



论文

DUF640 基因 *BEAK-SHAPED GRAIN 1/TRIANGULAR HULL 1* 影响水稻粒形和粒重

闫大伟^{①†}, 周涯^{②†}, 叶胜海^②, 曾龙军^①, 张小明^{②*}, 何祖华^{①*}

① 中国科学院上海生命科学研究院植物生理生态研究所, 植物分子遗传国家重点实验室, 上海 200032;

② 浙江省农业科学研究院作物与核技术利用研究所, 杭州 310021

† 同等贡献

* 联系人, E-mail: xmzhang@mail.hz.zj.cn; zhhe@sibs.ac.cn

收稿日期: 2012-10-17; 接受日期: 2012-12-14

中国科学院知识创新工程重要方向项目(批准号: KSCX2-EW-N-01)和国家自然科学基金(批准号: 31100142 和 31071207)资助

摘要 种粒的形状和大小都会影响其重量并最终影响产量, 然而对于种粒形状和大小的分子调控机制仍然未被研究清楚. 最近本研究组分离到一株粒形呈鸟嘴状的水稻突变体 *beak-shaped grain1(bsg1)*, 其粒长、粒厚和粒重都有所减少, 内外颖也发生弯曲而导致其无法完全闭合. 与野生型相比, 突变体种子的淀粉粒呈现不规则状. 组织切片显示 *bsg1* 内外颖的外薄壁细胞层细胞变小且数目减少, 与粒形的表型一致. 图位克隆表明, *BSG1* 基因编码一个 DUF640 蛋白 TRIANGULAR HULL 1 (TH1). 定量 PCR 和启动子活性分析表明, *BSG1* 主要在幼穗和茎秆中表达. *BSG1* 的突变影响细胞分裂相关基因以及粒宽基因 *GW2* 的表达. 实验结果表明, *BSG1* 可能通过调控细胞分裂和扩展来影响种粒形状及大小.

关键词细胞分裂和扩展
DUF640 蛋白
基因表达
种子大小
内外颖

水稻(*Oryza sativa*)作为全世界范围的主要粮食之一, 其产量已成为科学研究和育种的重要内容. 粒重、每穗粒数和单株穗数被认为是影响产量的重要因子. 最近几年, 关于此类因子的基因相继被报导^[1~10], 其中控制粒形和粒重的基因主要包括 *GW2*, *GS5* 和 *GS3*. *GW2* 编码一个 E3 泛素连接酶, 负向调控细胞分裂^[5]. 而编码丝氨酸羧肽酶的 *GS5* 作为正向调控因子控制粒宽和粒重^[11]. 另外编码膜蛋白的 *GS3* 则是一个控制粒长和粒重的重要 QTL 位点^[4,12].

在典型的水稻小花中, 颖壳由外颖和内颖组成,

决定种子的形状和大小. 水稻颖壳异常的突变体已有不少报导. 突变体 *leafy hull sterile1(lhs1)* 的外颖和内颖都会变成类似叶状, 此表型是由于 *OsMADS1* 基因的突变造成的^[13]. *RETARDED PALEA1(REP1)* 基因主要控制内颖特性, 其突变会导致内颖细胞变小, 分化进程受阻^[14]. *REP1* 受到其上游因子 *DEPRESSED PALEA1(DP1)* 的调控. *DP1* 属于 AT-hook 基因, 也影响内颖的形成^[15]. 另外在突变体 *rice open beak(opb)* 中, 外颖内弯且内外颖的后期发育受到抑制, 导致内外颖无法闭合^[16].

引用格式: 闫大伟, 周涯, 叶胜海, 等. DUF640 基因 *BEAK-SHAPED GRAIN 1/TRIANGULAR HULL 1* 影响水稻粒形和粒重. 中国科学: 生命科学, 2013, 43: 168–176, doi: 10.1360/05SCLS-2012-0147.R3

英文版见: Yan D W, Zhou Y, Ye S H, et al. *BEAK-SHAPED GRAIN 1/TRIANGULAR HULL 1*, a DUF640 gene, is associated with grain shape, size and weight in rice. *Sci China Life Sci*, 2013, 56, doi: 10.1007/s11427-013-4449-5

细胞分裂是组织形成和发育的基础,其基本的调控机制在真核生物中高度保守^[17-19].在细胞分裂的 G1-S 和 G2-M 期的转变过程中,不同的细胞周期素依赖蛋白激酶复合体磷酸化不同的底物来诱导 DNA 复制和细胞分裂.例如,在 G1-S 和 G2-M 的转变期中 *CDKA* 都有表达^[20,21],而 *CDKB1* 主要在 S 期到 M 期的转换中表达,*CDKB2* 主要在 G2 转变到 M 期时表达^[22-24].CDK 的活性由 CDK 激活激酶(CAKs)和依赖细胞周期素的激酶抑制子(CKIs)协同调控,以此来控制细胞周期进程^[25-28].

本研究分离到 2 个水稻等位突变体 *bsgl-1* 和 *bsgl-2*,其内外颖发育不完全,粒宽、粒厚和粒重都比野生型降低.*BSG1* 编码一个含未知功能结构域 DUF640 的蛋白.实验结果表明,*BSG1* 调控细胞周期相关基因和花器官同源异型基因的表达.此研究表明,*BSG1* 控制水稻颖壳的发育,这为 DUF640 蛋白功能的阐明提供了更多的证据.

1 材料与方法

1.1 水稻材料和突变体的分离

突变体 *bsgl-1* 和 *bsgl-2* 分离自粳稻 Zhejing22 的 ⁶⁰Co γ -ray 诱变的群体.纯和突变体分别与 Zhejing22 和 93-11 杂交用于遗传分析和基因定位.所有的亲本、F₁ 代和 F₂ 代材料都种植于上海和海南的大田,在自然条件下生长.

1.2 种粒特征分析

灌浆饱满的谷粒经自然风干后用于测量分析.随机挑选 30 粒种子用于测量粒长和粒宽,3000 粒种子用于千粒重称量.颖壳细胞长度用 ImageJ 软件测量.

1.3 图位克隆

突变体 *bsgl-1* 和 93-11 杂交产生的 F₂ 群体用于基因定位.初定位使用的连锁标记筛选自公共数据库资源,包括 Gramene (<http://www.gramene.org>) 和 Rice Genomic Research Program (<http://rgp.dna.affrc.go.jp/>).比对日本晴 (<http://rgp.dna.affrc.go.jp/cgi-bin/statusdb/status.pl>) 和 93-11 (<http://rise.genomics.org.cn/rice/index2.jsp>) 的基因组序列设计新的标记用于精细定位.网络版附表 1 列出主要的标记引物序列.

1.4 组织切片分析

取水稻抽穗前的幼花,FAA(70%乙醇,5%冰醋酸,3.7%甲醛)固定后用树脂 Epon812 包埋,然后切成 2 μ m 厚的薄片,甲苯胺蓝染色后显微拍照(BX51, Olympus, 日本).用于电子扫描的样品在 FAA 中固定过夜后用梯度浓度乙醇脱水,CO₂ 临界点干燥,喷金后扫描拍照(JSM-6360LV, JEOL, 日本).

1.5 GUS 报告基因分析

用内切酶 *Hind* III 和 *Eco*R I 将载体 pBI101 上的 *GUS* 基因编码序列切下与 *BSG1* 启动子中 1950-bp 的片段融合后克隆到载体 pCambia1300 上构建质粒 p*BSG1-GUS*-1300.用农杆菌介导的方法将 p*BSG1-GUS*-1300 质粒转化入野生型水稻日本晴^[29].取转基因植株不同组织和器官用于 GUS 活性分析.

1.6 mRNA 的提取和表达分析

不同组织的总 RNA 按照 Invitrogen(Carlsbad, CA, 美国)公司的实验说明书使用 TRIzol 提取后用 DNaseI 消化处理(Ambion, Austin, 美国).Real-time PCR 使用 TaKaRa (Otsu, 日本)的试剂盒 SYBR Premix Ex Taq 和 Eppendorf(Hamburg, 德国)公司的 Mastercycler ep realplex detection 系统进行.扩增程序如下:95°C 3 min, 95°C 20 s, 60°C 1 min, 40 个循环.*ACTIN2* 作为内参基因,结果采用相对分析法 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ ^[30].所用引物列于网络版附表 1.

2 结果与分析

2.1 突变体 *bsgl-1* 的种子表型

突变体 *bsgl-1* 分离自粳稻 Zhejing22 的 ⁶⁰Co γ -rays 诱变群体.突变体和野生型植株在营养生长期没有明显不同,在成熟期 2 者株型如株高和分蘖数都无显著差异.然而,*bsgl-1* 种子的颖壳不能完全闭合,而且稍微弯曲似鸟嘴状(图 1A).突变体 *bsgl-1* 种子的粒宽和粒厚分别比野生型减少 25.1% 和 17.1% (图 1C 和 D),而粒长则无显著差异(图 1B).*bsgl-1* 的去壳种子呈圆锥形且比野生型小,种皮呈黑褐色(图 1A).

与野生型相比,*bsgl-1* 的千粒重降低了 50.2%(图 2A).*bsgl-1* 的种子发育异常,其淀粉颗粒呈现不规

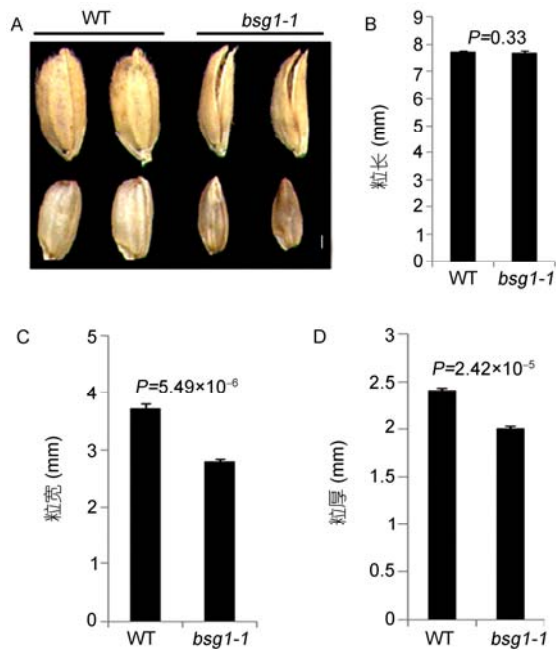


图 1 突变体 *bsg1-1* 的表型分析(网络版彩图)

A: 突变体 *bsg1-1* 和野生型的种子表型, 标尺为 1 mm; B, C 和 D: 突变体 *bsg1-1* 和野生型的粒长(B)、粒宽(C)和粒厚(D)的比较. 样本数为 30, *t* 检验计算得出 *P* 值

则状(图 2B). 这些结果表明, *BSG1* 不仅影响粒形而且影响粒重.

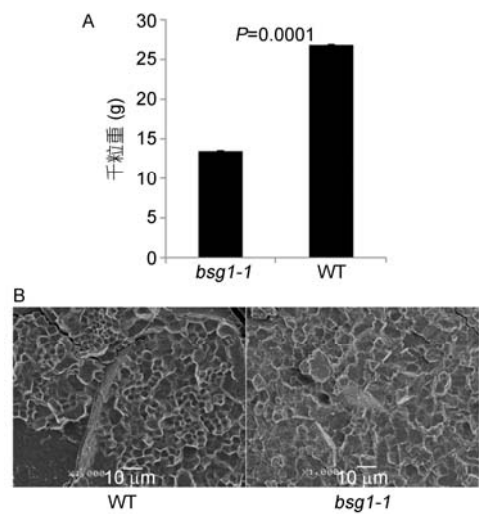


图 2 突变体 *bsg1-1* 和野生型的粒重和淀粉颗粒形态.

A: 突变体 *bsg1-1* 和野生型的千粒重, *P* 值由 *t* 检验计算得出; B: 突变体 *bsg1-1* 和野生型种子的淀粉颗粒形态

2.2 突变体 *bsg1-1* 浆片的异常形态

除了内外颖, *bsg1-1* 的浆片也发育异常(图 3A–D), 其上部延长且在顶端产生少许芒状突起(图 3A 和 B). 电子扫描图片显示正常浆片表皮细胞具有许多竖状条纹, 而 *bsg1-1* 浆片延长部分的细胞无此表型(图 3C 和 F). 这意味着 *bsg1-1* 浆片细胞的分化发

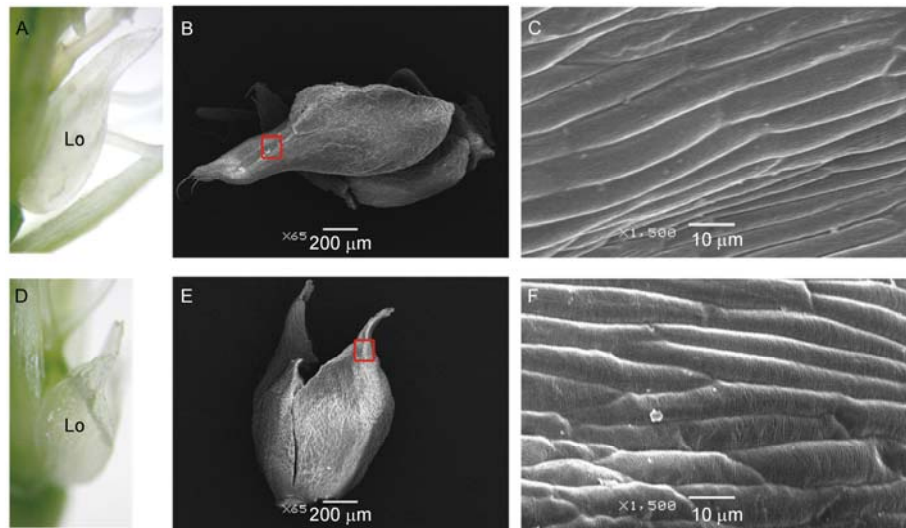


图 3 突变体 *bsg1-1* 的浆片形态(网络版彩图)

A 和 D: 突变体 *bsg1-1* 的伸长浆片(A)和野生型的正常浆片(D), Lo: 浆片; B 和 E: 突变体 *bsg1-1*(B)和野生型(E)的浆片; C 和 F: 突变体 *bsg1-1*(C)和野生型(F)的浆片顶部细胞的放大电子扫描图片(显示 B 和 E 图中的红框部分)

生异常, *BSG1* 基因可能参与浆片发育过程.

2.3 *BSG1* 基因的图位克隆

突变体 *bsg1-1* 与野生型 Zhejing22 杂交产生的 F1 代植株都呈现野生型表型, 其 F2 群体中野生型与突变体表型植株数目呈现典型孟德尔分离比 3:1 ($\chi^2=1.59 < \chi^2_{0.05,1}=3.84$), 表明突变体表型由 1 个隐性基因控制. 突变体 *bsg1-1* 与 93-11 杂交得到的 F2 代群体用于基因定位. 最终 *BSG1* 位点被定位到分子标记 J59 和 J95 之间的 194 kb 区段, 包含 3 个 BAC 克隆 AP004081, AP005303 和 AP005691 的部分片段(图 4A).

根据数据库的注释(<http://rapdblegacy.dna.affrc.go.jp/>), 194 kb 区段内包含 28 个预测基因. 通过基因组序列测序, 发现 *bsg1-1* 的 *Os02g0811000* 基因序列

比野生型 Zhejing22 缺失 5 bp 的片段(图 4B), 且此缺失也由酶切证实. *Os02g0811000* 基因的 cDNA 全长 1587 bp, 编码区长 747 bp, 包含一个未知功能结构域 DUF640(图 4B).

除了 *bsg1-1*, 本研究组也从同一诱变群体中分离到另一株鸟嘴状谷粒突变体 *bsg1-2*(图 4C), 同样由单个隐性基因位点控制. 测序结果显示, *bsg1-2* 中 *Os02g0811000* 基因的外显子中发生一个 A 到 T 的转换, 导致翻译的氨基酸由天冬氨酸变为缬氨酸(图 4B). 突变体 *bsg1-1* 的缺失和 *bsg1-2* 的突变位点都发生在 DUF640 结构域的编码序列(图 4B). 最近报导的一个相似表型的水稻突变体 *triangular hull1-1* (*th1-1*) 也是 *Os02g0811000* 基因发生突变^[31]. 这些结果证实, 突变体 *bsg1/th1-1* 的表型是由于 *Os02g0811000* 基因的突变导致.

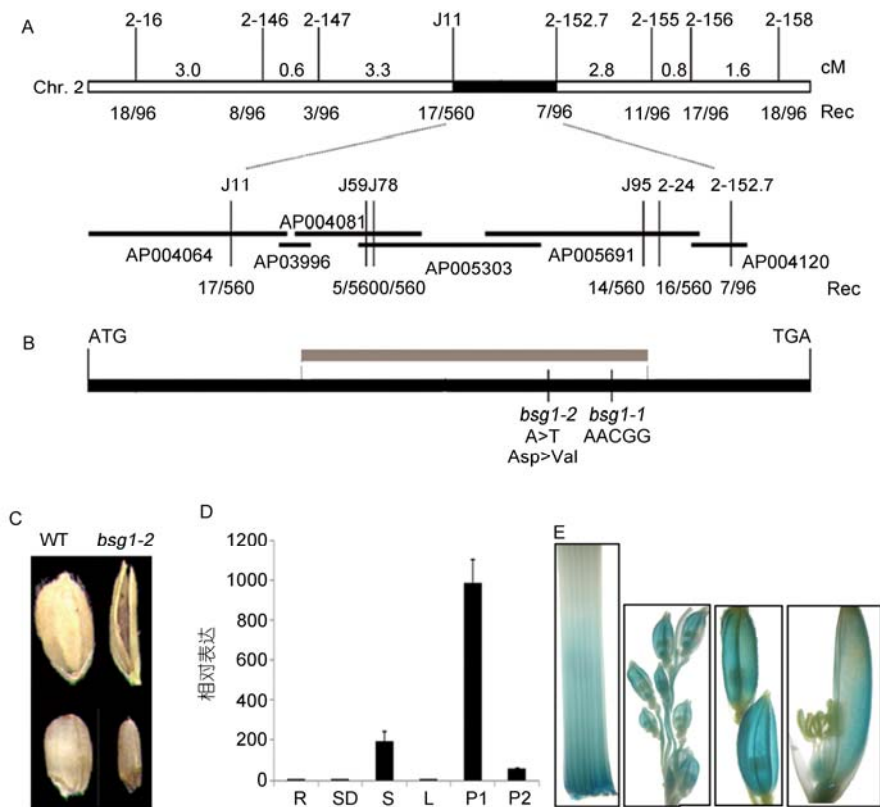


图 4 *BSG1* 基因的图位克隆(网络版彩图)

A: *BSG1* 基因位于 2 号染色体的分子标记 J59 和 J95 之间, 此区间包含 3 个 BAC 的部分片段, Chr: 染色体, Rec: 重组个体. B: 候选基因 *Os02g0811000* 的编码序列以及 *bsg1-1* 和 *bsg1-2* 的突变位点, 灰色框表示 DUF640 结构域的编码序列区域. C: 野生型和 *bsg1-2* 的种子形态. D: Real-time PCR 检测 *BSG1* 基因在不同组织的表达, R: 根, SD: 幼苗, S: 茎, L: 叶, P1: 0.1~2 cm 的幼穗, P2: 8~10 cm 的幼穗. E: 转基因植株茎中、2 cm 幼穗、10 cm 幼穗和浆片中的 GUS 活性(从左到右)

Real-time PCR 的结果显示, *BSG1* 的转录本在幼穗 (0.1~2 cm) 中积累最多, 茎秆和 8~10 cm 的穗中次之 (图 4D), 而在根中、幼苗和成熟叶中几乎检测不到表达. 这些结果与 *BSG1::GUS* 融合报告基因的检测结果一致 (图 4E).

2.4 内外颖的组织切片观察

为了研究颖壳的细胞特征, 制作并观测幼花的内外颖组织切片. 突变体 *bsg1-1* 小花由于内外颖钩合缺失 (图 5C) 而微开, 而野生型中则是紧密闭合 (图 5A). 与野生型 (图 5B) 相比, *bsg1* 内外颖的外薄壁细胞层细胞变小且数目减少 (图 5D-F). 这些特征表明 *bsg1* 颖壳宽度的减少主要由细胞数目和尺寸的减少所致. 其次, 野生型内颖含有膜状的无硅化细胞层的

边缘组织 (MTP), 其细胞形态与内颖中心部分不同 (图 5B). 然而 *bsg1-1* 的内颖边缘组织却由增多的薄壁细胞层构成 (图 5D). 这些特征表明, 其内颖边缘组织细胞特性缺少, 细胞分化受到破坏.

2.5 *BSG1* 影响细胞周期相关基因的表达

由于颖壳的细胞特性和分化发生异常, 我们推测 *BSG1* 可能调控细胞周期相关基因. 本研究检测了野生型和 *bsg1-1* 颖壳中 25 个先前报导的水稻主要细胞周期相关基因的表达情况 (图 6A). *bsg1-1* 中 11 个基因下调, *CDC20* 基因上调. *CDC20* 作为分裂后期促进复合体的激活子, 通过破坏细胞周期素蛋白亚基致使细胞分裂进程退出^[17,32]. 因此, *BSG1* 可能通过调控细胞周期相关基因的表达来促进细胞分裂从而影响种粒形状和大小.

先前的研究证实, *GW2* 基因表达量的减少可以增加粒宽, 同时其超表达可以减小种粒尺寸^[5]. 高表达 *GS5* 可以增加颖壳细胞数量^[11]. 因此本研究分析了野生型和 *bsg1-1* 颖壳中 *GW2* 和 *GS5* 的表达情况. *GW2* 的表达量在 *bsg1-1* 的 8-cm 幼穗中显著上调, 而 *GS5* 表达量的变化则不明显 (图 6B). 这些结果表明, *BSG1* 可能参与 *GW2* 的调控.

2.6 *BSG1* 调控花发育相关基因

MADS-box 基因在植物包括水稻的花器官特化中起到重要作用^[33]. 因此本研究检测了一些涉及水稻颖壳和浆片发育的 MADS-box 基因的表达情况, 在野生型和 *bsg1-1* 两者间存在显著差异表达水平的基因在图 7 中显示. 在突变体 *bsg1-1* 中 E 类基因 *OsMADS1* 和 *OsMADS6* 仅在 0.5-cm 幼穗中下调, 而 *OsMADS16* 在 0.5 和 8-cm 幼穗中都下调 (图 7). *OsMADS55* 的转录水平在 *bsg1-1* 的 0.5-cm 幼穗中升高, 却在 8-cm 幼穗中降低 (图 7). 而且本研究发现 C 类基因 *OsMADS58* 和 D 类基因 *OsMADS13* 的表达在 *bsg1-1* 的 8-cm 幼穗中都上调, 同时 *OsMADS13* 在 0.5-cm 幼穗中也显著上调 (图 7). 这些结果表明, *BSG1* 可能参与花器官的形成和发育.

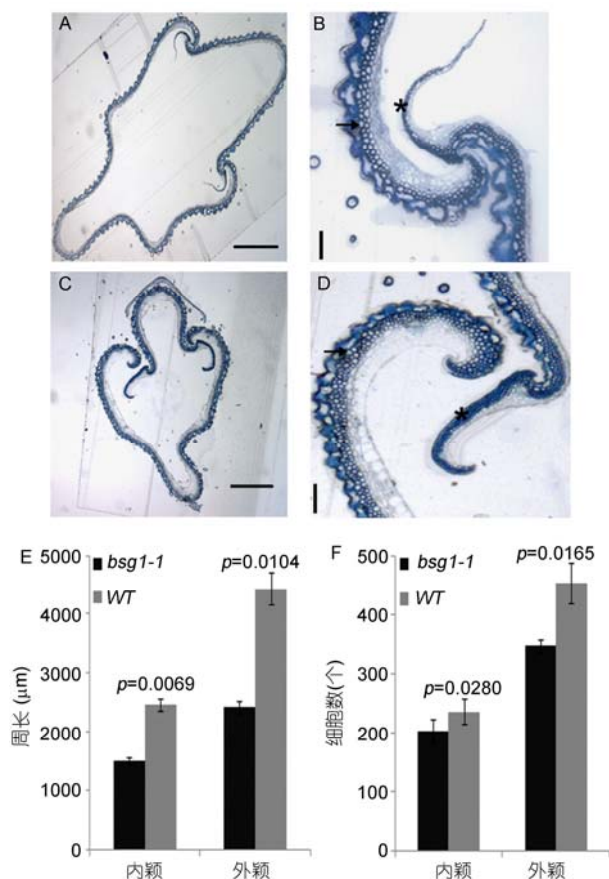


图 5 野生型和 *bsg1-1* 的颖壳组织切片分析 (网络版彩图)

A 和 C: 野生型 (A) 和 *bsg1-1* (C) 的颖壳横切面; B 和 D: 野生型 (B) 和 *bsg1-1* (D) 的内颖纵切面, 箭头指示外层薄壁细胞, 星号指示内颖边缘组织, 标尺为 1 mm; E 和 F: 野生型和 *bsg1-1* 内外颖外层薄壁细胞层的周长 (E) 和细胞数目 (F), 样本数为 10, *P* 值由 *t* 检验计算得出

3 讨论

水稻种粒的形状、大小以及灌浆都会受到细胞分裂和分化的影响. 先前报导 *TH1* 基因 (本实验中为

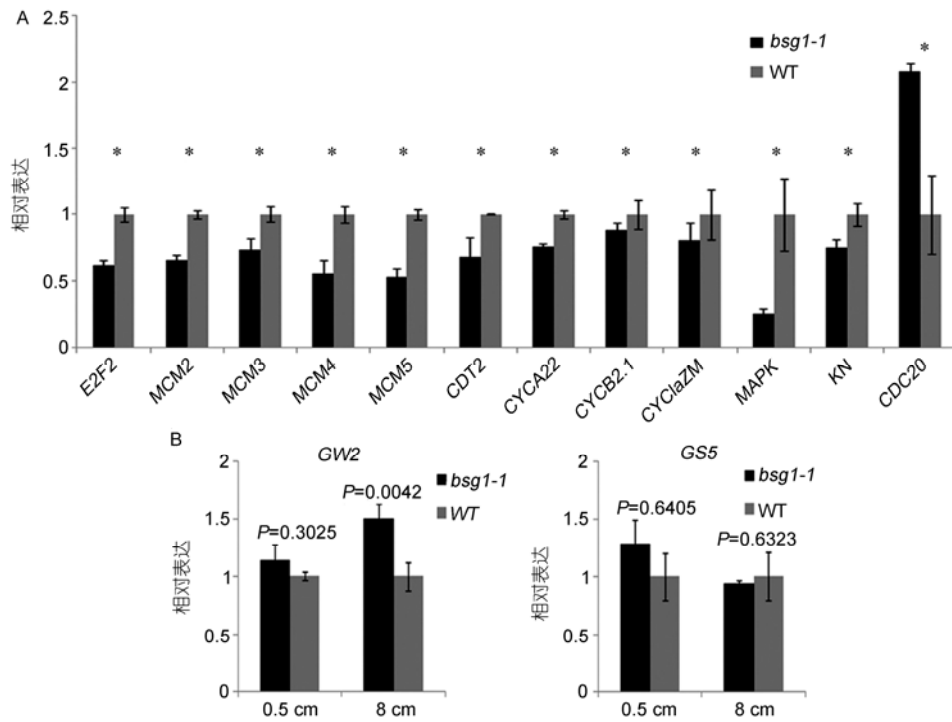


图 6 细胞周期相关基因的表达水平

A: 野生型和 *bsg1-1* 的颖壳中细胞周期相关基因的相对表达量, *表示 $P < 0.05$; B: 野生型和 *bsg1-1* 的幼穗(0.5 和 8 cm) 中 *GW2* 和 *GS5* 的表达水平, 结果重复 3 次, P 值由 t 检验计算得出

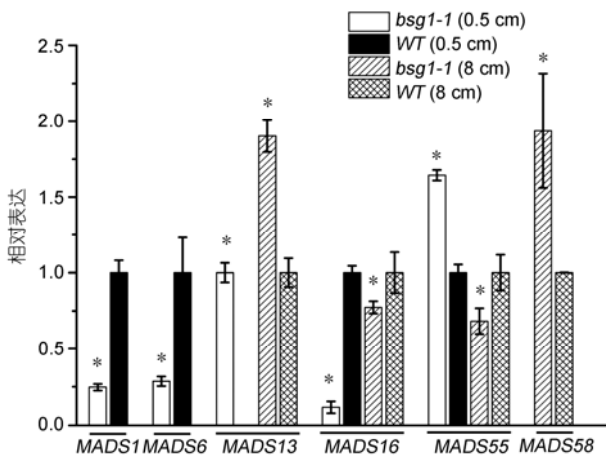


图 7 野生型和 *bsg1-1* 的幼穗(0.5 和 8 cm)中 MADS-box 基因的表达水平

ACTIN 基因作为内参, *表示 $P < 0.05$

BSG1 控制水稻种粒的形状和大小^[31]. 然而, *TH1* 如何影响颖壳形态仍不清楚. 突变体 *bsg1* 的种子粒宽和粒厚都减少(图 1), 组织切片也显示 *bsg1* 内外颖的外薄壁细胞层细胞变小且数目减少, 与粒形的表型

一致. 此外, 基因表达分析表明, 大多数细胞周期相关的正向调控因子在突变体 *bsg1* 中的表达都下调. 因此, *BSG1* 很可能在水稻花器官发育进程中作为正向调控因子. 与此功能一致的是 *BSG1* 主要在幼穗中表达(图 4D 和 E).

数据库搜索结果显示, 水稻和拟南芥中各有 10 个编码 DUF640 蛋白的基因^[34](图 8A 和 B). 拟南芥中 *LIGHT-DEPENDENT SHORT HYPOCOTYLS1* (*LSH1*)是目前对其功能阐述较为清楚的一个 DUF640 基因, 它调控幼苗的光控发育^[35]. 水稻中的 *LONG STERILE LEMMA* (*G1*)基因控制护颖的特化, 参与转录调控^[34]. *LSH1*, *G1* 和 *BSG1* 都定位在细胞核内. 而且本研究还通过酵母系统检测到 *BSG1*

具有转录激活活性(网络版附图 1). 因此, *BSG1* 可能参与调控水稻颖壳的细胞分裂和扩展. 其详细机理需要通过 *BSG1* 互作蛋白的鉴定来进一步研究.

OsMADS55 基因负向调控 BR 响应、茎秆伸长和衰老进程^[36]. *OsMADS55* 在 *bsg1* 中表达量的改变意味着 *BSG1* 可能参与 *OsMADS55* 调控穗轴伸长和花器官

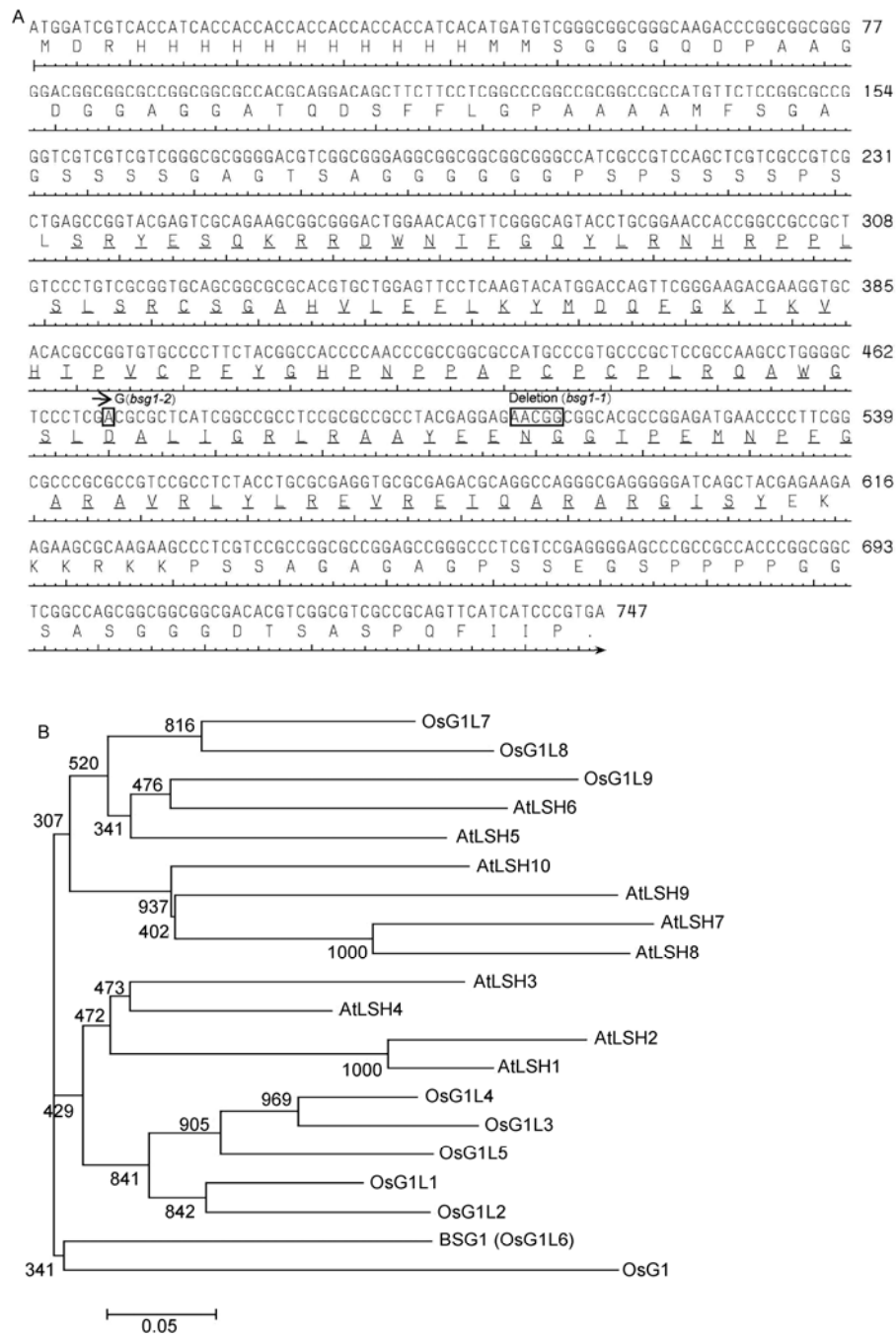


图 8 DUF640 蛋白家族成员的系统进化分析

A: *BSG1* 的 cDNA 和蛋白序列, 虚线表示 DUF640 结构域, 黑框表示突变位点; B: 水稻和拟南芥中 DUF640 蛋白的系统进化分析, 进化树构建采用相邻法, 图中数字表示 bootstrap 值

扩展的过程. 先前的研究表明 *OsMADS58* 在花顶端原基和心皮发育中起作用, 而 *OsMADS13* 只参与胚珠的特化^[37,38]. 因此本研究推测除了内外颖和浆片,

BSG1 也影响心皮和胚珠的发育. 然而, 对于不同花器官中调控因子精细表达模式的变化以及 *BSG1* 调控花同源异型基因的机理仍需深入的研究.

致谢 感谢中国科学院上海生命科学研究院植物生理生态研究所高小彦和高孝舒老师在电子扫描显微照相和激光共聚焦显微照相中的帮助.

参考文献

- 1 Xue W, Xing Y, Weng X, et al. Natural variation in *Ghd7* is an important regulator of heading date and yield potential in rice. *Nat Genet*, 2008, 40: 761–767
- 2 Li S, Qian Q, Fu Z, et al. Short panicle1 encodes a putative PTR family transporter and determines rice panicle size. *Plant J*, 2009, 58: 592–605
- 3 Jiao Y, Wang Y, Xue D, et al. Regulation of *OsSPL14* by *OsmiR156* defines ideal plant architecture in rice. *Nat Genet*, 2010, 42: 541–544
- 4 Fan C, Xing Y, Mao H, et al. *GS3*, a major QTL for grain length and weight and minor QTL for grain width and thickness in rice, encodes a putative transmembrane protein. *Theor Appl Genet*, 2006, 112: 1164–1171
- 5 Song X J, Huang W, Shi M, et al. A QTL for rice grain width and weight encodes a previously unknown RING-type E3 ubiquitin ligase. *Nat Genet*, 2007, 39: 623–630
- 6 Shomura A, Izawa T, Ebana K, et al. Deletion in a gene associated with grain size increased yields during rice domestication. *Nat Genet*, 2008, 40: 1023–1028
- 7 Weng J, Gu S, Wan X, et al. Isolation and initial characterization of *GW5*, a major QTL associated with rice grain width and weight. *Cell Res*, 2008, 18: 1199–1209
- 8 Wang E, Wang J, Zhu X, et al. Control of rice grain-filling and yield by a gene with a potential signature of domestication. *Nat Genet*, 2008, 40: 1370–1374
- 9 Ashikari M, Sakakibara H, Lin S, et al. Cytokinin oxidase regulates rice grain production. *Science*, 2005, 309: 741–745
- 10 Miura K, Ikeda M, Matsubara A, et al. *OsSPL14* promotes panicle branching and higher grain productivity in rice. *Nat Genet*, 2010, 42: 545–549
- 11 Li Y, Fan C, Xing Y, et al. Natural variation in *GS5* plays an important role in regulating grain size and yield in rice. *Nat Genet*, 2011, 43: 1266–1269
- 12 Mao H, Sun S, Yao J, et al. Linking differential domain functions of the *GS3* protein to natural variation of grain size in rice. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107: 19579–19584
- 13 Jeon J S, Jang S, Lee S, et al. *leafy hull sterile1* is a homeotic mutation in a rice *MADS* box gene affecting rice flower development. *Plant Cell*, 2000, 12: 871–884
- 14 Yuan Z, Gao S, Xue D W, et al. *RETARDED PALEA1* controls palea development and floral zygomorphy in rice. *Plant Physiol*, 2009, 149: 235–244
- 15 Jin Y, Luo Q, Tong H, et al. An AT-hook gene is required for palea formation and floral organ number control in rice. *Dev Biol*, 2011, 359: 277–288
- 16 Horigome A, Nagasawa N, Ikeda K, et al. Rice OPEN BEAK is a negative regulator of class 1 knox genes and a positive regulator of class B floral homeotic gene. *Plant J*, 2009, 58: 724–736
- 17 Inze D, de Veylder L. Cell cycle regulation in plant development. *Annu Rev Genet*, 2006, 40: 77–105
- 18 de Veylder L, Beeckman T, Inze D. The ins and outs of the plant cell cycle. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2007, 8: 655–665
- 19 Dewitte W, Murray J A. The plant cell cycle. *Annu Rev Plant Biol*, 2003, 54: 235–264
- 20 Magyar Z, Meszaros T, Miskolczi P, et al. Cell cycle phase specificity of putative cyclin-dependent kinase variants in synchronized alfalfa cells. *Plant Cell*, 1997, 9: 223–235
- 21 Sorrell D A, Menges M, Healy J M, et al. Cell cycle regulation of cyclin-dependent kinases in tobacco cultivar Bright Yellow-2 cells. *Plant Physiol*, 2001, 126: 1214–1223
- 22 Breyne P, Dreesen R, Vandepoele K, et al. Transcriptome analysis during cell division in plants. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99: 14825–14830
- 23 Corellou F, Camasses A, Ligat L, et al. Atypical regulation of a green lineage-specific B-type cyclin-dependent kinase. *Plant Physiol*, 2005, 138: 1627–1636
- 24 Fobert P R, Gaudin V, Lunness P, et al. Distinct classes of *cdc2*-related genes are differentially expressed during the cell division cycle in plants. *Plant Cell*, 1996, 8: 1465–1476
- 25 Fabian-Marwedel T, Umeda M, Sauter M. The rice cyclin-dependent kinase-activating kinase R2 regulates S-phase progression. *Plant Cell*, 2002, 14: 197–210

- 26 Umeda M, Umeda-Hara C, Uchimiya H. A cyclin-dependent kinase-activating kinase regulates differentiation of root initial cells in *Arabidopsis*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, 97: 13396–13400
- 27 Morgan D O. Cyclin-dependent kinases: engines, clocks, and microprocessors. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 1997, 13: 261–291
- 28 de Veylder L, Beeckman T, Beemster G T, et al. Functional analysis of cyclin-dependent kinase inhibitors of *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2001, 13: 1653–1668
- 29 Hiei Y, Ohta S, Komari T, et al. Efficient transformation of rice (*Oryza sativa* L.) mediated by *Agrobacterium* and sequence analysis of the boundaries of the T-DNA. *Plant J*, 1994, 6: 271–282
- 30 Livak K J, Schmittgen T D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method. *Methods*, 2001, 25: 402–408
- 31 Li X, Sun L, Tan L, et al. *TH1*, a DUF640 domain-like gene controls lemma and palea development in rice. *Plant Mol Biol*, 2012, 78: 351–359
- 32 Iwata E, Ikeda S, Matsunaga S, et al. GIGAS CELL1, a novel negative regulator of the anaphase-promoting complex/cyclosome, is required for proper mitotic progression and cell fate determination in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2011, 23: 4382–4393
- 33 Yamaguchi T, Hirano H Y. Function and diversification of MADS-box genes in rice. *Sci World J*, 2006, 6: 1923–1932
- 34 Yoshida A, Suzaki T, Tanaka W, et al. The homeotic gene *long sterile lemma (GL)* specifies sterile lemma identity in the rice spikelet. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106: 20103–20108
- 35 Zhao L, Nakazawa M, Takase T, et al. Overexpression of *LSH1*, a member of an uncharacterised gene family, causes enhanced light regulation of seedling development. *Plant J*, 2004, 37: 694–706
- 36 Lee S, Choi S C, An G. Rice SVP-group MADS-box proteins, *OsMADS22* and *OsMADS55*, are negative regulators of brassinosteroid responses. *Plant J*, 2008, 54: 93–105
- 37 Yamaguchi T, Lee D Y, Miyao A, et al. Functional diversification of the two C-class MADS box genes *OSMADS3* and *OSMADS58* in *Oryza sativa*. *Plant Cell*, 2006, 18: 15–28
- 38 Li H, Liang W, Hu Y, et al. Rice *MADS6* interacts with the floral homeotic genes *SUPERWOMAN1*, *MADS3*, *MADS58*, *MADS13*, and *DROOPING LEAF* in specifying floral organ identities and meristem fate. *Plant Cell*, 2011, 23: 2536–2552