and encodes a PHD finger protein." Development 130: 5975-87.

Reiser, L., Z. Modrusan, et al. (1995). "The BELL1 gene encodes a homeodomainprotein involved in pattern formation in the Arabidopsis ovule primordium." Cell 83: 735-42.

Renaudin, J. P., J. H. Doonan, et al. (1996). "Plant cyclins: a unified nomenclature for plant A-, B- and D-type cyclins based on sequence organization." Plant Mol Biol 32: 1003-18.

Rhee, S. Y., E. Osborne, et al. (2003). "Microspore separation in the quartet 3 mutants of Arabidopsis is impaired by a defect in a developmentally regulated polygalacturonase required for pollen mother cell wall degradation." Plant Physiol 133: 1170-80.

Rhee, S. Y. and C. R. Somerville (1998). "Tetrad pollen formation in quartet mutants of Arabidopsis thaliana is associated with persistence of pectic polysaccharides of the pollen mother cell wall." Plant J 15: 79-88.

Roeder, G. S., J. M. Bailis (2000). "The pachytene checkpoint." Trends Genet 16: 395-403

Robinson-Beers, K., R. E. Pruitt, et al. (1992). "Ovule Development in Wild-TypeArabidopsis and Two Female-Sterile Mutants." Plant Cell 4: 1237-1249.

Ross, K. J., P. Fransz, et al. (1997). "Cytological characterization of four meiotic mutants of Arabidopsis isolated from T-DNA-transformed lines." Chromosome Res 5: 551-9.

Ross, K. J., P. Fransz, et al. (1996). "A light microscopic atlas of meiosis in Arabidopsis thaliana." Chromosome Res 4: 507-16.

Sanders, P. M., P. Y. Lee, et al. (2000). "The arabidopsis DELAYED DEHISCENCE1 gene encodes an enzyme in the jasmonic acid synthesis pathway." Plant Cell 12: 1041-61.

Sanders, P. M., A. Q. Bui, et al. (1999) "Anther developmental defects in Arabidopsis thaliana male-sterile mutants." Sex Plant Reprod 11: 297-322

Schiefthaler, U., S. Balasubramanian, et al. (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 U S A 96: 11664-9.

Schommer, C., A. Beven, et al. (2003). "AHP2 is required for bivalent formation and for

segregation of homologous chromosomes in Arabidopsis meiosis." PlantJ 36: 1-11.
Schwarzacher, T. (2003). "Meiosis, recombination and chromosomes: a review of gene isolation and fluorescent in situ hybridization data in plants." J Exp Bot 54: 11-23.
Siddiqi, I., G. Ganesh, et al. (2000). "The dyad gene is required for progression through female meiosis in Arabidopsis." Development 127: 197-207.
Siddiqui, N. U., P. E. Stronghill, et al. (2003). "Mutations in Arabidopsis condensin genes disrupt embryogenesis, meristem organization and segregation of homologous chromosomes during meiosis." Development 130: 3283-95.
Sorensen, A., F. Guerineau, et al. (2002). "A novel extinction screen in Arabidopsis thaliana identifies mutant plants defective in early microsporangial development." Plant J 29: 581-94.
Sorensen, A. M., S. Krober, et al. (2003). "The Arabidopsis ABORTED MICROSPORES (AMS) gene encodes a MYC class transcription factor." Plant J 33: 413-23.
Spielman, M., D. Preuss, et al. (1997). "TETRASPORE is required for male meiotic cytokinesis in Arabidopsis thaliana." Development 124: 2645-57.
Stevens, R., M. Grelon, et al. (2004). "A CDC45 Homolog in Arabidopsis Is Essential for Meiosis, as Shown by RNA Interference-Induced Gene Silencing." Plant Cell 16: 99-113.
Sundaresan, V., P. Springer, et al. (1995). "Patterns of gene action in plant development revealed by enhancer trap and gene trap transposable elements." Genes Dev 9: 1797-810.
Unte, U. S., A. M. Sorensen, et al. (2003). "SPL8, an SBP-box gene that affects pollen sac development in Arabidopsis." Plant Cell 15: 1009-19.
Vandepoele, K., J. Raes, et al. (2002). "Genome-wide analysis of core cell cycle genes in Arabidopsis." Plant Cell 14: 903-16.
Wilson, Z. A., S. M. Morroll, et al. (2001). "The Arabidopsis MALE STERILITY1 (MS1) gene is a transcriptional regulator of male gametogenesis, with homology to the PHD-finger family of transcription factors." Plant J 28: 27-39.
Yang, C. Y., M. Spielman, et al. (2003). "TETRASPORE encodes a kinesin required for male meiotic cytokinesis in Arabidopsis." Plant J 34: 229-40.
Yang, M., Y. Hu, et al. (1999). "The Arabidopsis SKP1-LIKE1 gene is essential for male meiosis and may control homologue separation." Proc Natl Acad Sci U S A 96: 11416-21.
Yang, S. L., L. F. Xie, et al. (2003). "Tapetum determinant1 is required for cell specialization in the Arabidopsis anther." Plant Cell 15: 2792-804.
Yang, W. C., D. Ye, et al. (1999). "The SPOROCYTELESS gene of Arabidopsis isrequired for initiation of sporogenesis and encodes a novel nuclear protein." Genes Dev 13: 2108-17.
Yang, X., C. A. Makaroff, et al. (2003). "The Arabidopsis MALE MEIOCYTE DEATH1 gene encodes a PHD-finger protein that is required for male meiosis." Plant Cell 15: 1281-95.
Zhao, D., M. Yang, et al. (1999). "The ASK1 gene regulates development and interacts with the UFO gene to control floral organ identity in Arabidopsis." Dev Genet 25: 209-23.
Zhao, D., Q. Yu, et al. (2001). "The ASK1 gene regulates B function gene expression in cooperation with UFO and LEAFY in Arabidopsis." Development 128: 2735-46.
Zhao, D. Z., G. F. Wang, et al. (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: 2021-31.