

## 评述与展望

### Reviews and Progress

## 植物雌配子体发育的分子机理与基因调控

王曦<sup>1,2</sup>, 勾晓霞<sup>1,2</sup>, 王建军<sup>2,1</sup>

1 浙江师范大学化学与生命科学学院, 金华, 321004

2 浙江省农业科学院作物与核技术利用研究所, 杭州, 310021

✉通讯作者: zwsjxsz@zaas.org; ✉作者

分子植物育种, 2012年, 第10卷, 第9篇 doi: 10.5376/mpb.cn.2012.10.0009

收稿日期: 2012年02月29日

接受日期: 2012年03月05日

发表日期: 2012年03月19日

这是一篇采用 Creative Commons Attribution License 进行授权的开放取阅论文。只要对本原作有恰当的引用, 版权所有人允许并同意第三方无条件的使用与传播。

建议最佳引用格式:

引用格式(中文):

王曦等, 2012, 植物雌配子体发育的分子机理与基因调控, 分子植物育种(online) Vol.10 No.9 pp.1067-1079 (doi: 10.5376/mpb.cn.2012.10.0009)

引用格式(英文):

Wang et al., 2012, Review on molecular mechanism and genetic regulation of female gametophyte development in plant, Fenzi Zhiwu Yuzhong (online) (Molecular Plant Breeding) Vol.10 No.9 pp.1067-1079 (doi: 10.5376/mpb.cn.2012.10.0009)

**摘 要** 植物雌配子体发育是被子植物生长发育的一个重要过程, 其涉及孢原细胞形成与分化、生殖细胞的减数分裂、功能大孢子的形成、胚囊细胞核分裂以及胚囊的形成等过程。通过对拟南芥、水稻等植物的研究, 人们获得众多的雌配子体发育异常的突变体, 通过细胞学和分子遗传研究, 了解了植物雌配子体发育过程的某些重要特征, 并且克隆了许多相关的基因。本文较全面地阐述了参与植物雌配子体发育的相关基因, 及其对雌配子体发育过程的调控或影响, 概述了本领域的最新研究进展。

**关键词** 雌配子体; 基因; 分子机理

## Review on Molecular Mechanism and Genetic Regulation of Female Gametophyte Development in Plant

Wang Xi<sup>1,2</sup>, Gou Xiaoxia<sup>1,2</sup>, Wang Jianjun<sup>2,1</sup>

1 College of Chemistry and Life Science, Zhejiang Normal University, Jinhua, 321004

2 Institute of Crops and Utilization of Nuclear Technology, Zhejiang Academy of Agricultural Sciences, Hangzhou, 310021

✉Corresponding author: zwsjxsz@zaas.org; ✉ Authors

**Abstract** Female gametophyte development is an important process in plant development and differentiation, which is involved in the formation and differentiation of archesporial cells, meiosis of germline cells, formation of the functional megaspores, nuclear division and formation of the embryo sacs. Numerous mutants defective in almost all stages of female gametophyte development have been identified through research with plants such as Arabidopsis and rice. Cytological and genetic analyses of these mutants revealed certain features of the female gametophyte development; moreover, many related genes have been characterized and cloned. In this paper, we discussed the relevant genes participating in female gametophyte development with focus on their regulation role and effects on networks in female gametophyte development, and summarized the latest developments in this research area.

**Keywords** Female gametophyte; Gene; Molecular mechanism

### 研究背景

植物雌配子体发育(female gametogenesis)是有花植物生殖发育过程中的一个关键步骤。高等植物花器官中包含雌配子体和雄配子体, 在进化的早期, 植物就具有单倍配子体与二倍孢子体交替变化的生命周期。发掘和研究雌雄配子体的发育异常突

变体是了解有花植物生殖发育分子机理和遗传调控的重要方法。过去的十几年中, 通过对植物配子体发育的深入研究, 明确了配子体发育的生物学和细胞学的某些基本特征, 如细胞分化、细胞间相互作用和细胞的生理生化机制, 且对植物配子体发育的遗传机理的阐明也取得了长足的进步。尤其是近年

来对拟南芥和水稻的大量卓有成效的研究, 为完整地揭示植物生殖细胞分化和配子体形成的分子机理增添了丰富内容。本文正是基于拟南芥和水稻等植物的雌配子体发育的分子遗传研究的最新进展, 重点阐述雌配子体发育的分子机理和遗传调控过程。

植物雌配子体的发生涉及一系列细胞学的演化过程, 其中包括孢原细胞(archesporial cell, AC)的形成、大孢子母细胞(megaspore mother cell, MMC)分化、MMC 减数分裂、功能大孢子的确立、胚囊(Embryo sac)的形成、有丝分裂和胚囊极化形成成熟胚囊等(图 1)。以高等植物蓼科(Polygonaceae)为例, 雌配子体的细胞结构一般包含 2 个助细胞(synergid cell)、1 个卵细胞(egg cell)、1 个中央细胞(centre cell)、3 个反足细胞(antipodal cell), 是一个具有八个细胞核的七细胞的胚囊结构, 拟南芥和水稻的雌配子体属于蓼型胚囊(polygonum type)。MMC 减数分裂是植物雌配子体的发育的一个极其重要的标志性事件, 因此, 生殖发育研究中往往以 MMC 减数分裂为界, 其前的细胞学过程为孢子体形成(sporogenesis), 其后的为配子体形成(gametogenesis)。本文以其为界, 分别叙述两个发育过程的相关研究。

## 1 参与植物孢子体形成(sporogenesis)相关基因

### 1.1 调控孢原细胞发生与大孢子母细胞发育的基因

拟南芥和水稻等植物的珠心中表皮下一个 L2 细胞开始分化, 其接近等径、细胞核大、胞质丰富, 明显有别于其他珠心细胞, 这个细胞称为孢原细胞

(archesporial cell, AC)。孢原细胞伸长变大, 形成大孢子母细胞(megasporocyte cell, MC), 随后进入减数分裂期。

在雌配子体发生过程中, 体细胞是如何启动并分化形成生殖细胞或孢原细胞是学者感兴趣的问题之一。通过对拟南芥突变体研究, 发现 *SPOROCTELESS(SPL)/NOZZLE(NZZ)* 基因可能参与了这一过程(Schiefthaler et al., 1999; Yang et al., 1999)。在 *spl/nzz* 突变体中, 孢原细胞的起始正常, 然而随后的大孢子母细胞和小孢子母细胞分化受阻, 其花粉囊壁发育也未发生, 尽管珠心发育延迟了但是珠被发育正常(Yang et al., 1999)。当 *SPL* 过表达时, 可以使拟南芥的花瓣体细胞变成生殖细胞, 经小孢子发生途径直接形成花粉(Ito et al., 2004)。这表明, *SPL/NZZ* 与周围细胞的相互作用决定了花药和胚珠的产生。突变体 *sterile apetela (sap)* 的大孢子母细胞不能完成减数分裂, 小花的数目和器官的数目也受到影响(Byzova et al., 1999)。然而, 在突变体 *sap* 中大孢子母细胞已形成, 因此认为 *SAP* 可能作用于 *SPL/NZZ* 下游。

由于玉米的 *MULTIPLE ARCHESPORIAL CELLS1 (MAC1)* 基因可以改变孢原细胞的定向分化, 因此认为 *MAC1* 基因在孢原细胞发育中可能起作用时期比 *SPL/NZZ* 基因更早。在 *mac1* 突变体中, 其胚珠中形成了多个孢原细胞(Sheridan et al., 1996)。但是, 其花药的孢原细胞定向分化并没有受到影响, 而是在减数分裂时被中止, 这暗示了在花药的发育过程

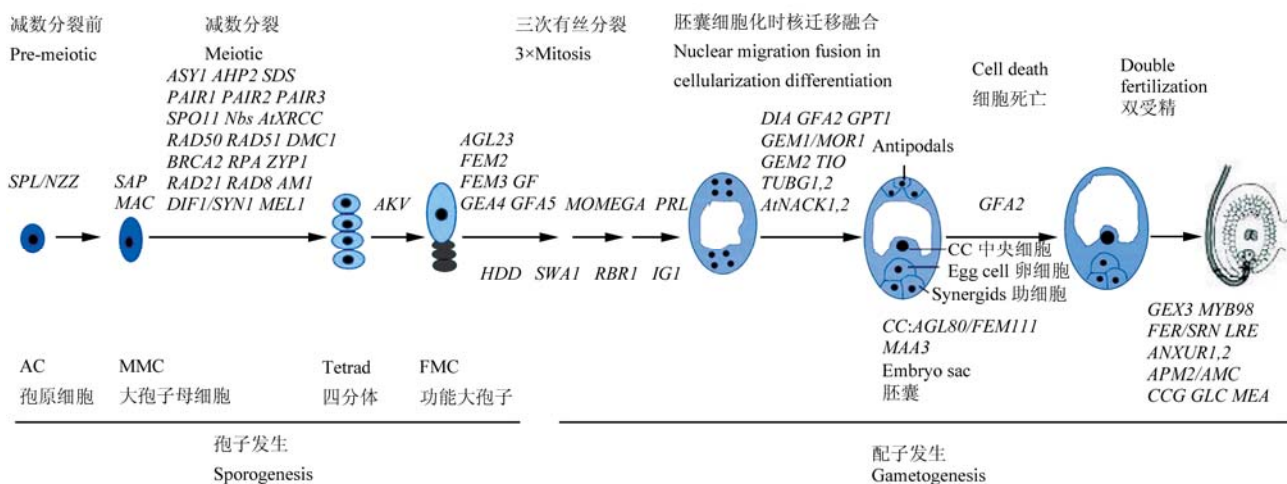


图1 植物雌配子体发育过程中孢子发生和配子发生的连续过程及参与的相关基因示意图

Figure 1 Schematic diagram depicting the sequential processes of sporogenesis and gametogenesis in female gametophyte development with related genes in plant

中, *SPL/NZZ* 基因可能作用于 *MAC1* 的上游(Yang et al., 1999)。Nonomura 等(2006)报道的水稻 *multiple sporocyte 1 (msp1)* 突变体中, 大孢子母细胞和小孢子母细胞数量都有增加。这些增加的孢子母细胞可能由额外的孢原细胞产生, 这就说明了 *MSP1* 是孢原细胞发生必需的。*MSP1* 基因是在生殖细胞(germline cell)周边的珠心细胞中表达, 在发育时的生殖细胞中并不表达, 这证明了 *MSP1* 的作用是通过阻止周边细胞形成生殖细胞, 从而决定了生殖细胞的命运, 这一作用机理与玉米中的 *MAC1* 基因是相似的(Sheridan et al., 1996)。*MSP1* 编码具有富异亮氨酸重复的类受体激酶(LRR-RLK), 这暗示孢原细胞与其邻近的细胞间的信号交流可能是由配体-受体信号级联放大所控制, 这一调控方式在雌性生殖细胞发育中起了重要作用。这些发现提示侧面抑制(lateral inhibition)机制可能控制大孢子母细胞的数量。

## 1.2 参与减数分裂调控的基因

减数分裂是由二倍体细胞产生单倍体细胞的保守细胞分裂, 是真核生物有性繁殖必不可少的过程。花粉母细胞的减数分裂发生是高度同步化的(Armstrong et al., 2002)。大孢子母细胞经过一次 DNA 复制和两次核分裂: 减数分裂 I, 同源染色体的分离; 减数分裂 II, 姐妹染色单体分开, 后细胞质分裂形成四个单倍体的大孢子。在整个过程中, 有许多重要的基因参与调控。

### 1.2.1 调控同源染色体的联会与重组的相关基因

在大多数真核生物中, 配对和联会是由联会复合体(synaptonemal complex, SC)介导的, 其功能在植物和动物的进化上是保守的, 这对确保后期 I 同源染色体的正常分离有重要作用。联会异常的突变体有 *asynaptic* 突变体和 *desynaptic* 突变体, 前者不能形成联会, 后者染色体发生联会但不能维持到后期 I, 结果两者都出现单价体而不是正常的二价体。在拟南芥中报道的这类突变体有 *asynaptic1 (asy1)*、*asy2*、*ahp2*、*solo dancers (sds)*、*dsynaptic1 (dsy1)* 和 *dsynaptic100 (dsy100)* 等, 其表型上都出现雄性和雌性育性下降, 而 *dsy10* 表现为完全不育(Hollingsworth et al., 1990; Peirson et al., 1996; Ross et al., 1997; Armstrong et al., 2002; Azumi et al., 2002)。突变体 *asy1* 的同源染色体在终变期排列正常但在前期 I 不发生联会, 结果不能形成二价体和

染色体交叉。Caryl 等(2000)发现 *ASY1* 基因可能在细线期与 axial loops 形成有关, 但与 chromatin loops 形成无关。*ASY1* 编码与 *HOP1* 同源的一种蛋白, 在酵母的 SC 装配中起作用(Hollingsworth et al., 1990)。突变体 *ahp2* 表现为同源染色体配对和二价形成出现异常, 而突变体 *sds* 在联会、重组和二价体形成中都表现出异常(Armstrong et al., 2002)。*AHP2* 蛋白与分别来自 *S. pombe* 的 *Meu13p* 和来自 *S. cerevisiae* *HOP2* 两个蛋白高度相似, 其参与同源染色体联会。这些结果说明拟南芥的 *ASY1* 和 *AHP2* 的功能与酵母的 *HOP1*、*HOP2* 和 *Meu13p* 相似, 其在联会过程中的功能是保守的。此外, 也提示了酵母与植物的减数分裂可能具有相似的同源染色体联会和重组的分子机理(Hollingsworth et al., 1990; Schommer et al., 2003)。有趣的是, *SDS* 编码具有保守的类细胞周期蛋白结构域(cyclin-like domain)蛋白, 而细胞周期蛋白正是调控动物和植物有丝分裂细胞周期的。由于减数分裂 II 更像是一个有丝分裂过程, 所以推测 *SDS* 蛋白可能是调控减数分裂的细胞周期的一种新的蛋白(Azumi et al., 2002)。*ASY2*、*DSY1* 和 *DSY10* 基因的分子机理目前还不清楚(Peirson et al., 1996; Ross et al., 1997)。

在水稻中报道的 *PAIR1*、*PAIR2* 和 *PAIR3* 基因也是参与同源染色体的配对和联会。突变体 *pair1* 的 MMC 前期 I 的染色体形成一个紧近核仁的致密球体, 从而使同源染色体无法正常配对(Nonomura et al., 2004)。突变体 *pair2* 也出现同源染色体联会受影响, 结果雌雄配子均表现为不育。*PAIR2* 基因与拟南芥的 *ASY1* 和酵母的 *HOP1* 基因同源, 与 SC 的轴向元件(axial elements)结合参与调控 SC 结构的形成(Nonomura et al., 2006)。突变体 *pair3* 的同源染色体不发生联会和不形成二价体, 结果导致雌雄配子不育(Yuan et al., 2009)。与 *PAIR1* 不同, *PAIR2* 和 *PAIR3* 基因是在整个减数分裂过程中均表达。*PAIR1* 和 *PAIR2* 均影响胞质分裂, 但 *PAIR3* 不影响胞质分裂(Yuan et al., 2009)。

### 1.2.2 调控 DSB 形成与修复的相关基因

减数分裂是由 *SPO11* 介导的以 DNA 双链断裂(DSBs)的形成为起始的。在植物中, DSBs 发生在细线期的早期或更早, 随后由 MRN 蛋白复合体切除, 形成单链 DNA(ssDNA)的 overhang。MRN 蛋白复合体包含 MRE11、RAD50 和 NBS1 三个亚基。MRE11 是一种具有核酸内切酶、核酸外切酶和解旋

酶活性的DNA结合蛋白,直接促进ssDNA overhang的形成。RAD50最可能在复合体中行使复合体构建的作用。Nbs1调控MRE11的活性和传导DSB出现的信号。由DSB切除形成的ssDNA尾部被2种DNA链交换蛋白(DNA strand-exchange proteins) RAD51和DMC1包裹。核蛋白丝(nucleoprotein filaments)的形成在这时出现,并以单头侵入(single-end invasion, SEI)的方式进入同源染色体双链DNA区域。

Keeney等(1997)报道酵母的SPO11蛋白在减数分裂染色体重组中对DSB形成有重要作用,其后在人、小鼠和果蝇等其它生物中也相继鉴定获得与SPO11的同源的基因。拟南芥突变体 $spo11-1$ 和 $spo11-2$ 在同源染色体配对、重组和二价体形成中都表现出异常,导致花粉母细胞(pollen mother cell, PMC)减数分裂中出现多价体(polyads),及MMC减数分裂中胚囊不分化(Grelon et al., 2001; Stacey et al., 2006)。Yu等(2010)采用RNAi使水稻 $OsSPO11-1$ 基因沉默,结果PMC的同源染色体配对和重组明显受阻,SC的中央成分ZEP1不能正常加载在染色体上,SC形成被严重干扰,交叉蛋白MER3i能装配,染色体交叉也受影响。因此, $OsSPO11-1$ 对水稻减数分裂时期同源染色体配对和交叉的形成都是必要的。

植物中参与编码MRN复合体的三个蛋白MRE11、RAD50和Nbs1相关基因及功能也获得较好的认识。Puizina等(2004)在拟南芥T-DNA插入突变体证实 $AtMRE11$ 基因是DSB修复所必需,但不是修复 $Spo11$ 基因诱导的减数分裂DNA断裂所必需的。拟南芥 $AtRAD50$ 基因的突变可产生不育及对DNA损伤剂甲基甲烷磺酸盐的超敏反应,表明 $AtRAD50$ 在植物细胞DSB修复中具有保守作用(Gallego and White, 2001),敲除 $RAD50$ 基因的突变中,观察到粗线期单价体的出现(Bleuyard and White, 2004)。Akutsu等(2007)克隆了水稻的 $OsNbs1$ 基因,水稻和拟南芥的Nbs1蛋白比动物和酵母的Nbs1小,但其具有Nbs保守的结构域如FHA/BRCT结构域、Mre11-binding结构域和Atm-interacting结构域。Ronceret(2009)报道 $PHS1$ 基因具有调控减数分裂重组和同源染色体配对的作用,该基因编码一种细胞质蛋白,参与调控RAD50从细胞质向核内的转运。

在酵母和脊椎动物中发现了一组保守的类

RAD51蛋白,其与原核生物的RECA蛋白同源,在重组和损伤修复途径中起作用。在拟南芥基因组中鉴定出6个与脊椎动物类 $Rad51$ 的旁系同源基因,其中之一的突变体 $atxrc3$ 导致雌配子和雄配子发育异常。这些突变体对DNA损伤处理表现出超敏反应,这证实了类RAD51蛋白在重组修复中的作用(Bleuyard and White, 2004)。酵母双杂交检测表明,与BRCA2蛋白关联的RAD51和DMC1在同源重组和减数分裂过程中起作用(Siaud et al., 2004)。在RNA干扰沉默BRCA2的株系中,减数分裂终止和重组异常的结果证实了BRCA2的功能。酵母DMC1蛋白被证实是减数分裂I时染色体二价体的形成和同源染色体分离必需的,尽管拟南芥的同源基因突变体 $Atdmc1$ 没有观察到像酵母一样的减数分裂明显的完全停止(Couteau et al. 1999),但同源染色体不能正常分离,育性降低至1.5%。这表明植物具备自身特有的checkpoint activation和progression surveillance作用机制(Bhatt et al., 1999)。

复制蛋白A(Replication protein A, RPA)为高度保守的ssDNA,是DNA的复制、修复和同源重组等各种过程DNA代谢途径中所必需的。其由RPA1、RPA2和RPA3三个亚基组成的稳定的复合体(Wold, 1997; Iftode et al., 1999)。在拟南芥和水稻中具有多拷贝的RPA基因。通过T-DNA插入获得的水稻突变体 $Osrpa1a$ ,与野生型相比,突变体在营养生长期正常生长,但在生殖生长期表现为不育。细胞学观察证实其胚珠中没有胚囊,同时PMC在减数分裂后期I出现异常的染色体片段。突变体在有丝分裂和减数分裂的染色体配对与联会过程中都没有出现异常现象,但突变体对紫外线辐射和DNA损伤剂处理表现出超敏反应。推测 $OsRPA1a$ 基因可能在水稻的DNA修复中起作用,但其并不参与或至少不是DNA复制和同源重组所必需的(Chang et al., 2009)。

同源重组过程,会发生染色体交叉(crossovers),有关这一过程的一些基因被报道。Wang等(2010)报道了水稻中与拟南芥 $ZYP1$ 同源的 $ZEP1$ 基因,其参与了染色体的SC复合体的形成,其编码一种横丝蛋白(transverse filament, TF)。Tos17插入突变的 $zep1$ 突变体中,同源染色体整齐有序地排列,但在前期I的起始阶段并不形成联会复合体,染色体交叉的数目比野生型有明显的增多。这一结果与前人的研究的TF突变体不相同,在野生型中经常发

生的二价体交叉端化, 在 *zep1* 突变体中很少发生。结果表明 ZEP1 是联会复合体的中心元件。虽然在 *zep1* 突变体中 PAIR2 和 MER3 能正常装载, 但它们的分离比野生型明显延迟了许多。MER3 突变后, 染色体交叉数目显著下降, 少量的染色体交叉也是为随机分布。在减数分裂前期 I, MER3 在染色体上呈点状分布, 与 PAIR2 不是共定位, 但在后期与 PAIR2 部分共定位。而且 MER3 在 *pair2* 突变体中不能定位到染色体上, 说明 MER3 的定位需要 PAIR2 的参与, 但 PAIR2 的定位并不需要 MER3 (Wang et al., 2009)。

### 1.2.3 参与减数分裂期染色体构建的相关基因

染色体凝集和配对的过程, 发生在减数第一次分裂五个不同时期。细线期的染色体凝聚, 出现细线状结构和同源配对开始。在偶线期配对继续进行, 直到粗线期联会完成。这时, 同源染色体完全配对并且形成加厚结构, SC 形成。双线期, 联会开始消失, 同源染色体在交叉处仍保持连接。终变期, 染色体为浓缩的二价体, 且同源染色体紧紧地联系着直到进入减数第一次分裂后期。重组发生在细线期或偶线期后期。

黏着蛋白(cohesins)是一组进化上保守的蛋白, 与减数分裂I时姐妹染色单体的复制有关, 在染色体重组和DSB修复中起作用(Nasmyth, 2001)。在酵母中报道了两种黏着蛋白: 一是RAD21蛋白在有丝分裂的DSB修复中有重要意义, RAD21是一种调控细胞周期的磷蛋白, 是染色体浓缩和姐妹染色单体粘着所必需的; 另一个是RAD8, 一个减数分裂表达的基因。在拟南芥中, 发现一个较小规模的RAD21基因家族, 预测可能在有丝分裂和减数分裂的染色体浓缩中起作用(Bai et al., 1999)。与RAD21基因有最多同源性的拟南芥 *DIF1/SYNI* 基因是在减数分裂中被激活, 其突变后由于在减数分裂I细线期时染色体不能正常的浓缩和配对, 最终导致雌雄配子不育 (Bai et al., 1999; Bhatt et al., 1999)。通过不同物种的观察表明, 大孢子母细胞存在发育的极性的现象, 如细胞器的极性分布、胼胝质沉积的动态分布和微管蛋白有细胞骨架趋向等。但至今对于极性化在大孢子发育中的作用还不清楚。在拟南芥突变体 *swi1/dyad* 的胚珠中, 观察到大孢子母细胞的极化发育被中止(Motamayor et al., 2004; Siddiqi et al., 2000)。SWITCH1 (SWI1)基因编码一种新的蛋白, 其与姐妹染色单体黏着和减数分裂期染色体结构

有关(Agashe et al., 2002)。有趣的是DYAD突变导致减数分裂不正常, 形成两个未减数的二倍体大孢子 (Ravi et al., 2008), 其后只有合点端的而不是珠孔端的大孢子发育成为功能大孢子, 这说明只有合点端的大孢子是有功能的, 也佐证了大孢子发育的位置决定机制。在玉米中, 获得一个拟南芥 *swi1* 相似的突变体 *ameiotic (am1)*, 其大孢子的减数分裂被有丝分裂取代。观察 *am1* 等位基因突变体, 发现大孢子母细胞分裂被完全中止, 或大孢子母细胞的减数分裂只处于起始阶段但不能完成。以上研究表明, SWI 和 AM1 是转换减数分裂和有丝分裂的细胞周期所必需的, 并且可能采用一种新的细线期-偶线期关卡(checkpoint)调控分裂周期的转化。AM1与SWI1有30%同源性, 是植物特有的染色质结合蛋白, 但其功能还不知道(Pawlowskia et al., 2009)。有意思的是, *dyad* 突变体合点端未减数的大孢子偶尔会形成未减数的二倍体胚囊, 并且能受精产生三倍体的种子, 这为农业生产杂交种子提供了新的思路(Ravi et al., 2008)。

### 1.2.4 调控减数分裂和有丝分裂细胞周期的相关基因

动物中, 生殖细胞的命运是由生殖细胞专有的与PIWI关联的miRNA(piRNA)系统所控制(Lin, 2007)。最新研究表明, 植物中miRNA在生殖细胞发育中也有同样的作用, 如水稻中, MEIOSIS ARRESTED AT LEPTOTENE1 (MEL1), 是一个生殖细胞专有的AGO基因家族, 在孢原细胞和造孢细胞中特异表达, 当花药和胚珠的造孢细胞进入减数分裂时不表达。*mell1* 突变体的胚珠, 在减数分裂前至四分体时所有时期发育都被中止。在 *mell1* 生殖细胞系中, 可以观察到染色体不发生浓缩和异染色质修饰的现象, 证实了 MEL1 基因对染色质结构所起的作用, 这与果蝇的AGOs基因家族中的PIWI作用相似。表明 MEL1 是雌性生殖细胞发育所必需的, 最有可能是参与生殖细胞的减数分裂早期的调控, 或修饰减数分裂期的染色体及减数分裂的过程, 但并不影响生殖细胞系的发生、确立以及早期的有丝分裂(Nonomura et al., 2007)。有趣的是, MEL1 表达区域不局限于生殖细胞系中的花药原基和胚珠原基, 因此, 孢原组织可能产生过多的孢原细胞, 这些孢原细胞的命运由造孢细胞传递的信号决定。由此推论, MEL1 基因可能是抑制了生殖细胞系发育过程中其所具有的某些体细胞基因的表达, MEL1 蛋白

可能是通过修饰染色质结构从而抑制生殖细胞系的某些体细胞基因的程序性表达(Nonomura et al., 2007)。尽管在其他植物中还未发现类似的*MEL1*同源基因对生殖细胞系形成的作用,但这首次证实了,植物中具有与动物一样的由*MEL1*参与的小RNA介导的基因沉默途径对生殖细胞系形成具有重要作用(Grant-Downton et al., 2007)。

拟南芥 *SOLO DANCERS (SDS)* 基因突变使雌雄孢子母细胞减数分裂 I 前期的同源染色体配对、重组和二价体形成异常,最终导致染色体无序的分布和不正常的减数分裂的产生(Azumi et al., 2002)。SDS 的 C-端区域包含一个保守的类细胞周期蛋白结构域,其与拟南芥的 B 型细胞周期蛋白的 B2 亚类极其相似。然而,它们的相似程度在拟南芥的 A 型、B 型和 D 型细胞周期蛋白之间水平也是存在的,因此,推测 SDS 可能代表一个新的细胞周期蛋白型。推测染色体同源互作需要特异的减数分裂专有的细胞周期蛋白,这表明依赖于细胞周期蛋白的激酶在减数分裂 I 前期的染色体活动中起到重要的作用,SDS 基因在减数分裂特定时期表达,而不在营养组织中表达(Azumi et al., 2002)。

### 1.2.5 参与功能大孢子形成的基因

大孢子母细胞进行减数分裂后产生四个单倍体大孢子,呈线状排列,其中靠近珠孔端三个大孢子相继程序性细胞死亡(programmed cell death, PCD),仅存留合点端一个大孢子,其后形成功能大孢子。

拟南芥突变体 *antikevorkian (akv)* 中大孢子降解受阻,四个大孢子均能发育形成胚囊,从而形成多胚囊结构。AKV 需要合点端大孢子发出的信号促使大孢子降解从而形成正常单胚囊(Yang and Sundaresan, 2000)。

## 2 参与植物配子体发生(gametogenesis)相关基因

### 2.1 调控胚囊细胞核分裂的基因

功能大孢子形成后,继续伸长变大,发育形成单核胚囊,随后会进行三次有丝分裂,依次会形成二核胚囊,四核胚囊,最终形成八核胚囊,合点端和珠孔端各分布四个核,其中合点端和珠孔端分别有一个核靠近胚囊中部,发育变大,并且相互靠近,移向珠孔一侧,发育成极核,形成中央细胞。此时,合点端三个细胞发育为反足细胞,珠孔端三个细胞

发育形成两个助细胞和一个卵细胞。

尽管发现很多在单核阶段胚囊发育就被阻止的突变体,但是对雌配子体发生的起始的遗传机制和分子机制知之甚少。拟南芥 *agl23* 突变体,为 I 型 MADS-box 基因,阻止了功能大孢子的第一次核分裂(Colombo et al., 2008)。*AGL23* 表达第一次在功能大孢子中检测出来,并且持续在胚囊中表达。这些数据一起证实了 *AGL23* 调控的转录在早期雌配子体发育中是必需的。然而,拟南芥中 *AGL23* 不是功能大孢子起始或细胞分裂所必需的,也不是在随后的胚囊发育的细胞周期调控中必需的。

拟南芥突变体 *female gametophyte 2 (fem2)*、*fem3*、*gametophyte factor (gf)*、*gfa4* 和 *gfa5* 的在胚囊发育的 FG1 (Female Gametophyte 1) 早期被中止(Christensen et al., 1997; Feldmann et al., 1997; Christensen et al., 1998),说明这些基因是雌配子体早期发育所必需的。然而,调控这些表型的基因尚未进一步鉴定。拟南芥 *nomega* 和 *prolifera(prl)* 突变体,其在双核期(FG2)和四核阶段(FG4)胚囊发育中止,说明 *NOMEGA* 和 *PRL* 基因是第二和第三次核分裂所必需的(Springer et al., 2000; Kwee and Sundaresan, 2003)。*NOMEGA* 基因编码的蛋白与 Anaphase Promoting Complex/Cyclosome(APC/C)的 APC6/CDC16 (cell division cycle) 亚基具有高度的相似性。APC/C 复合体的功能类似于泛素介导的蛋白水解途径中的 E3 连接酶,它控制了细胞周期中的几个关键步骤。E3 连接酶 APC/C 复合功能。最早在蛤蜊(Mactridae)和爪蟾(Xenopus)中发现 APC/C 定向参与 A 型和 B 型细胞周期蛋白的水解(Hershko et al., 1991),从而促使其结束有丝分裂(Zachariae and Nasmyth, 1999)。分子生物学分析表明,细胞周期蛋白 B 是 APC/C 的重要底物,在突变体 *nomega* 胚囊中并没有被降解,这进一步支持了在雌配子体的发育过程中, *NOMEGA* 和 APC/C 复合体对细胞周期过程具有重要的作用(Kwee and Sundaresan, 2003)。*PROLIFERA(PRL)* 与 DNA 复制许可因子 *Mcm7* 是同源基因(Springer et al., 1995),在所有真核生物中 *PRL* 是高度保守的。*PRL* 蛋白的含量水平在细胞周期过程中被精确地调控。*PRL* 突变导致信号传递的减少,50% 的胚囊发育在四核期中止(Springer et al., 2000)。上述结果表明,将 *PRL* 水平维持在一定的限值之上是大孢子母细胞发生和胚胎发育必不可少的条件, *PRL* 可能是有丝分裂 S 期 DNA 复制的许可因

子。*hdd(hadad)*是另一个雌配子体突变体,其胚囊在一核、二核或四核期发育中止(Moore et al., 1997),表明*HDD*是大孢子母细胞核分裂所必需的。

所有的拟南芥雌配子突变体中,*slow walker 1 (swa1)*尤其特殊(Shi et al., 2005)。在*swa1*突变中大孢子母细胞的发育不同步,结果在同一雌蕊中,胚囊发育在二核、四核或八核期等不同时期都可能发生中止,这与前面描述的突变体胚囊发育停止于某一明确的时期完全不同。因为延迟授粉试验能挽救部分*swa1*胚囊,并形成有功能的胚,所以认为*swa1*大孢子母细胞的核分裂是最终完成了,只是细胞周期被延长或推迟(Shi et al., 2005)。*SWA1*编码一种定位于细胞核的蛋白质,具有6个WD40重复单位,这可能在rRNA的生物合成中起作用,而这些rRNA是雌配子体发育中有丝分裂所必需的(Shi et al., 2005)。为什么rRNA生物合成这种全局性的改变仅仅特异地影响配子体发育,而对孢子体没有影响,这还有待进一步研究。

通过调查拟南芥的雌配子体发育的有丝分裂中止,人们鉴定出许多影响雌配子体发育的突变体。但是*rbr1*突变体却是一个例外,研究表明该突变体的雌配子体发育的有丝分裂并未被终止(Huang and Sheridan, 1996; Ebel et al., 2004; Evans, 2007)。在多细胞动物中,*pRB*是一个重要的细胞分裂负调控子,并通过抑制E2F转录因子,从而控制G1期与S期的转换。拟南芥的*rbr1*突变体,在未受精雌蕊的胚囊中发生过度的核分裂,结果*rbr1*雌配子体的珠孔端形成额外的细胞核,中央细胞核自主地开始胚乳发育,表明*RBR1*具有配子体发育的细胞周期调控功能和抑制胚乳的自主发育功能(Ebel et al., 2004)。玉米的*indeterminate gametophyte1 (ig1)*突变体也表现出与拟南芥*rbr1*相似的表现型,如雌配子体发育的胚囊中产生额外的核(Evans, 2007)。

## 2.2 调控胚囊细胞化的基因

在胚珠发育过程中,胚囊同步细胞化过程在时间和空间上需精确地调控,这对配子体细胞的功能分化是十分重要的。一些可能与这个过程有关的基因陆续报道,如拟南芥突变体*geminipollen2 (gem2)*,胚囊细胞化过程受影响,导致胚囊的珠孔端有5个细胞核,而合点端有3个细胞核,且细胞的界限不明显,核之间观察到部分地细胞化。多数成熟的突变体胚囊有一至两个异常大的核,其由珠孔端3个核融合而成(Park et al., 2004)。可是,*gem2*植

株的花粉发育中表现出各种各样的细胞分裂异常,如核不对称分裂和胞质不完全分裂,总而言之,*GEM2*基因对协调配子体发育的核分裂和胞质分裂具有重要作用(Park et al., 2004)。

此外,拟南芥*gem1/mor1*和*two in one (tio)*突变体表现出与*gem2*相似的,或更是突变为严重的表型。*GEM1/MOR1*编码一种微管相关蛋白(Twell et al., 2002),而*TIO*编码一个基本的成膜体相关蛋白,其与动物的FUSED(Fu)Ser/Thr蛋白激酶同源,与hedgehog信号复合体组成有关。*GEM1/MOR1*和*TIO*对体细胞与生殖细胞细胞板形成有相同的影响,*tio*突变体的花粉形成了位置正确的不完全的细胞板,表明*TIO*基因对细胞板形成的定位和建立并不是必需的,但对细胞板的延伸有特殊的作用(Oh et al., 2005)。

敲除编码 $\gamma$ 微管蛋白的*TUBG1*和*TUBG2*基因,导致胚囊的无细胞化,其细胞核在形态、位置以及数量的都出现异常(Pastuglia et al., 2006)。植物细胞中,胞浆分裂过程的成膜体和细胞板的侧向扩展由kinesin-MAPKKK途径调控,两个类kinesin蛋白AtNACK1和AtNACK2突变后,与之结合并激活MAPKK激酶NPK1,导致不正确的核定位和形成无功能的配子体(Tanaka et al., 2004)。因此,这些基因在成膜体的定位和细胞板的扩展中都有作用,从而控制胚囊的细胞化过程。但是,细胞板扩展的表型与核分裂的异常存在怎样的关系还不清楚。

## 2.3 与雌性生殖元件(Functional female germ unit)相关的基因

拟南芥*GAMETE EXPRESSED3 (GEX3)*在雌配子体的卵细胞和花粉中特异表达,*GEX3*编码一种定位于细胞质膜的未知蛋白。*GEX3*的基因敲除和超表达,结果使雌配子体对花粉管在珠孔端的引导发生偏离,这证明了雌配子体的卵细胞除了参与受精外还能控制对花粉管的引导,但至今这一机制的原因还不清楚(Alandete-Saez et al., 2008)。

助细胞也是雌性生殖元件中重要成员,与卵细胞并排位于胚囊的珠孔端。当花粉管到达时,常常两个助细胞中的一个会死亡。助细胞的功能主要是引导和识别花粉管、释放和运输精细胞。因此,与该过程相关的某些基因会在助细胞中表达。拟南芥突变体*myb98*的助细胞没有形成丝状器,但是胚珠的其他方面并没有异常,推测*MYB98*可能与助细胞的丝状器形成有关(Kasahara et al., 2005)。*MYB98*

编码 R2R3 型 MYB 转录因子, 其与一特异的 DNA 序列 TAAC 相结合, 调控某类编码分泌蛋白的基因, 而这种蛋白正是与丝状器发生作用的。助细胞在吸引和识别花粉管的过程中, 会分泌某种花粉管识别信号并接纳花粉管(Punwani et al., 2007)。Higashiyama 等(2001)对植物蓝猪耳(*T. fournieri*)的胚囊进行激光切除试验, 证实了必需由助细胞来引导花粉管, 而不是其他雌配子体细胞。助细胞在花粉管的接收中也有重要作用。拟南芥的 *FERONA/SIRENE(FER/SRN)* 基因是助细胞与花粉管的识别应答中的重要基因。突变体 *fer/srn* 的胚珠中, 花粉管能进入助细胞且在胚囊中过度生长(Huck et al., 2003; Rotman et al., 2003), 说明 *FER/SRN* 对接纳花粉管有重要作用。*FER* 编码一种 LRR-RLK, 在助细胞的质膜上积累(Escobar-Restrepo et al., 2007)。助细胞与花粉管信号识别有关, 能启动受精准备, 中止花粉管的继续生长。观察拟南芥突变体 *lorelei(lre)*, 发现进入胚囊的花粉管常常不破裂, 而是在胚囊中不断的生长, 这与突变体 *fer* 的表型相类似(Yu et al., 2005)。拟南芥的 *anxur1/anxur2* 双突变体, 花粉管在到达助细胞前就发生破裂。*ANXUR1* 和 *ANXUR2* 基因都是一种在花粉管中特异表达的编码类受体激酶(Miyazaki et al., 2009)。另外 *ABERRANT PEROXISOME MORPHOLOGY2/ABSTINENCE BY MUTUAL CONSENT (APM2/AMC)* 基因也是过氧化物酶转运所需要的, 一旦缺失会影响花粉管的接纳(Boisson-Dernier et al., 2008)。助细胞死亡是受精过程中共同的现象, 许多植物中都有报道, 常常是助细胞液泡的消失、细胞体积的剧烈缩小和原生质膜和细胞器的完全降解。如拟南芥中, 助细胞死亡开始于花粉管到达时, 在花粉管内容物释放前完成, 在突变体 *gfa2* 的胚珠中, 极核未能融合但助细胞一直存在直至授粉, 胚珠可吸引花粉管但不能完成受精(Christensen et al., 2002), 说明受精过程中的助细胞死亡并不是一定会发生, *GFA2* 基因可促进助细胞死亡, *GFA2* 编码定位于线粒体的具有 DnaJ domain-containing 蛋白, 与酵母的 Mdj1p 蛋白相似。

有关中央细胞的发育和分化的分子机理了解不多。Steffen 等(2008)报道了拟南芥突变体 *diana* (*dia, agl61*) 的中央细胞的极核不发生融合, 中央细胞的形态异常。胚囊能够吸引花粉管, 但是中央细胞的受精不能完成。*DIA* 基因在中央细胞后期阶段

表达, *DIA* 蛋白定位于极核和中央细胞核。由此认为, *DIA* 基因是中央细胞分化和功能实现所必需的。*DIA* 蛋白是具有 AGL80 结构的异质二聚体。由于突变体 *agl80* 中 *DIA* 蛋白无法定位于细胞核, 推测 AGL80 结构行使 *DIA* 蛋白核定位功能。*AGL80* 基因在极核和中央细胞的次生核中表达, 因此, 拟南芥 *AGL80/FEM111* 基因突变后会特异地影响到中央细胞的成熟, 极核和液泡的不能成熟导致受精后胚乳发育中止, 但卵细胞、助细胞和反足细胞都能正常发育(Portereiko et al., 2006)。拟南芥另一突变体 *magatama3(maa3)*, 与野生型相比, 其胚珠中的极核授粉时虽能融合, 但极核的细胞核较小, 缺少液泡化结构。结果突变体的中央细胞发育中止, 最终导致珠孔无法引导花粉管进入。*MAA3* 基因编码与酵母物种同源的 SPLICING ENDONUCLEASE1 (SEN1) 解旋酶参与许多 RNA 的加工过程, 推测 *MAA3* 基因可能调控 RNA 代谢过程参与中央细胞的核仁组织和珠孔引导花粉管(Portereiko, 2006)。在突变体 *central cell guidance (ccg)* 中, 中央细胞发育不受影响, 没有任何形态上的异常, 但中央细胞不能引导花粉管, *CCG* 基因编码一种核蛋白在成熟胚囊的中央细胞中特异表达, 推测 *CCG* 基因参与调控中央细胞参与的花粉管导入的一系列基因表达(Chen et al., 2007)。研究发现, 许多拟南芥的极核融合异常的突变体, 其往往是编码线粒体蛋白的, 如 *GLUCOSE 6-PHOSPHATE/ PHOSPHATE TRANSLOCATOR1 (GPT1)* 中止了中央细胞的极核融合(Niewiadowski, 2005), 其一可能是中央细胞需要发育成具有如此巨大的细胞质, 其所需的呼吸作用较强有关; 或者是细胞内细胞器基因组与核基因组的反馈机制协同作用调控了中央细胞的发育。已有的报道认为 *GFA2* 与极核的膜融合有关, 突变体 *gfa2* 核膜不能正常融合(Christensen et al., 2002), *MEDEA(MEA)* 是多对植物早期胚乳发育的启动有重要作用的基因, 其编码具有 SET 结构域的 Polycomb 蛋白(Kinoshita, 1999)。而 *glauce (glc)* 突变体的极核的融合是正常的, 但形成的中央细胞不能受精, 进一步的遗传分析表明 *GLC* 对 *MEA* 有上位性作用, *GLC* 对中央细胞的受精过程有重要作用(Ngo et al., 2007)。

### 3 小结

随着对拟南芥和玉米的雌雄配子发育的生物学和分子遗传学研究的深入, 初步了解了参与调控



拟南芥和玉米雌雄配子发育的相关基因, 为阐明植物生殖发育的分子机理提供了理论依据。水稻是植物分子遗传的主要模式作物, 研究水稻的配子体发育对阐明植物生殖生物学, 了解雌雄配子发育过程中基因调控的时空特征和对杂交水稻的品种改良等都具有重要意义。目前, 对水稻雌性不育的研究主要集中在细胞学分析, 而遗传学和分子生物学研究还较少。因此, 有必要充分利用水稻中有特点的遗传突变材料, 开展水稻雌性不育的分子生物学和分子遗传学研究, 通过分析不育突变体的基因本质, 克隆基因并研究其表达的时空特性, 分离这些相互作用的蛋白, 绘制雌性发育调控网络, 为雌性不育的调控和利用提供理论依据。

植物雌性不育是植物进化过程中的一种特有表现, 其与雄性不育基因或单独作用或共同作用, 使植物育性下降, 甚至不结实, 这是植物保持生殖隔离、防止种性退化的一种有效手段。科学家一方面努力探究植物配子体发生过程中, 生殖细胞系、配子细胞功能化和细胞互作的细胞学分子机理和分子遗传信号传导机制, 提示植物生殖发育过程中令人叹为观止的惟妙惟肖画卷。另一方面, 通过发掘和研究雌性不育资源, 科学家也设想可否利用雌性不育材料无法自交结实的特点, 杂种优势利用中, 将其导入恢复系, 使恢复系只提供花粉而不能自交结实, 为杂交种优势利用的机械化生产杂交种提供可能。这一技术的应用前景十分喜人, 一些育种家正在致力于相关材料的培育, 可望在不久的将来可以进行试验示范。

### 作者贡献

王曦是本文第一作者, 参与论文写作与修改。王建军研究员是项目的构思者和负责人, 参与论文整理与修改。勾晓霞参与图片搜集工作。全体作者都阅读并同意最终的文本。

### 致谢

本研究由国家自然科学基金重点项目(30730064)、国家转基因生物新品种培育科技重大专项(2011ZX08009-003-001)、浙江省重大专项(0406计划)(2011C12901-2)和浙江省农科院科研类专项资助。作者感谢导师浙江省农业科学院作物与核技术利用研究所王建军研究员在本文撰写过程中的帮助。感谢两位匿名的同行评审人的评审建议和修改建议。

### 参考文献

Agashe B., Prasad C.K., and Siddiqi I., 2002, Identification and analysis of *DYAD*: a gene required for meiotic chromosome

organization and female meiotic progression in *Arabidopsis*, *Development*, 129: 3935-3943

Akutsu N., Iijima K., Hinata T., and Tauchi H., 2007, Characterization of the plant homolog of Nijmegen breakage syndrome 1: Involvement in DNA repair and recombination, *Biochem Biophys Res Commun*, 353: 394-398 <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbrc.2006.12.030> PMID: 17182003

Alandete-Saez M., Ron M., and McCormick S., 2008, *GEX3*, expressed in the male gametophyte and in the egg cell of *Arabidopsis thaliana*, is essential for micropylar pollen tube guidance and plays a role during early embryogenesis, *Molecular Plant*, 1: 586-598 <http://dx.doi.org/10.1093/mp/ssp015> PMID:19825564

Armstrong S.J., Caryl A.P., Jones G.H., and Franklin C.H., 2002, *Asy1*, a protein required for meiotic chromosome synapsis, localizes to axis-associated chromatin in *Arabidopsis* and *Brassica*, *Journal of Cell Science*, 115: 3645-3655 <http://dx.doi.org/10.1242/jcs.00048> PMID:12186950

Azumi Y., Liu D., Zhao D., Li W., Wang G., Hu Y., and Ma H., 2002, Homolog interaction during meiotic prophase I in *Arabidopsis* requires the *SOLO DANCERS* gene encoding a novel cyclin-like protein, *EMBO Journal*, 21: 3081-3095 <http://dx.doi.org/10.1093/emboj/cdf285> PMID:12065421 PMID:126045

Bai X.F., Peirson B.N., Dong F.G., Xue C., and Makaroff C.A., 1999, Isolation and characterization of *SYN1*, a *RAD21*-like gene essential for meiosis in *Arabidopsis*, *The Plant Cell*, 11: 417-430 <http://dx.doi.org/10.1105/tpc.11.3.417> <http://dx.doi.org/10.2307/3870870> PMID:10072401 PMID:144192

Bhatt A.M., Lister C., Page T., Fransz P., Findlay K., Jones G.H., Dickinson H.G., and Dean C., 1999, The *DIF1* gene of *Arabidopsis* is required for meiotic chromosome segregation and belongs to the *REC8/RAD21* cohesin gene family, *The Plant Journal*, 19: 463-472 <http://dx.doi.org/10.1046/j.1365-3113X.1999.00548.x> PMID:10504568

Bleuward J.Y., and White C.I., 2004, The *Arabidopsis* homologue of *Xrcc3* plays an essential role in meiosis, *EMBO Journal*, 23: 439-449 <http://dx.doi.org/10.1038/sj.emboj.7600055> PMID:14726957 PMID:1271761

Boisson-Dernier A., Frietsch S., Kim T.H., Dizon M.B., and Schroeder J.I., 2008, The Peroxin loss-of-function mutation abstinence by mutual consent disrupts male-female gametophyte recognition, *Current Biology*, 18: 63-68 <http://dx.doi.org/10.1016/j.cub.2007.11.067> PMID:18160292 PMID:2278027

Byzova M.V., Franken J., Aarts M.G., de Almeida-Engler J., Engler G., Mariani C., Van Lookeren Campagne M.M.,

- and Angenent G.C., 1999, *Arabidopsis* *STERILE APETALA*, a multifunctional gene regulating inflorescence, flower, and ovule development, *Genes and Development*, 13: 1002-1014 <http://dx.doi.org/10.1101/gad.13.8.1002>
- Caryl A.P., Armstrong S.J., Jones G.H., and Franklin F.C., 2000, A homologue of the yeast *HOP1* gene is inactivated in the *Arabidopsis* meiotic mutant *asy1*, *Chromosoma*, 109: 62-71 <http://dx.doi.org/10.1007/s004120050413> PMID: 10855496
- Chang Y.X., Gong L., Yuan W.Y., Chen G.X., Li X.H., and Zhang Q.F., 2009, replication protein A (RPA1a) is required for meiotic and somatic DNA repair but is dispensable for dna replication and homologous recombination in rice, *Plant Physiology*, 151(4): 2162-2173 <http://dx.doi.org/10.1104/pp.109.142877> PMID:19812186 PMCid: 2785997
- Chen Y.H., Li H.J., Shi D.Q., Yuan L., Liu J., Sreenivasan R., Baskar R., Grossniklaus U., and Yang W.C., 2007, The central cell plays a critical role in pollen tube guidance in *Arabidopsis*, *The Plant Cell*, 19: 3563-3577 <http://dx.doi.org/10.1105/tpc.107.053967> PMID:18055609 PMCid: 2174880
- Christensen C.A., King E., Jordan J.R., and Drews G.N., 1997, Megagametogenesis in *Arabidopsis* wild type and the *Gf* mutant, *Sex, Plant Reprod*, 10: 49-64 <http://dx.doi.org/10.1007/s004970050067>
- Christensen C.A., Subramanian S., and Drews G.N., 1998, Identification of gametophytic mutations affecting female gametophyte development in *Arabidopsis*, *Development Biology*, 202: 136-151 <http://dx.doi.org/10.1006/dbio.1998.8980> PMID:9758709
- Christensen C.A., Gorsich S.W., Brown R.H., Jones L.G., Brown J., Shaw J.M., and Drew G.N., 2002, Mitochondrial *GFA2* is required for synergid cell death in *Arabidopsis*, *The Plant Cell*, 14: 2215-2232 <http://dx.doi.org/10.1105/tpc.002170> PMCid:150766
- Colombo M., Masiero S., Vanzulli S., Lardelli P., Kater M.M., Colombo L., 2008, *AGL23*, a type I MADS-box gene that controls female gametophyte and embryo development in *Arabidopsis*, *The Plant Journal*, 54:1037-1048 <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-313X.2008.03485.x> PMID: 18346189
- Couteau F., Belzile F., Horlow C., Grandjean O., Vezon D., and Doutriaux M.P., 1999, Random chromosome segregation without meiotic arrest in both male and female meiocytes of a *dmc1* mutant of *Arabidopsis*, *The Plant Cell*, 11: 1623-1634 <http://dx.doi.org/10.2307/3871042> PMID: 10488231 PMCid:144309 <http://dx.doi.org/10.1105/tpc.11.9.1623>
- Ebel C., Mariconti L., and Gruissem W., 2004, Plant retinoblastoma homologues control nuclear proliferation in the female gametophyte, *Nature*, 429: 776-780 <http://dx.doi.org/10.1038/nature02637> PMID:15201912
- Escobar-Restrepo J.M., Huck N., Kessler S., Gagliardini V., Gheyselinck J., Yang W.C., and Grossniklaus U., 2007, The FERONIA receptor-like kinase mediates male-female interactions during pollen tube reception, *Science*, 317: 656-660 <http://dx.doi.org/10.1126/science.1143562> PMID: 17673660
- Evans M.M., 2007, The indeterminate *gametophyte1* gene of maize encodes a LOB domain protein required for embryo Sac and leaf development, *The Plant Cell*, 19: 46-62 <http://dx.doi.org/10.1105/tpc.106.047506> PMID:17209126 PMCid:1820972
- Feldmann K.A., Coury D.A., and Christianson M.L., 1997, Exceptional segregation of a selectable marker (KanR) in *Arabidopsis* identifies genes important for gametophytic growth and development, *Genetics*, 147: 1411-1422 PMID:9383081 PMCid:1208262
- Gallego M.E., Jeanneau M., Granier F., Bouchez D., Bechtold N., and White C.I., 2001, Disruption of the *Arabidopsis* *RAD50* gene leads to plant sterility and MMS sensitivity, *The Plant Journal*, 25: 31-41 <http://dx.doi.org/10.1046/j.1365-313x.2001.00928.x> PMID:11169180 <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-313X.2001.00928.x>
- Gallego M.E., and White C.I., 2001, *RAD50* function is essential for telomere maintenance in *Arabidopsis*, *PNAS*, 98: 1711-1716 <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.98.4.1711> PMID:11172016
- Grant-Downton R., and Dickinson H., 2007, Germlines: Argonauts go full cycle, *Current Biology*, 17: R920 <http://dx.doi.org/10.1016/j.cub.2007.09.001> PMID:17983568
- Grelon M., Vezon D., Gendrot G., and Pelletier G., 2001, *AtSPO11-1* is necessary for efficient meiotic recombination in plants, *EMBO Journal*, 20: 589-600 <http://dx.doi.org/10.1093/emboj/20.3.589> PMID:11157765 PMCid: 133473
- Hershko A., Ganoth D., Pehrson J., Palazzo R.E., and Cohen L.H., 1991, Methylated ubiquitin inhibits cyclin degradation in clam embryo extracts, *The Journal of Biological Chemistry*, 266: 16376-16379 PMID:1653232
- Higashiyama T., Yabe S., Sasaki N., Nishimura Y., Miyagishima S.Y., Kuroiwa H., and Kuroiwa T., 2001, Pollen tube attraction by the synergid cell, *Science*, 293:1480-1483 <http://dx.doi.org/10.1126/science.1062429> PMID:11520985
- Hollingsworth N.M., Goetsch L., and Byers B., 1990, The *HOP1* gene encodes a meiosis-specific component of

- yeast chromosomes, *Cell*, 61: 73-84 [http://dx.doi.org/10.1016/0092-8674\(90\)90216-2](http://dx.doi.org/10.1016/0092-8674(90)90216-2)
- Huang B.Q., and Sheridan W.F., 1996, Embryo sac development in the Maize indeterminate *gametophyte1* mutant: abnormal nuclear behavior and defective microtubule organization, *The Plant Cell*, 8: 1391-1407 <http://dx.doi.org/10.2307/3870309> PMID:12239418 PMCID:161260 <http://dx.doi.org/10.1105/tpc.8.8.1391> PMID:12239418
- Huck N., Moore J.M., Federer M., and Grossniklaus U., 2003, The *Arabidopsis* mutant *feronia* disrupts the female gametophytic control of pollen tube reception, *Development*, 130: 2149-2159 <http://dx.doi.org/10.1242/dev.00458> PMID:12668629
- Iftode C., Daniely Y., and Borowiec J.A., 1999, Replication protein A (RPA): the eukaryotic SSB, *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology*, 34: 141-180 <http://dx.doi.org/10.1080/10409239991209255> PMID:10473346
- Ito T., Wellmer F., Yu H., Das P., Ito N., Ferreira M.A., Riechmann J.L., and Meyerowitz E.M., 2004, The homeotic protein AGAMOUS controls microsporogenesis by regulation of SPOROCTELESS, *Nature*, 430: 356-360 <http://dx.doi.org/10.1038/nature02733> PMID:15254538
- Kasahara R.D., Portereiko M.F., Sandaklie-Nikolova L., Rabiger D.S., and Drews G.N., 2005, *MYB98* is required for pollen tube guidance and synergid cell differentiation in *Arabidopsis*, *The Plant Cell*, 17: 2981-2992 <http://dx.doi.org/10.1105/tpc.105.034603> PMID:16214903 PMCID:1276024
- 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 [http://dx.doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)81876-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0092-8674(00)81876-0)
- Kwee H.S., and Sundaresan V., 2003, The *NOMEGA* gene required for female gametophyte development encodes the putative APC6/CDC16 component of the Anaphase Promoting Complex in *Arabidopsis*, *The Plant Journal*, 36: 853-866 <http://dx.doi.org/10.1046/j.1365-313X.2003.01925.x> PMID:14675450
- Lin H., 2007, piRNA in the germ line, *Science*, 316: 397 <http://dx.doi.org/10.1126/science.1137543> PMID:17446387
- Miyazaki S., Murata T., Sakurai-Ozato N., Kubo M., Demura T., Fukuda H., and Hasebe M., 2009, *ANXURI* and 2, sister genes to *FERONIA/SIRENE*, are male factors for coordinated fertilization, *Current Biology*, 19: 1327-1331 <http://dx.doi.org/10.1016/j.cub.2009.06.064> PMID:19646876
- Moore J.M., Calzada J.P., Gagliano W., and Grossniklaus U., 1997, Genetic characterization of *hadad*, a mutant disrupting female gametogenesis in *Arabidopsis thaliana*, Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology, 62: 35-47 <http://dx.doi.org/10.1101/SQB.1997.062.01.007> PMID:9598334
- Motamayor J.C., Vezon D., Bajon C., Sauvanet A., Grandjean O., Marchand M., Bechtold N., Nonomura K., Nakano M., Fukuda T., Eiguchi M., Miyao A., Hirochika H., and Kurata N., 2004, The novel gene *HOMOLOGOUS PAIRING ABERRATION IN RICE MEIOSIS1* of rice encodes a putative coiled-coil protein required for homologous chromosome pairing in meiosis, *The Plant Cell*, 16: 1008-1020 <http://dx.doi.org/10.1105/tpc.020701> PMID:15031413 PMCID:412873
- Nasmyth K., 2001, Disseminating the genome: joining, resolving and separating sister chromatids during mitosis and meiosis, *Annual Review of Genetics*, 35: 673-745 <http://dx.doi.org/10.1146/annurev.genet.35.102401.091334> PMID:11700297
- Ngo Q.A., Moore J.M., Baskar R., Grossniklaus U., and Sundaresan V., 2007, *Arabidopsis* GLAUCE promotes fertilization-independent endosperm development and expression of paternally inherited alleles, *Development*, 134: 4107-4117 <http://dx.doi.org/10.1242/dev.007310> PMID:17965055
- Niewiadomski P., Knappe S., Geimer S., Fischer K., Schulz B., Unte U.S., Rosso M.G., Ache P., Flügge U.I., and Schneider A., 2005, The *Arabidopsis* plastidic glucose 6-phosphate/phosphate translocator GPT1 is essential for pollen maturation and embryo sac development, *The Plant Cell*, 17: 760-775 <http://dx.doi.org/10.1105/tpc.104.029124> PMID:15722468 PMCID:1069697
- Nonomura K.I., Morohoshi A., Nakano M., Eiguchi M., Miyao A., Hirochika H., and Kurata N., 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, *The Plant Cell*, 19: 2583-2594 <http://dx.doi.org/10.1105/tpc.107.053199> PMID:17675402 PMCID:2002623
- Nonomura K.I., Nakano M., Eiguchi M., Suzuki T., and Kurata N., 2006, *PAIR2* is essential for homologous chromosome synapsis in rice meiosis I, *The Journal of Cell Science*, 119: 217-225 <http://dx.doi.org/10.1242/jcs.02736> PMID:16410547
- Nonomura K.I., Nakano M., Fukuda T., Eiguchi M., Miyao A., Hirochika H., and Kurata N., 2004, 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 <http://dx.doi.org/10.1105/tpc.020701> PMID:15031413 PMCID:412873
- Oh S.A., Johnson A., Smertenko A., Rahman D., Park S.K., Hussey P.J., and Twell D., 2005, A divergent cellular role for the FUSED kinase family in the plant-specific cytokinetic phragmoplast, *Current Biology*, 15: 2107-2111 <http://dx.doi.org/10.1016/j.cub.2005.10.044> PMID:16332535
- Park S.K., Rahman D., Oh S.A., and Twell D., 2004, Gemini pollen 2, a male and female gametophytic cytokinesis defective mutation, *Sex, Plant Reprod*, 17:63-70 <http://dx.doi.org/10.1007/s00497-004-0216-x> PMID:17464359 PMCID: 1855439
- Pastuglia M., Azimzadeh J., Goussot M., Camilleri C., Belcram K., Evrard J.L., Schmit A.C., Guerche P., and Bouchez D., 2006,  $\gamma$ -Tubulin is essential for microtubule organization and development in *Arabidopsis*, *The Plant Cell*, 18: 1412-1425 <http://dx.doi.org/10.1105/tpc.105.039644> PMID: 16698945 PMCID:1475493
- Pawlowska P.W., Wang C.J.R., Golubovskaya I.N., Szymaniaka J.M., Shi L., Hamant O., Zhu T., Harper L., Sheridan W.F., and Cande W.Z., 2009, Maize AME10TIC1 is essential for multiple early meiotic processes and likely required for the initiation of meiosis, *PNAS*, 106: 3603-3608 <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.0810115106> PMID:19204280 PMCID:2637902
- Peirson B.N., Owen H.A., Feldmann K.A., and Makaroff C.A., 1996, Characterization of three male-sterile mutants of *Arabidopsis thaliana* exhibiting alterations in meiosis, *Sex, Plant Reprod*, 9: 1-16 <http://dx.doi.org/10.1007/BF00230361>
- Portereiko M.F., Lloyd A., Steffen J.G., Punwani J.A., Otsuga D., and Drews G.N., 2006, AGL80 is required for central cell and endosperm development in *Arabidopsis*, *The Plant Cell*, 18: 1862-1872 <http://dx.doi.org/10.1105/tpc.106.040824> PMID:16798889 PMCID:1533969
- Puizina J., Siroky J., Mokros P., Schweizer D., and Riha K., 2004, Mre11 deficiency in *Arabidopsis* is associated with chromosomal instability in somatic cells and Spo11-dependent genome fragmentation during meiosis, *The Plant Cell*, 16: 1968-1978 <http://dx.doi.org/10.1105/tpc.104.022749> PMID:15258261 PMCID:519189
- Punwani J.A., Rabiger D.S., and Drews G.N., 2007, MYB98 positively regulates a battery of synergid-expressed genes encoding filiform apparatus-localized proteins, *The Plant Cell*, 19: 2557-2568 <http://dx.doi.org/10.1105/tpc.107.052076> PMID:17693534 PMCID:2002610
- Ravi M., Marimuthu M.P.A., and Siddiqi I., 2008, Gamete formation without meiosis in *Arabidopsis*, *Nature*, 451: 1121-1124 <http://dx.doi.org/10.1038/nature06557> PMID: 18272967
- Ronceret A., Doutriaux M.P., Golubovskaya I.N., and Pawlowski W.P., 2009, *PHS1* regulates meiotic recombination and homologous chromosome pairing by controlling the transport of RAD50 to the nucleus, *PNAS*, 106: 20121-20126 PMID:19918061 PMCID:2785302
- Ross K.J., Fransz P., Armstrong, S.J., Vizir I., Mulligan B., Franklin F.C., and Jones G.H., 1997, Cytological characterization of four meiotic mutants of *Arabidopsis* isolated from T-DNA-transformed lines, *Chromosome Research*, 5: 551-559 <http://dx.doi.org/10.1023/A:101849-7804129> PMID:9451956
- Rotman N., Rozier F., Boavida L., Dumas C., Berger F., and Faure J.E., 2003, Female control of male gamete delivery during fertilization in *Arabidopsis thaliana*, *Current Biology*, 13:432-436 [http://dx.doi.org/10.1016/S0960-9822\(03\)00093-9](http://dx.doi.org/10.1016/S0960-9822(03)00093-9)
- Schiefthaler U., Balasubramanian S., Sieber P., Chevalier D., Wisman E., and Schneitz K., 1999, Molecular analysis of *NOZZLE*, a gene involved in pattern formation and early sporogenesis during sex organ development in *Arabidopsis thaliana*, *PNAS*, 96: 11664-11669 <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.96.20.11664>
- Schommer C., Beven A., Lawrenson T., Shaw P., and Sablowski R., 2003, AHP2 is required for bivalent formation and for segregation of homologous chromosomes in *Arabidopsis* meiosis, *The Plant Journal*, 36: 1-11 <http://dx.doi.org/10.1046/j.1365-313X.2003.01850.x> PMID:12974806
- Sheridan W.F., Avalkina N.A., Shamrov I.I., Batygina T.B., and Golubovskaya I.N., 1996, The *mac1* gene: controlling the commitment to the meiotic pathway in maize, *Genetics*, 142: 1009-1020 PMID:8849906 PMCID:1207000
- Shi D.Q., Liu J., Xiang Y.H., Ye D., Sundaresan V., and Yang W.C., 2005, SLOW WALKER1, essential for gametogenesis in *Arabidopsis*, encodes a WD40 protein involved in 18S ribosomal RNA biogenesis, *The Plant Cell*, 17: 2340-2354 <http://dx.doi.org/10.1105/tpc.105.033563> PMID:15980260 PMCID:1182493
- Siaud N., Dray E., Gy I., Gerard E., Takvorian N., and Doutriaux M.P., 2004, Brca2 is involved in meiosis in *Arabidopsis thaliana* as suggested by its interaction with Dmc1, *EMBO Journal*, 23: 1392-1401 <http://dx.doi.org/10.1038/sj.emboj.7600146> PMID:15014444 PMCID:381417
- Siddiqi I., Ganesh G., Grossniklaus U., and Subbiah V., 2000, The *dyad* gene is required for progression through female meiosis in *Arabidopsis*, *Development*, 127:197-207 PMID:10654613
- Springer P.S., Holding D.R., Groover A., Yordan C., and Martienssen R.A., 2000, The essential Mcm7 protein

- PROLIFERA is localized to the nucleus of dividing cells during the G(1) phase and is required maternally for early *Arabidopsis* development, *Development*, 127: 1815-1822 PMID:10751170
- Springer P.S., McCombie W.R., Sundaresan V., and Martienssen R.A., 1995, Gene trap tagging of *PROLIFERA*, an essential *MCM2-3-5*-like gene in *Arabidopsis*, *Science*, 268: 877-880 <http://dx.doi.org/10.1126/science.7754372> PMID:7754372
- Stacey N.J., Kuromori T., Azumi Y., Roberts G., Breuer C., Wada T., Maxwell A., Roberts K., and Sugimoto-Shirasu K., 2006, *Arabidopsis SPO11-2* functions with *SPO11-1* in meiotic recombination, *The Plant Journal*, 48: 206-216 <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-313X.2006.02867.x> PMID:17018031
- Steffen J.G., Kang I.H., Portereiko M.F., Lloyd A., and Drews G.N., 2008, *AGL61* interacts with *AGL80* and is required for central cell development in *Arabidopsis*, *Plant Physiology*, 148: 259-268 <http://dx.doi.org/10.1104/pp.108.119404> PMID:18599653 PMCid:2528130
- Tanaka H, Ishikawa M, Kitamura S, Takahashi Y, Soyano T, Machida C., and Machida Y., 2004, The *AtNACK1/HINKEL* and *STUD/TETRASPORE/AtNACK2* genes, which encode functionally redundant kinesins, are essential for cytokinesis in *Arabidopsis*, *Genes Cell*, 9: 1199-1211 <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2443.2004.00798.x> PMID:15569152
- Twell D., Park S.K., Hawkins T.J., Schubert D., Schmidt R., Smertenko A., and Hussey P.J., 2002, *MORI/GEM1* has an essential role in the plant-specific cytokinetic phragmoplast, *Nature Cell Biology*, 4:711-714 <http://dx.doi.org/10.1038/ncb844> PMID:12198497 PMCid:1802096
- Wang K.J., Tang D., Wang M., Lu J.F., Yu H.X., Liu J.F., Qian B.X., Gong Z.Y., Wang X., Chen J.M., Gu M.H., and Cheng Z.K., 2009, *MER3* is required for normal meiotic crossover formation, but not for presynaptic alignment in rice, *Journal of Cell Science*, 122: 2055-2063 <http://dx.doi.org/10.1242/jcs.049080> PMID:19470578
- Wang M., Wang K.J., Tang D., Wei C.X., Li M., Shen Y., Chi Z.C., Gu M.H., Cheng Z.K., 2010, The Central Element Protein ZEP1 of the Synaptonemal Complex Regulates the Number of Crossovers during Meiosis in Rice, *The Plant Cell*, 22(2): 417-430 <http://dx.doi.org/10.1105/tpc.109.070789> PMID:20154151 PMCid:2845403
- Wold M.S., 1997, Replication protein A: a heterotrimeric, single-stranded DNA-binding protein required for eukaryotic DNA metabolism, *Annual Review of Biochemistry*, 66: 61-92 <http://dx.doi.org/10.1146/annurev.biochem.66.1.61> PMID:9242902
- Yang W.C., and Sundaresan V., 2000, Genetics of gametophyte biogenesis in *Arabidopsis*, *Current Opinion in Plant Biology*, 3: 53-57 [http://dx.doi.org/10.1016/S1369-5266\(99\)00037-0](http://dx.doi.org/10.1016/S1369-5266(99)00037-0)
- Yang W.C., Ye D., Xu J., and Sundaresan V., 1999, The *SPOROCYTELESS* gene of *Arabidopsis* is required for initiation of sporogenesis and encodes a novel nuclear protein, *Genes and Development*, 13: 2108-2117 <http://dx.doi.org/10.1101/gad.13.16.2108>
- Yu H., Wang M., Tang D., Wang K., Chen F., Gong Z., Gu M., and Cheng Z., 2010, OsSPO11-1 is essential for both homologous chromosome pairing and crossover formation in rice, *Chromosoma*, 119: 625-636 <http://dx.doi.org/10.1007/s00412-010-0284-7> PMID:20625906
- Yu H.J., Hogan P., Sundaresan V., 2005, Analysis of the female gametophyte transcriptome of *Arabidopsis* by comparative expression profiling, *Plant Physiol*, 139: 1853-1869 <http://dx.doi.org/10.1104/pp.105.067314> PMID:16299181 PMCid:1310564
- Yuan W.Y., Li X.W., Chang Y.X., Wen R.Y., Chen G.X., Zhang Q.F., and Wu C.Y., 2009, Mutation of the rice gene *PAIR3* results in lack of bivalent formation in meiosis, *The Plant Journal*, 59: 303-315 <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-313X.2009.03870.x> PMID:19392701
- Zachariae W., and Nasmyth K., 1999, Whose end is destruction: cell division and the anaphase-promoting complex, *Genes & Development*, 13: 2039-2058 <http://dx.doi.org/10.1101/gad.13.16.2039>