

■原 著■ 2006 年度神奈川大学総合理学研究所助成共同研究

## シロイヌナズナの生殖過程に異常のある変異体の染色体解析 II

酒井麻美<sup>1</sup> 黒森 崇<sup>2</sup> 松永幸大<sup>3</sup> 安積良隆<sup>1,4</sup>

### Analysis of Chromosome Behavior of *Arabidopsis* Mutants Defective in Reproductive Processes II

Asami Sakai<sup>1</sup>, Takashi Kuromori<sup>2</sup>, Sachihiko Matsunaga<sup>3</sup> and Yoshitaka Azumi<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup> Department of Biological Sciences, Faculty of Science, Kanagawa University, Hiratsuka-City, Kanagawa 259-1293, Japan

<sup>2</sup> Plant Functional Genomics Group, RIKEN Genomic Science Center, RIKEN, Yokohama Institute, 1-7-22 Suehiro-cho, Tsurumi-ku, Yokohama, Kanagawa 230-0045, Japan

<sup>3</sup> Department of Biotechnology, Graduate School of Engineering, Osaka University, 2-1 Yamadaoka, Suita-ku, Osaka, Osaka 565-0871, Japan

<sup>4</sup> To whom correspondence should be addressed. E-mail: adumiy01@kanagawa-u.ac.jp

**Abstract:** In a previous work, we showed that a mutation in *AtSPO11-2* resulted in the production of abnormal sterile pollens and that *AtSPO11-2* protein was required for meiotic homologous recombination. *Atspo11-2* mutant was used with other meiotic mutants to examine the regulatory system of centromere roles during meiosis in this research. Yeast and *Arabidopsis* centromeres have been shown to couple with each other at early prophase I to promote homolog pairing, and to direct the polarity of sister chromatids at metaphase I. The present research revealed that centromere coupling at early prophase I was independent of meiotic homologous recombination, but that the decision of sister centromere polarity was dependent on recombination.

**Keywords:** *Arabidopsis thaliana*, meiosis, homologous chromosome, centromere, DAPI (4',6-diamino-2-phenylindole), FISH (fluorescent *in situ* hybridization), MHR (meiotic homologous recombination)

## 序論

有性生殖を行う生物にとって減数分裂は、その種のゲノムを構成する染色体の数を一定に保つために絶対的に必要な過程である。この過程を経なければ受精が起こる度に染色体数が倍加してしまう。減数分裂は有性生殖を可能にし、これを行う生物の発展に大きく貢献しているが、染色体数を半減させるという危険の伴う作業を遂行している。この作業の安全性を確保するためには、減数分裂を構成するそれぞれの素過程は正確な順序とタイミングで進行しなければならず、その進行を監視・調節する制御機構が存在すると考えられている。

減数分裂は大きく分けて第一分裂と第二分裂の 2 つの過程からなる。この 2 つの分裂は、一度の染色体複製の後、連続して起こる。それぞれ分裂は、前期、中期、後期、終期からなり、第一分裂では相同染色体が分離し、第二分裂では姉妹染色体が分離する。その結果、1 つの 2n の母細胞から 4 つの n の

娘細胞が作られる。減数分裂の最大の特徴である相同染色体の対合と分離は第一分裂前期から後期にかけて起こる。減数第一分裂の前期は 5 つの時期に分けられる。染色体が細い糸状に見える細糸期(レプトテン期)。相同染色体がペアリングし始める合糸期(ザイゴテン期)。完成したシナプトネマ構造を介して相同染色体同士が端から端まで互いに接着する太糸期(パキテン期)。シナプトネマ構造が崩壊しながらもキアズマによって連結を維持し、染色体がさらに凝縮する複糸期(ディプロテン期)。凝縮が完成し、二価染色体として観察される移動期(ディアキネシス期)。第一分裂中期には赤道面に 5 つの二価染色体が整列する。第一分裂後期には、それぞれの二価染色体を構成する相同染色体は互いに別の極へと分配され、第一分裂で形成される 2 つの娘細胞は必ず全ての相同染色体対から 1 つだけ染色体を受け取り、染色体数が正確に半減した細胞となる。つま

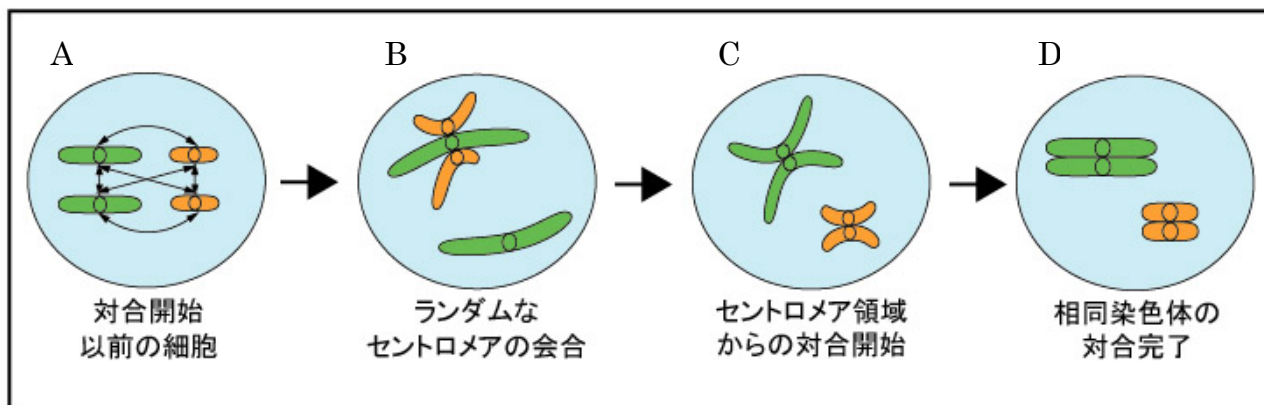


図 1. 相同染色体の対合過程の模式図. A. 相同染色体の対合が開始されるレプトテン期にはセントロメア同士が親和性を持つようになる. B. レプトテン期からザイゴテン期にかけて無差別なセントロメア同士の接着が起こる. C. ザイゴテン期にはセントロメア領域から対合が始まる. D. パキテン期には相同染色体の対合が完成する.

りこれが 5 本の染色体が重複することも、欠落することもなく、均等に分配されるための仕組みである

相同染色体の対合が完成するまでは、テロメアの集合（クラスタリング）、相同染色体の並列（alignment, juxtaposition）、減数分裂期相同組換え（meiotic homologous recombination, MHR）、シナプトネマ構造の完成（シナプシス、synapsis）といった過程がある。これに加え最近では、図 1 に示すような、レプトテン期からザイゴテン期にかけてのセントロメア同士の会合とでも呼ぶべき、セントロメア同士が無作為に接着し合う過程があり、相同染色体の対合に促進効果を及ぼしているのではないかと考えられてきている<sup>1)</sup>。酵母ではこの時、概ね 2 つのセントロメアが接着しているため、カップリングと呼ばれている。しかし、シロイヌナズナの場合、2 つ以上のセントロメアが接着するため、我々は会合と呼んでいる。いずれにしても、相同染色体の並列、会合、シナプシス、MHR の各過程間の相互依存性については詳しく調べられておらず、興味を持たれる。

図 2 に示すようにセントロメアは染色体分配において、それぞれの染色体の方向性を決定するという重要な働きをする。体細胞分裂時には姉妹セントロメアは異なる極に配向し、染色体を均等分配する。第一分裂中期の二価染色体を形成する相同染色体の相同セントロメアは互いに異なる極に配向する（二極性、bipolar orientation）ように制御されており、染色体は還元分配される<sup>2)</sup>。同時にそれぞれの染色体の姉妹セントロメアは同じ極に配向するように制御されている（一極性、monopolar orientation）。この配向性の制御に狂いが生じると染色体を適切に分配することができなくなる。また、この配向性の制御にも、MHR が関与している可能性が示唆されている<sup>3)</sup>。

MHR は相同染色体同士の正確なパートナーの識別に必須である。酵母などの研究から減数分裂期の相同組換え反応は SPO11 蛋白質による二本鎖 DNA 切断から開始することが知られている<sup>4)</sup>。その後、一本鎖 DNA 部分が削り出され、その一本鎖が相同染色体の相同部分と組換えを起こし、反応が進むといったモデルが提案されている。シロイヌナズナでは 3 つの SPO11 の相同遺伝子、*AtSPO11-1*、*AtSPO11-2*、*AtSPO11-3* が存在する<sup>5)</sup>。*AtSPO11-1*

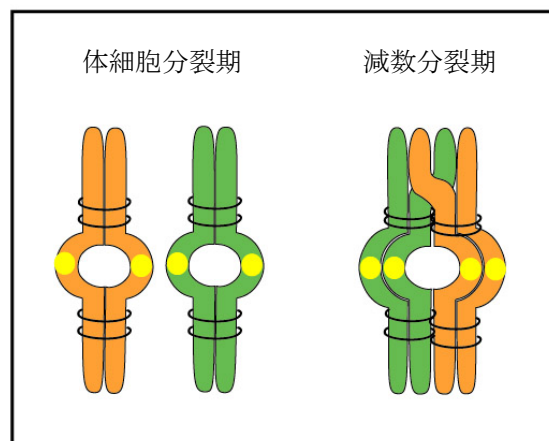


図 2. 染色体の分離方向とセントロメア. 体細胞分裂期の染色体は、それぞれ複製後の姉妹染色体から構成されており、姉妹セントロメアは二極性を示す。減数分裂期染色体は相同染色体が連結されており、姉妹セントロメアは一極性を示す。相同セントロメアに関しては二極性となる。

は実際に相同組換えに必要で、この遺伝子の変異体では相同染色体の対合が起こらないことが知られている<sup>6)</sup>。*AtSPO11-3* の変異体では栄養生長に異常が見られることから体細胞分裂時に機能していると考えられている<sup>7)</sup>。*AtSPO11-3* との類似性から *AtSPO11-2* も体細胞分裂に関与すると考えられていたが、正常レベルの相同組換えに必須であることが明らかにされている<sup>8)</sup>。シロイヌナズナの *SOLO*

*DANCERS (SDS)* 遺伝子は減数分裂に特異的なサイクリンをコードしている<sup>9)</sup>。この遺伝子の変異体でも組換えの頻度が極度に減少する。サイクリン依存性キナーゼ(CDK)を介して相同組換えを制御している可能性が考えられる。

そこで本研究では *AtSPO11-1*, *AtSPO11-2*, *SDS* の変異体を用いて、上記のセントロメアの会合と配向性の決定が減数分裂期相同組換えに依存したもののなかどうかを調べることにした。

## 材料と方法

### 実験植物

シロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana*) の野生型及びその変異体は、神奈川大学・平塚キャンパス内の植物育成棟内で栽培した。60  $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$  の白色光、14時間10時間の明暗周期、気温 24°C、湿度 60% の条件下で、ハイポネックスと MS 培地を交互に、週に一度与えながら栽培した。播種後、5~7 週間目の植物の花序を採取し、ファーナー液 (Ethanol, Acetic Acid: 3:1) 中、室温で 20 時間程度置くことによって固定した。その後は -20°C で保存した。

### 消化展開法

花粉母細胞の染色体試料作製は Azumi らの方法<sup>10)</sup> に従った。固定した試料を 10 mM クエン酸緩衝液 (pH4.5) 中で洗った後、cytohelicase (Sigma)、cellulase “ONOUKA” R-10 (Yakult)、pectolyase (Kikkoman) (各 0.4%(w/v)) を含む同緩衝液中、適宜脱気しながら、37°C 3 時間保温し、細胞壁を消化した。同緩衝液で洗った後、4°C で保存した。

消化した花序をシャーレ上の 60% 酢酸中に移した後、適当な大きさの蕾を取り出し、同じく 60% 酢酸を滴下したスライドガラス上で解剖した。薬をつぶして花粉母細胞を拡散させたのち、45°C のホットプレート上に 1 分間静置した。氷冷したファーナー液を周囲に滴下し、緩やかに混和させた後、ファーナー液を捨て、スライドを乾燥させた。DAPI 溶液 (Vector) を滴下し、カバーガラスを載せた後、顕微鏡 (オリンパス BX61) で観察した。

### FISH (fluorescent *in situ* hybridization)

消化展開法によって準備された染色体標本に対して、セントロメア付近に局在する 180-bp 繰り返し配列<sup>11)</sup> をプローブとする FISH を行った。FISH は Azumi らの方法に従った<sup>10)</sup>。180-bp 繰り返し配列は、シロイヌナズナゲノム DNA を鋳型とし、両端の配列をプライマーとする PCR (polymerase chain reaction)

により増幅し、プローブ合成に用いた。プローブ合成には Nick Translation Kit (Amersham BioScience) と Alexa Fluor 488 Labeling Kit (invitrogen) を利用し、プローブは PCR purification kit (Qiagen) を用いて精製した。1~2  $\mu\text{g}$  の DNA から合成したプローブは 30 枚のスライドガラスの染色体試料に使用した。洗浄後の染色体標本に 5  $\mu\text{L}$  の DAPI (Vector) を滴下し対比染色を行った後、蛍光顕微鏡 (オリンパス BX60) 下で観察した。撮影した写真はスキャナーで取り込み、PhotoShop (adobe) で加工・編集した。

## 結果

### 相同組換えに依存しない相同染色体の会合過程

我々はすでに減数分裂時の相同染色体の対合過程で、セントロメア同士が相同のものであるかないかにかかわらず接着し合うセントロメアの会合という現象があるのを報告している。この現象はレプトテン期からザイゴテン期にかけて、シナプトネマ構造ができ始める時期に見られる。この時期、MHR 反応も進行していると考えられている。我々はセントロメアの会合が起こるのに MHR 反応が必要なのかどうかを調べるため、野生型シロイヌナズナの花粉母細胞の染色体と MHR 反応の起こらない変異体の花粉母細胞の染色体を比較してみることにした。

酵母の *Spo11* 遺伝子の相同遺伝子であるシロイヌナズナの *AtSPO11-1* と *AtSPO11-2*、減数分裂に特異的なサイクリンをコードする *SOLO DANCERS (SDS)* は MHR 反応の開始に必要なことが明らかにされている。野生型とこれらの遺伝子の変異体から消化展開法によって減数分裂期染色体の試料を作成した。これに対して、セントロメア部分を明らかにするために、セントロメア付近に局在する 180-bp 繰り返し配列をプローブとする FISH を行った。

野生型の花粉母細胞では、シナプトネマ構造がまだほとんどできていないレプトテン期初期には 10 近いセントロメアのシグナルが観察された (図 2A)。これはこの時点ではほとんどのセントロメアは互いに接着せず、離れて存在していることを示している。しかしレプトテン期からザイゴテン期にかけて、シグナルの数は急激に減少し、2 箇所とか 3 箇所しか観察されなくなる (図 1B)。シグナルが 5 カ所以下であることから、2 つ以上のセントロメア同士が接着していることになり、相同のもの以外でも接着し合うと考えられる。パキテン期になるとシグナルの数は通常 5 カ所で観察され、相同のセントロメア同士のみが接着していると考えられる (図 1C)。

*sds*, *Atspo11-1*, *Atspo11-2* 変異体では、レプトテン初期には 10 近いシグナルが観察されたが、サイゴテン期にはそれぞれ図 3B、図 4B、図 5B に示すように減少し、全般的に野生型の花粉母細胞で見られるよりも激しい接着が起こっていた。時には一塊りとなっている場合も見られた。これらの変異体ではパキテン期を経ずにディプロテン期に進行するため、染色体は 5 組の二価染色体とならずに個々に凝縮し、10 個の一価染色体となる。セントロメアのシグナルも 10 近く観察される。

以上のことから、これらの変異体でも野生型と同様にセントロメア同士の接着は起こっており、セントロメアの会合は相同組換えに依存しないと結論することができる。

**配向は相同組換え反応に依存する減数第一分裂時のセントロメア**

野生型シロイヌナズナの減数第一分裂中期の染色体は、相同染色体が連結された二価の状態にある。二価染色体を構成するそれぞれの染色体の姉妹セント

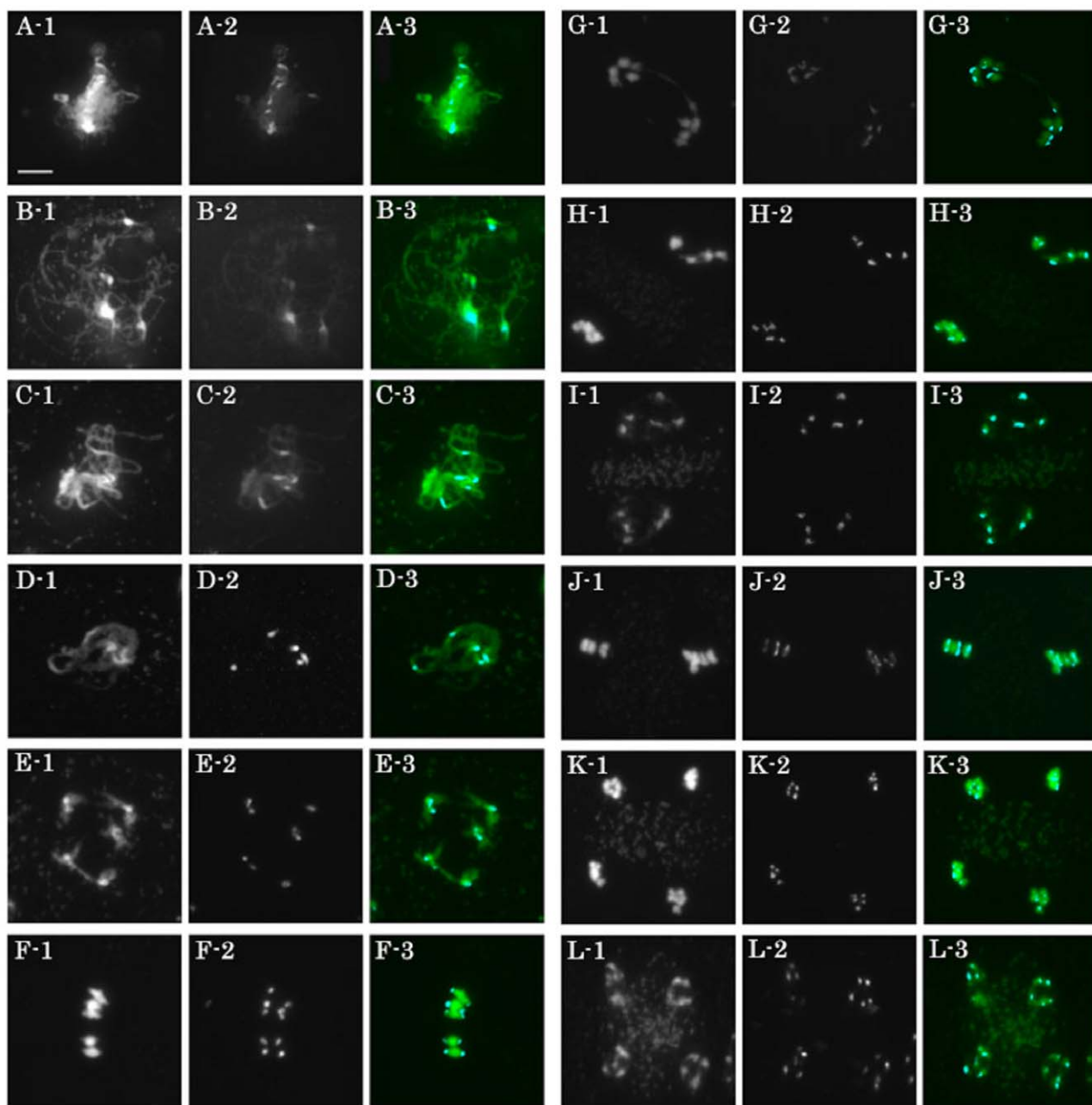


図 3. 野生型シロイヌナズナの減数分裂期染色体に対するセントロメア配列をプローブとする FISH. A. レプトテン期, B. サイゴテン期, C. パキテン期, D. ディプロテン期, E. ディアキネシス期, F. 第一分裂中期, G. 第一分裂後期, H. 第一分裂終期, I. 第二分裂前期, J. 第二分裂中期, K. 第二分裂後期, L. 第二分裂終期. 各パネルの 1 は DAPI 染色した染色体像, 2 はセントロメアからのシグナル, 3 は合成画像である. スケールバーは 10  $\mu$ m.

ロメアは同じ極に向かう一極性で、相同関係にあるセントロメアは別々の極に向かって配向する二極性である。先の MHR 変異体では、この時期全ての染色体は一価となっており、赤道面付近に並ぶものもあれば、さっさと極領域に移動してしまうものもある (図 4E-G、図 5E-G、図 6E-G)。これは姉妹セントロメアの一局性が確立されていないために起こるのではないかと考えられた。そのことを確かめるために、MHR 変異体の減数第一分裂中期のセントロ

メアの配向性について FISH 法を用いて調べた。

極方向に移動している染色体ではセントロメアシグナルは染色体の極方向の 1 カ所のみで観察された (図 4, 5, 6 矢印)。赤道面付近で停滞している染色体では両極方向の 2 カ所でシグナルが観察された (図 4, 5, 6 アスタリスク)。また、一つの細胞内に一極性の姉妹セントロメアと二極性の姉妹セントロメアが存在した。この結果は、二価染色体となっていない染色体では姉妹セントロメアの一方方向性が確

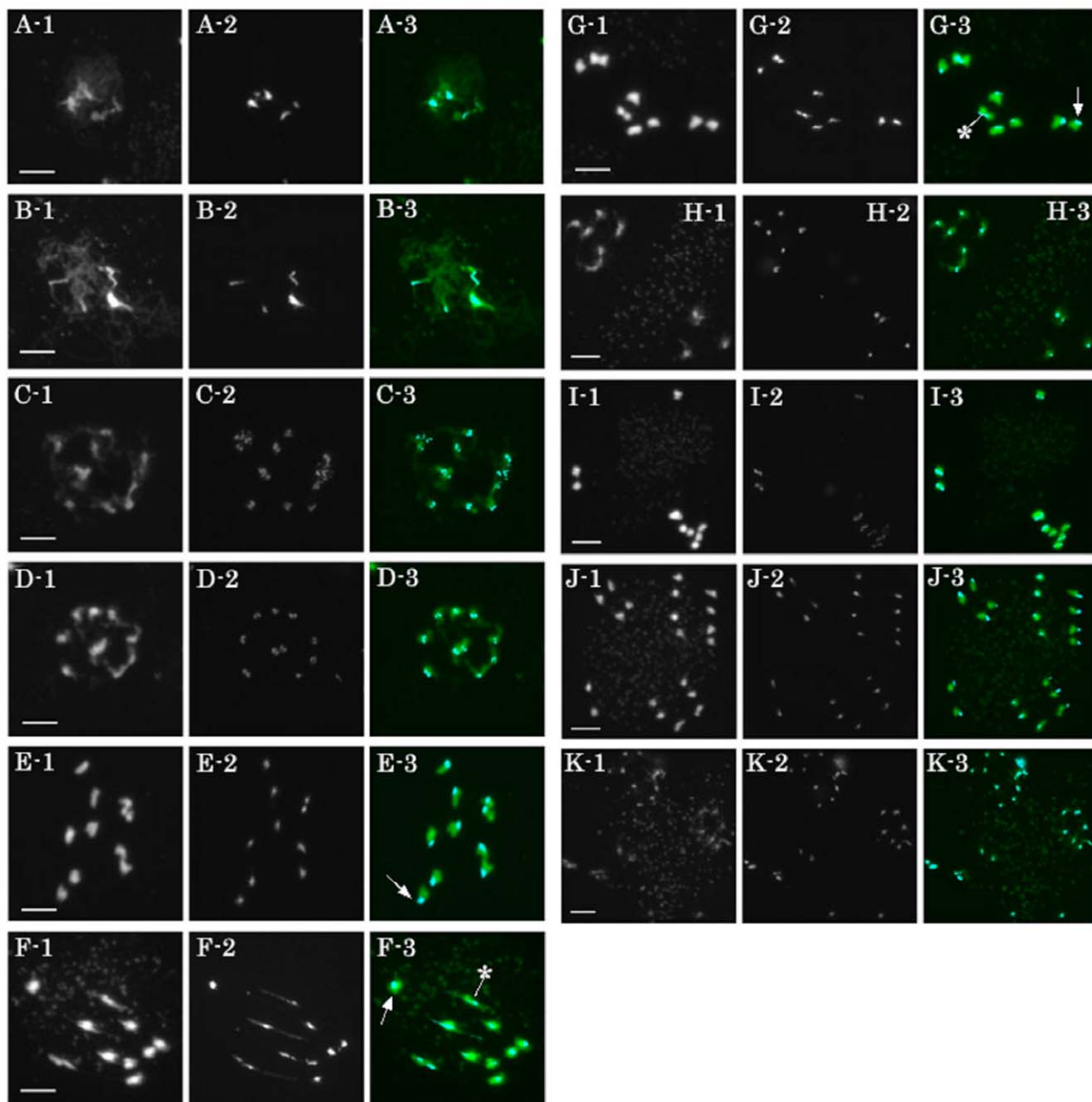


図 4. *sds* 変異体の減数分裂期染色体に対するセントロメア配列をプローブとする FISH. A. レプトテン期, B. ザイゴテン期, C. ディプロテン初期, D. ディプロテン後期, E. ディアキネシス期, F. 第一分裂中期, G. 第一分裂後期, H. 第二分裂前期, I. 第二分裂中期, J. 第二分裂後期, K. 第二分裂終期. 各パネルの 1 は DAPI 染色した染色体像, 2 はセントロメアからのシグナル, 3 は合成画像である. 矢印は一極性の姉妹セントロメアを示し, アスタリスクは二極性のセントロメアを示す. スケールバーは 10  $\mu$ m.

立できておらず、姉妹セントロメアは互いに制約されることなく自由に両極からの微小管と結合し、たまたま同じ極からの微小管に両方のセントロメアが結合すれば一極性になり、別の極からの微小管と結合した場合には二極性となるものと考えられる。二極性となった場合、減数第一分裂では姉妹染色分体の接着を維持する機構が働き、姉妹染色分体は分離できず、赤道面付近に停滞することが多い(図 3F、図 5F)。

## 討論

### セントロメアの会合

我々はすでに相同染色体の対合過程でセントロメア同士が無差別に接着する、セントロメアの会合と我々が呼んでいる現象が起こることを報告している。酵母でも同様の現象がセントロメアのカップリングと呼ばれ報告されているが、酵母の場合は大抵の場合は 2 つのセントロメアが接着しているのに対し、シロイヌナズナの場合にはもっと多くの染色体が数箇所に分かれて接着する。MHR が起こらない変異

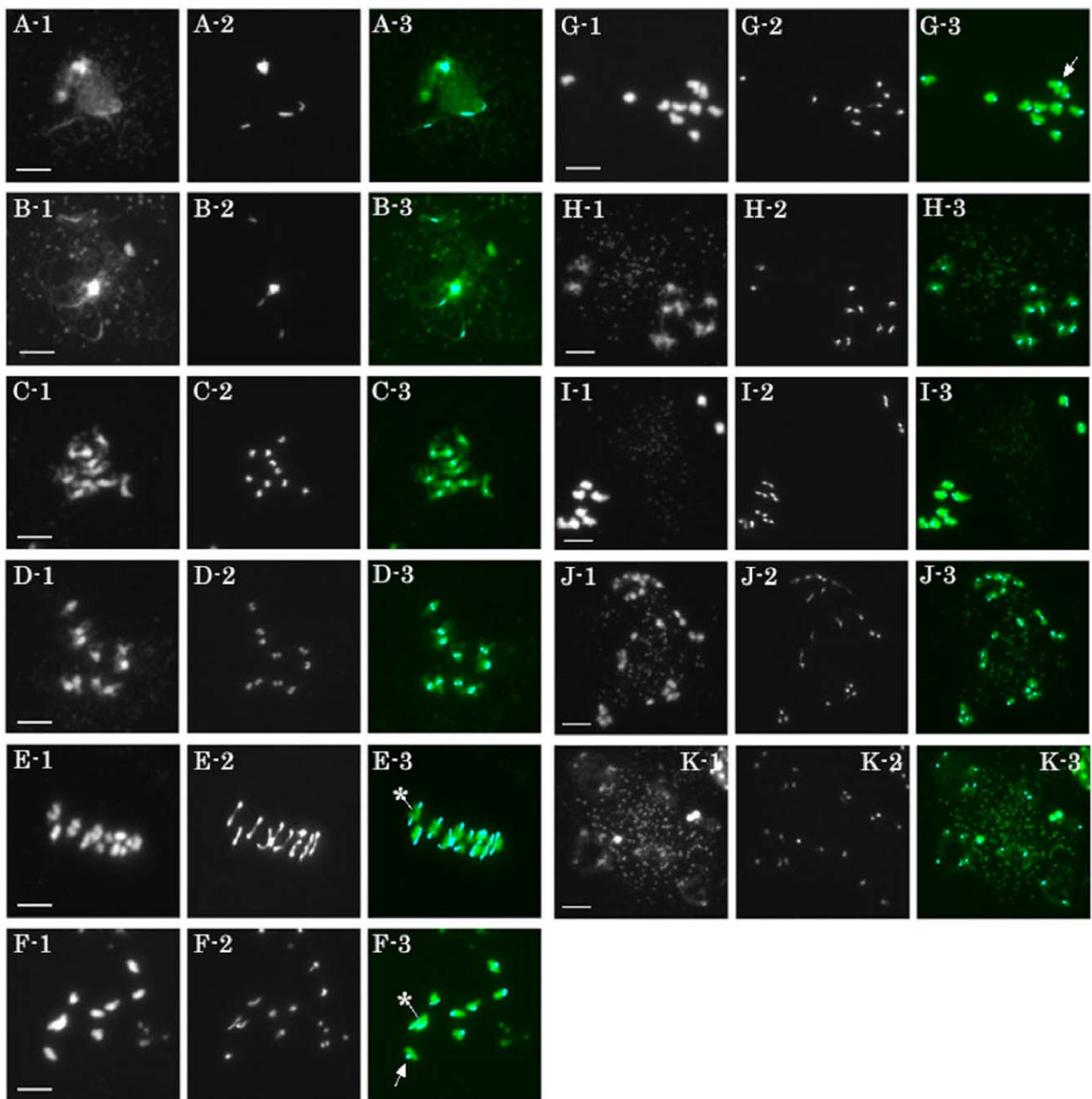


図 5. *Atspo11-1* 変異体の減数分裂期染色体に対するセントロメア配列をプローブとする FISH. A. レプトテン期, B. ザイゴテン期, C. ディプロテン初期, D. ディプロテン後期, E. 第一分裂中期, F. 第一分裂中後期, G. 第一分裂後期, H. 第二分裂前期, I. 第二分裂中期, J. 第二分裂後期, K. 第二分裂終期. 各パネルの 1 は DAPI 染色した染色体像, 2 はセントロメアからのシグナル, 3 は合成画像である. 矢印は一極性の姉妹セントロメアを示し, アスタリスクは二極性のセントロメアを示す. スケールバーは 10  $\mu$ m.

体を用いた本研究で、この会合が起こるのに MHR は必要ではないことを示すことができた。MHR とは独立した別の、染色体同士を結び付ける機構が存在するものと推測される。対合初期にはセントロメア同士のみで接着が見られることから、セントロメア間に特有の親和性がこの時期に現れると解釈される。これらの MHR 変異体ではセントロメアの会合はむしろ昂進している様子が観察されたことから、MHR が正常に進行し相同染色体同士が正しく対合

すると、この対合初期に見られるセントロメア間の親和性は消失するものと考えられる。それに元々この親和性はそれほど強いものではなく、酵母で示されているように、セントロメア同士は接着したり解離したりしながら、本当のパートナーを探索しているものと推察される。

対合初期には各染色体のテロメアは細胞内の特定の部位に、多くの場合は核膜の一部に、クラスターリングし、染色体全体としてブーケ構造をとることが

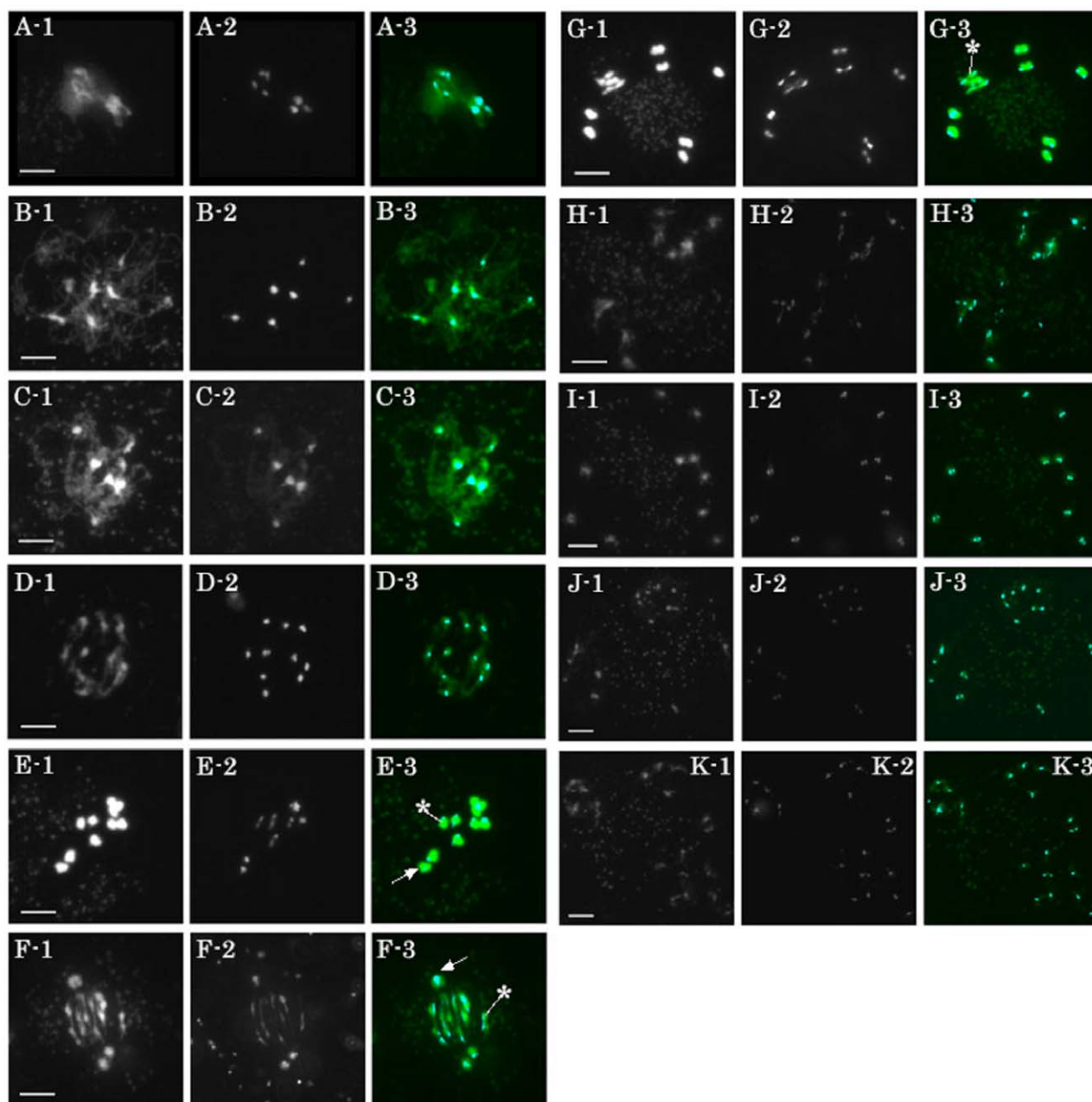


図 6. *Atspo11-2* 変異体の減数分裂期染色体に対するセントロメア配列をプローブとする FISH. A. レプトテン期, B. ザイゴテン期, C. ディプロテン初期, D. ディプロテン後期, E. ディアキネシス期, F. 第一分裂中期, G. 第二分裂中期, H. 第二分裂前期, I. 第二分裂前期, J. 第二分裂終期, K. 第二分裂終期. 各パネルの 1 は DAPI 染色した染色体像, 2 はセントロメアからのシグナル, 3 は合成画像である. 矢印は一極性の姉妹セントロメアを示し、アスタリスクは二極性のセントロメアを示す. スケールバーは 10  $\mu\text{m}$ .

知られている<sup>12)</sup>。シロイヌナズナの場合は核小体の周りに減数分裂開始期から集合している<sup>13)</sup>。対合開始期に全ての染色体のテロメアが限られた空間に拘束されていれば、染色体が全く自由に細胞内に分布する状況と比べると、染色体の相同部分が遭遇する確率はかなり高くなるものと想像される。その上、セントロメア部分の親和性ゆえに染色体同士が近距離に置かれると探索の効率はさらに向上するものと考えられる。たまたま正しいパートナーと遭遇した場合には、染色体の両末端のテロメアが固定されていることもあり、その接着はエネルギー的にも安定化されるのではないだろうか。その間に MHR を介した相同部分の探索が進み、見つかった部分ではシナプトネマ構造による相同染色体の接着の安定化が起こり、そこを起点として染色体全体にシナプトネマ構造が構築され、シナプシスが完成するというモデルが考えられる。セントロメアの会合の役割はこのモデルでも提案したように、テロメアのクラスタリングと協調して、相同染色体同士を接近させ、対合を促進するというものであると考えられるが、これは MHR の反応とは別の機構によるものであるが、MHR に必要な相同部分同士の接触が起こる頻度を高めることによって遂行されていると仮定している。

### 減数分裂期セントロメアの極性確立

減数第一分裂中期の染色体は互いに連結された相同染色体からなり、二価染色体と呼ばれる。二価染色体では相同関係にあるセントロメアは二極性であるが、姉妹セントロメアは同じ極に配向する一極性である。MHR を行えない変異体では第一分裂中期においても相同染色体は二価とならず、一価のまま存在する。この状態でのセントロメアの配向を FISH 法を用いて調べてみると、一極性のものと二極性のものが混在していた（この時のそれぞれの染色体のセントロメアの配向を模式図にすると図 7 のようになる）。この結果は MHR を行い相同染色体が対合することが、姉妹セントロメアの一極性の確立に不可欠であることを示している。対合している染色体とそうでない染色体の違いは何であろうか。MHR を経験しているかないかという違いもあると思われるが、キアズマを持っているかどうか大きな影響を及ぼしていると考えられる。キアズマは顕微鏡観察で認識される染色体上の構造で、遺伝学的な交叉が起きている部位に相当すると考えられている。しかし、キアズマの分子構造についてはまだ良く解っていない。キアズマからは近辺にキアズマが形成されないようにする干渉作用を伝えるシグナルの発信源となっているとの見方がある。セントロメアに対

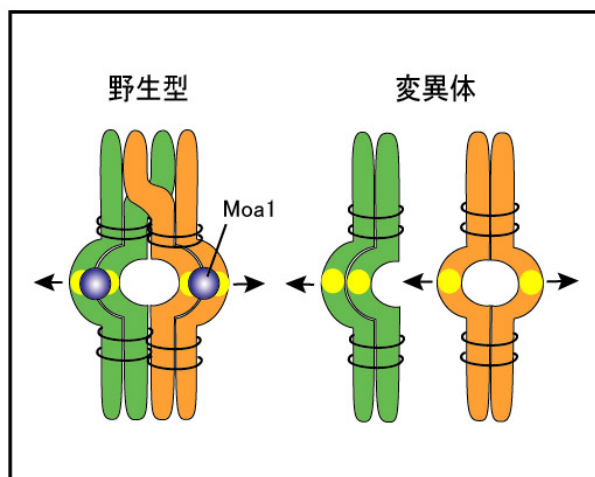


図 7. 野生型と MHR 変異体での減数第一分裂中期の姉妹セントロメアの配向性の違い。野生型では姉妹セントロメアは同じ極に向かって配向する。MHR 変異体では一極性のものと二極性のものが混在する。

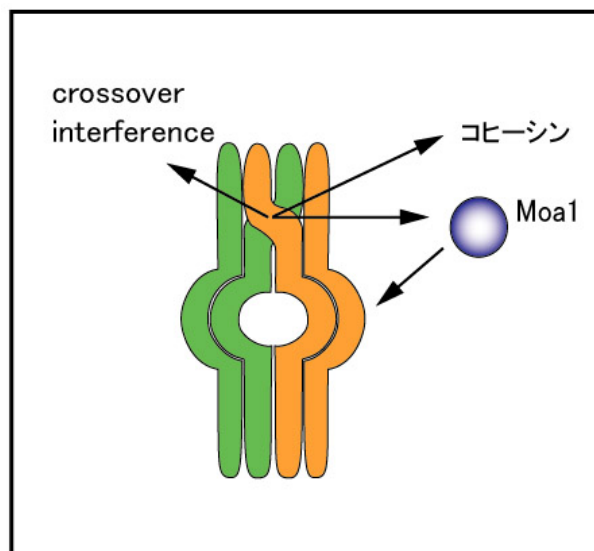


図 8. MHR からセントロメアへのシグナル伝達のモデル。MHR の結果生じるキアズマからは様々な方向にシグナルが発せられていると考えられる。

しても、その染色体でキアズマが存在するか否かのシグナルを発している可能と考えられる（図 8）。

体細胞分裂時の染色体も二極性を取るが、この場合全ての染色体が二極性となっており、そうでなければ後期に進行できないように監視しているチェックポイントが存在する。相同組換え変異体の減数第一分裂中期の一価染色体に見られる二極性とは、必然と偶然の差がある。野生型では減数第一分裂時の姉妹セントロメアは必ず一極性を示す。これは、出芽酵母ではセントロメアに局在する Moa1<sup>14)</sup>（分裂酵母では Monopolin<sup>15)</sup>）タンパク質が姉妹セントロメアを束ねているために一極性を示すものと考えられている（図 7）。植物では Moa1 に相当する遺伝子はまだ見つからないが、同じ機能を果たす遺



伝子が存在するものと考えられる。キアズマから発せられたシグナルが、直接あるいは何らかのメッセンジャーを介して Moa1 に伝達され、Moa1 が姉妹セントロメアを結束するのもも知れない (図 8)。

## 謝辞

本研究は 2006 年度神奈川大学総合理学研究所協同研究プロジェクトの助成のもとに行われた。

## 文献

- 1) Tsubouchi T and Roeder G S (2005) A synaptonemal complex protein promotes homology-independent centromere coupling. *Science* **308**: 870-873
- 2) 坪内英生 (2003) 出芽酵母で明らかになった減数分裂期の相同染色体分配メカニズム. *実験医学* **21** (No. 5 増刊): 700-707.
- 3) Chelysheva L, Diallo S, Vezon D, Gendrot G, Vrielynck N, Belcram K, Rocques N, Marquez-Lema A, Bhatt AM, Horlow C, Mercier R, Mezard C and Grelon M (2005) AtREC8 and AtSCC3 are essential to the monopolar orientation of the kinetochores during meiosis. *J Cell Sci.* **118**: 4621-4632.
- 4) Keeney S, Giroux CN 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.
- 5) Hartung F and Puchta H (2000) Molecular characterization of two paralogous SPO11 homologues in *Arabidopsis thaliana*. *Nucleic Acid Res.* **28**: 1548-1554.
- 6) Grelon M, Vezon D, Gendrot G and Pelletier G (2001) *AtSPO11-1* is necessary for efficient meiotic recombination in plants. *EMBO J.* **20**: 589-600.
- 7) Sugimoto-Shirasu K, Stacey NJ, Corsar J and Roberts K (2002) DNA topoisomerase VI is essential for endoduplication in *Arabidopsis*. *Curr. Biol.* **12**: 1782-1786.
- 8) Stacey NJ, 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. *Plant J.* **48**: 206-216.
- 9) 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 J.* **21**: 3081-309.
- 10) Azumi Y, Toyama T, Igarashi A and Suzuki H (2001) A sensitive fluorescence *in situ* hybridization procedure applicable to whole stages of male meiosis of *Arabidopsis thaliana*. *Chromosome Sci.* **5**: 1-6.
- 11) Murata M, Ogura Y, Motoyoshi F (1994) Centromeric repetitive sequences in *Arabidopsis thaliana*. *Jpn J Genet.* **69**: 361-370.
- 12) Davis L and Smith GR (2006) The meiotic bouquet promotes homolog interactions and restricts ectopic recombination in *Schizosaccharomyces pombe*. *Genetics* **174**: 167-177.
- 13) Armstrong SJ, Franklin FC and Jones GH (2001) Nucleolus-associated telomere clustering and pairing precede meiotic chromosome synapsis in *Arabidopsis thaliana*. *J Cell Sci.* **114**: 4207-4217.
- 14) Yokobayashi S and Watanabe Y (2005) The kinetochore protein Moa1 enables cohesion-mediated monopolar attachment at meiosis I. *Cell* **123**: 803-817.
- 15) Monje-Casas F, Prabhu VR, Lee BH, Boselli M and Amon A (2007) Kinetochore orientation during meiosis is controlled by Aurora B and the monopolin complex. *Cell* **128**: 477-490.