

ヒメツリガネゴケの幹細胞誘導機構

石川 雅樹

基礎生物学研究所 生物進化研究部門

総合大学院大学 生命科学研究科 基礎生物学専攻

〒444-8585 愛知県岡崎市明大寺町字西郷中 38

Molecular mechanisms of stem cell formation in the moss *Physcomitrella patens*

Key words: cell cycle; *Physcomitrella patens*; reprogramming; stem cell; wounding

Masaki Ishikawa

Division of Evolutionary Biology, National Institute for Basic Biology

Department of Basic Biology, School of Life Sciences, Graduate School for Advanced Studies

38 Nishigonaka, Myodaiji, Okazaki, 444-8585, Japan

1. はじめに

多細胞生物にみられる幹細胞は、自己複製能力と分化した細胞を生み出す能力の両方をもった細胞であり、多細胞体制の起点となる細胞である。幹細胞は、生物個体の特定の場所に維持されており、種子植物ではメリステムで維持されている (Weigel and Jurgens, 2002)。また分化した細胞から幹細胞を誘導することも可能である。例えば、種子植物の組織片をオーキシン、サイトカイニンを含む培地で培養すると、分化細胞からカルスが誘導され、植物ホルモン濃度に依存して幹細胞を含んだメリステムが形成される。また哺乳類でも、数種類の遺伝子を発現させることによって、繊維芽細胞を始めとした多くの分化細胞を、胚性幹細胞様の細胞 (iPS細胞) に変化させることが可能になっている (Masip et al., 2010)。

通常、分化細胞は細胞増殖を停止して特定の細胞機能を果たしている。そのため、分化細胞が幹細胞へ変化する過程 (幹細胞化) では、分化細胞が細胞周期を再開するとともに、その分化細胞が持っている細胞の性質をリセットし幹細胞の性質を獲得する。また、分化細胞の細胞周期の再開、およびその進行は、幹細胞の性質を獲得するために必要なプロセスであることが分かってきた (Che et al., 2007; Hanna et al., 2009; Kim et al., 2011)。そのため、幹細胞化の過程では「細胞周期の再開・進行」と「細胞性質の変化」が協調的に制御される必要があるが、その分子機構はよく分かっていない。

筆者が所属している研究グループでは、分化細胞から幹細胞を容易に誘導できるコケ植物セン類に属するヒメツリガネゴケ (*Physcomitrella patens*) を用いて、その謎に取り組んできた。そこで本稿では、ヒメツリガネゴケの幹細胞化における細胞周期の再開と細胞性質の変化を協調的に制御している分子機構について解説する。

2. 幹細胞化研究のモデル植物としてのヒメツリガネゴケ

コケ植物は、陸上植物のなかで最も古く分岐しており、セン類、タイ類、ツノゴケ類の3つに

分かれる。セン類に属するヒメツリガネゴケは、ヨーロッパ、北米に広く分布しており、配偶体世代が優先的な生活史をもつ。また、陸上植物で最も容易に遺伝子ターゲティングを行うことができ、被子植物以外の陸上植物としては初めて全ゲノム解析が完了している (Rensing et al., 2008; Zimmer et al., 2013)。そのため遺伝子情報を利用して、遺伝子破壊、あるいは緑色蛍光タンパク質 (GFP) などのレポーター遺伝子を目的の箇所にも容易に挿入することができ、遺伝子の機能解析を行いやすい。

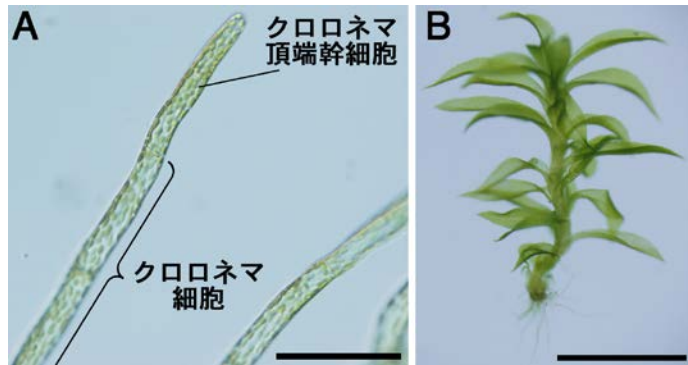


図 1. (A) クロロネマと (B) 茎葉体。
(スケールバーは、[A] 100 μ m, [B] 1 mm)

さらにヒメツリガネゴケは、幹細胞を誘導しやすく、細胞レベルでの観察が容易である。ヒメツリガネゴケは、孢子が発芽するとクロロネマ頂端幹細胞が形成され、先端成長と細胞分裂を繰り返すことで、細胞内に丸い葉緑体を密に持ち、隣接する細胞同士を隔てる細胞壁を細胞の長軸に対して垂直に形成するクロロネマ細胞を生み出す (図 1A; Kofuji and Hasebe, 2014)。これにより、細胞が一行に並んだクロロネマが形成される。しばらくすると、クロロネマ頂端幹細胞は、カウロネマ頂端幹細胞へと変化し、紡錘型の葉緑体を細胞の中にまばらに持ち、隔壁を細胞の長軸に対して斜めに形成するカウロネマ細胞を作り出していく。また、一部のカウロネマ細胞から芽分化が生じ、茎と葉からなる茎葉体が形成される (図 1B)。その葉は、中肋部分を除いて一層の細胞のみで構成されている。

そして、ヒメツリガネゴケの葉を茎葉体から切り離すと、植物ホルモンなしで切断面に面した葉細胞で細胞周期の再開がおこり、切断後 2 日以内にクロロネマ頂端幹細胞が形成される (図 2; Ishikawa et al., 2011)。このようにヒメツリガネゴケは、容易に幹細胞を誘導することが可能であるとともに、幹細胞化する細胞を特定し、その細胞の動的変化を観察することができるため、幹細胞化研究の優れたモデル生物の一つであると言える。筆者が所属している研究グループでは、これらのヒメツリガネゴケの利点を生かし、幹細胞化に関わる因子の解析を行い、細胞周期と細胞性質の変化を協調的に制御する分子機構の一端を明らかにしてきた。

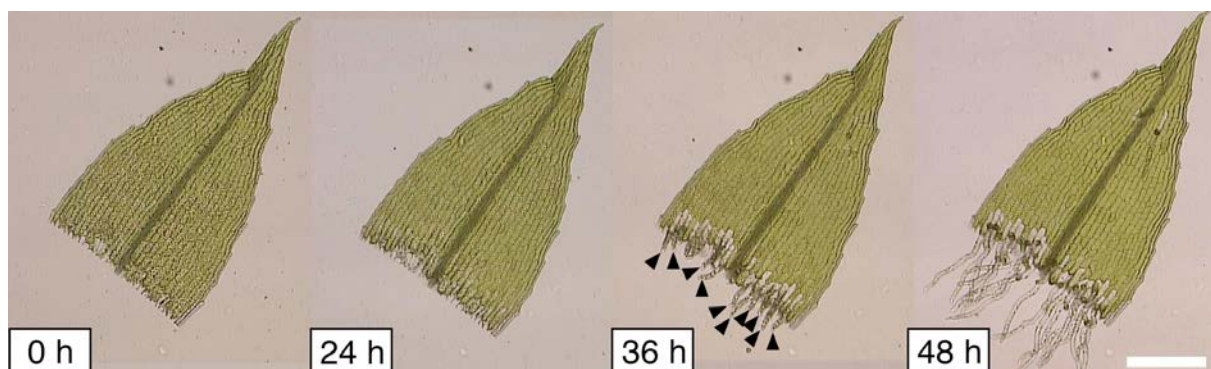


図 2. 切断葉の経時的変化

幹細胞化した細胞を鋏で表している。(スケールバーは、300 μ m) 写真提供: Liechi Zhang

3. ヒメツリガネゴケの幹細胞化における細胞周期の再開

多細胞体制を構築している分化細胞の多くは、細胞周期 G1 期で停止している。増殖因子や傷害などによって刺激が加わると、一部の細胞が細胞周期を再開させ細胞増殖が起こる。真核生物の細胞周期の再開・進行は、サイクリンとサイクリン依存性キナーゼ (Cyclin-dependent kinase: CDK) の複合体によって制御されている (Komaki and Sugimoto, 2012)。ヒメツリガネゴケのゲノムにも、これらをコードする遺伝子が保存されている (Rensing et al., 2008)。そこで、幹細胞化におけるこれらの遺伝子発現や CDK キナーゼ活性を調べたところ、細胞周期の G1 期から S 期への移行時に機能する D タイプ-サイクリン (CYCD) が、切断後 12 時間目あたりで切断面に面する細胞で発現が上昇し、その後、G2 期から M 期への移行を制御する B タイプ-サイクリンが発現してきた (Ishikawa et al., 2011)。一方、細胞周期制御の中心的な役割を果たす A タイプ CDK (CDKA) は、ヒメツリガネゴケには CDKA;1 と CDKA;2 の二つが存在しているが、どちらも切断前の葉細胞全体で発現していたが、そのキナーゼ活性は CYCD の発現とともに上昇した。また細胞質分裂前にチミジンアナログである EdU の取り込みが観察された。これらのことから、ヒメツリガネゴケの葉細胞は、他の多細胞生物の分化細胞と同様に G1 期に停止しており、切断刺激によって細胞周期が G1 期から再開すると予想された。

ところが、フローサイトメトリーで葉細胞の DNA 量を調べてみると、ヒメツリガネゴケの茎葉体は半数体世代であるにもかかわらず、ほぼ 2C の核 DNA 量であることが分かった (Ishikawa et al., 2011)。このことは、葉細胞は細胞周期の G1 期ではなく、S 期後半で停止していることを意味しており、筆者は以下に挙げる細胞周期再開の可能性を考えている。

3-1. S 期後半からの細胞周期再開

葉細胞は S 期後半で停止して、DNA 複製が未完了であることが考えられ、切断後に複製されていない領域での DNA 複製が起こるという可能性である (図 3A)。S 期は DNA 複製が起こる時期であるが、細胞の性質を変化させる時期でもあることが分かってきたため、S 期からの細胞周期再開は、幹細胞化の性質を誘導するのに適切な時期であることが推察できる。

動植物を問わず、どの体細胞でも遺伝情報は同じであるため、各々の体細胞は、発生や成長の過程に応じて発現させる遺伝子を切り替え、組織・器官特異的な機能を獲得する。このような遺伝子発現制御の変化は、転写因子による制御に加えて、DNA のメチル化修飾やヒストンタンパク質の化学修飾といったエピジェネティック修飾によっても制御されている。そのため、分化細胞から幹細胞へ変化するためには、エピジェネティック修飾の消去および再構成が必要である。

例えば、ショウジョバエの成虫原基における細胞分化転換を伴う器官再生過程では、S 期が通常の細胞周期における S 期に比べて長くなっており、この S 期の長さが以前の細胞性質をリセットするのに必要である (Sustar and Schubiger, 2005)。またショウジョバエの胚発生では、S 期の DNA 複製の間に、転写活性に働くヒストン H3 の 4 番目のリジンがトリメチル化された H3K4me3 や、転写抑制に働くヒストン H3 の 27 番目のリジンがトリメチル化された H3K27me3 が、そのような修飾を受けていないヒストン H3 に置き換わり、DNA 複製後、再びヒストン修飾がおこることが示された (Petruk et al., 2012)。これらのことから、S 期で以前のエピジェネティック修飾をリセットし、あらたな遺伝子発現パターンを獲得するための分子機構が働いているようである。

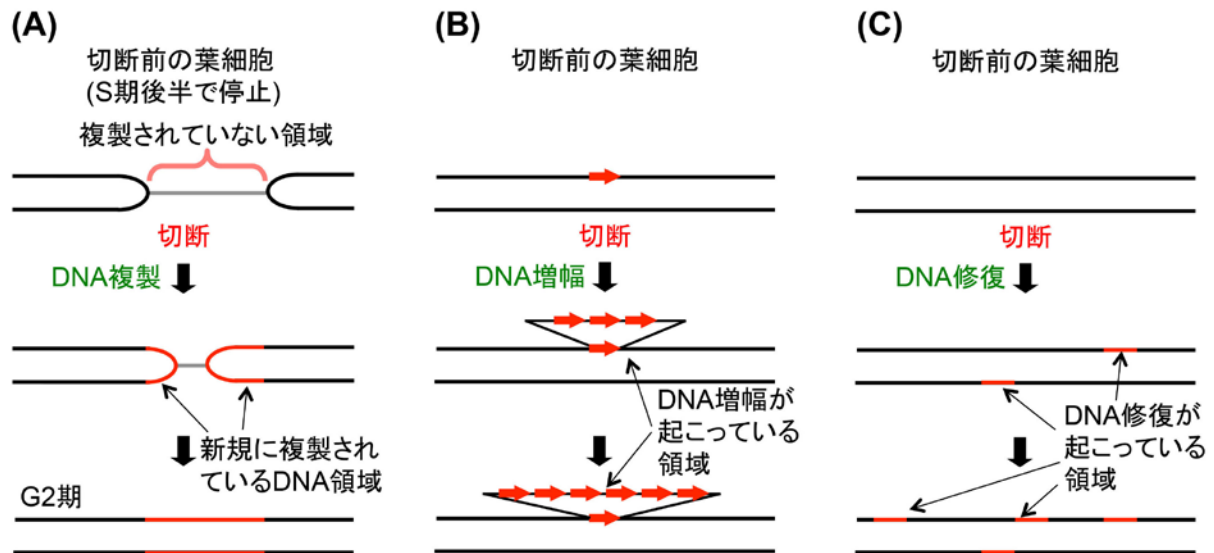


図3. ヒメツリガネゴケの幹細胞化でおこる細胞周期再開のモデル

(A) S 期後半からの細胞周期再開。(B) DNA 増幅を伴った細胞周期再開。(C) DNA 修復を伴った細胞周期再開。詳細は本文参照。

ヒメツリガネゴケで同様なことが起こっているどうかは定かでないが、葉細胞が S 期で停止しているのであれば、切断後に複製されていない領域での DNA 複製が起これるとともに、エピジェネティック修飾変化も誘導することで、葉細胞からクロロネマ頂端幹細胞へと細胞の性質を変化させているのかもしれない。

3-2. DNA 増幅を伴う細胞周期再開

切断前の葉細胞は S 期後半で停止しているが、切断により DNA 複製だけでなく、DNA 複製とは異なる DNA 合成が特定のゲノム領域でおこる可能性も考えられる (図 3B)。実際に、DNA 複製とは異なる DNA 合成がいくつかの生物で見つかっている。被子植物では、脱分化しカルス形成するとき反復配列の DNA 増幅が起こるようである (Kunakh, 1999)。また酵母での rDNA の遺伝子増幅 (Ide et al., 2010) や、ガン細胞での細胞増殖関連遺伝子の増幅 (Schwab, 1998) が知られている。これらのことは、細胞増殖に関わる遺伝子を増幅させることで細胞増殖能を高めているようである。ヒメツリガネゴケで同じようなことが起こっているのであれば、切断後におこる DNA 合成は、細胞分裂を停止させている葉細胞の分裂活性を高める働きがあるのかもしれない。

3-3. DNA 修復を伴う細胞周期再開

DNA 複製以外の DNA 合成が伴う別の可能性として、DNA 修復がおこっている可能性が考えられる。切断という傷害シグナルによって、切断面に面した葉細胞で DNA 損傷が起こっている可能性が考えられ、正確に娘細胞に遺伝情報を伝えるために、幹細胞化の過程で、DNA 損傷を修復させているのかもしれない。

また細胞の分化転換の過程においても DNA 修復系が活性化されることが知られている。ヒヤクニチソウでは、葉肉細胞から管状要素への分化転換過程で、DNA 修復に似た DNA 合成が起こることが報告されている (Sugiyama et al., 1995)。またマウスの発生初期において、卵や精子を作り出す始原生殖細胞では、遺伝子発現パターンを体細胞型から生殖細胞型へと変換しなければならないが、この過程において、始原生殖細胞を G2 期で停止させ、その間に DNA 修復系を使って DNA のメチル化パターンの変化を起こす (Hajkova et al., 2008; Hajkova et al., 2010)。ヒメツリガネゴケの幹細胞化の過程においても、そのような DNA 修復系が活性化され、幹細胞化過程に必要なエピジェネティックな変化を引き起こしているのかもしれない。

一方、ヒメツリガネゴケの切断葉を DNA 複製の阻害剤であるアフィディオリンで処理すると、DNA 合成と細胞質分裂が抑制されるが、クロロネマ頂端幹細胞の特徴である先端成長が観察された (図 4; Ishikawa et al., 2011)。このことから、切断後におこる DNA 合成は、細胞の性質を変化させるために必要な過程というよりは、細胞分裂に必要な過程ではないかと考えられる。

3-4. 特異な細胞周期再開と細胞性質の変化

被子植物や動物において、分裂を停止した体細胞は細胞周期 G1 期で停止しているが、増殖因子などの刺激を感知すると、その細胞は再び細胞分裂の周期に入ることができる。分裂を停止している細胞には、新しい細胞周期に入るか否か決定するポイント、Restriction point (R 点) が G1 期に存在している。そして一度 R 点を過ぎると、細胞周期は途中で止まることなく一巡する。ところが、ヒメツリガネゴケの葉細胞は S 期後半で停止しているため、G1 期にある R 点を超えていると考えられる。そのため、何らかの制御機構が働いて細胞周期を G1 期以外のステージで停止させていることが考えられる。そして切断刺激により、S 期後半で細胞周期を停止させる制御機構が解除され、(A) S 期後半からの細胞周期再開、(B) DNA 増幅を伴う細胞周期再開、(C) DNA 修復系を用いた細胞周期再開のいずれかが起こるのではないかと考えられる。

また細胞の性質変化を引き起こすためには、その細胞が保持している特異的な遺伝子発現パターンを切り替える必要があり、S 期でそれがおこる可能性は先に述べた。また G2 期でも、そのような変化を起こす時期であることがマウスの始原生殖細胞で分かってきた。始原生殖細胞における G2 期での停止は、DNA のメチル化パターンの変化以外にも、ヒストン修飾の変化がおこる (Seki et al., 2007; Hyldig et al., 2011)。また始原生殖細胞が G2 期で停止できないノックアウトマウスでは、そのようなヒストン修飾が起こらない (Pirouz et al., 2013)。これらのことを考慮すると、ヒメツリガネゴケの S 期後半で停止している葉細胞は、切断後に複製されていない領域の DNA 複製に加え、G2 期に入るとヒストン修飾のようなエピジェネティック修飾の変化を受け、細胞性質変化を誘導している可能も考えることができる。

4. 細胞周期制御因子による細胞周期と細胞性質変化を統御する分子機構

次に幹細胞化における細胞周期と細胞性質変化の結び付きを調べるため、いくつかの細胞周期の進行を阻害する薬剤を加えて、ヒメツリガネゴケの幹細胞化の様子を調べてみた。アフィディオリンで切断葉を処理すると、切断後の DNA 合成と細胞質分裂が抑制されたが、原系体細胞の特徴のひとつである先端成長や原系体特異的遺伝子の発現が観察された (図 4; Ishikawa et al., 2011)。一方、CDK 活性を阻害するロスコビチンで処理すると、DNA 合成と細胞質分裂だけでな

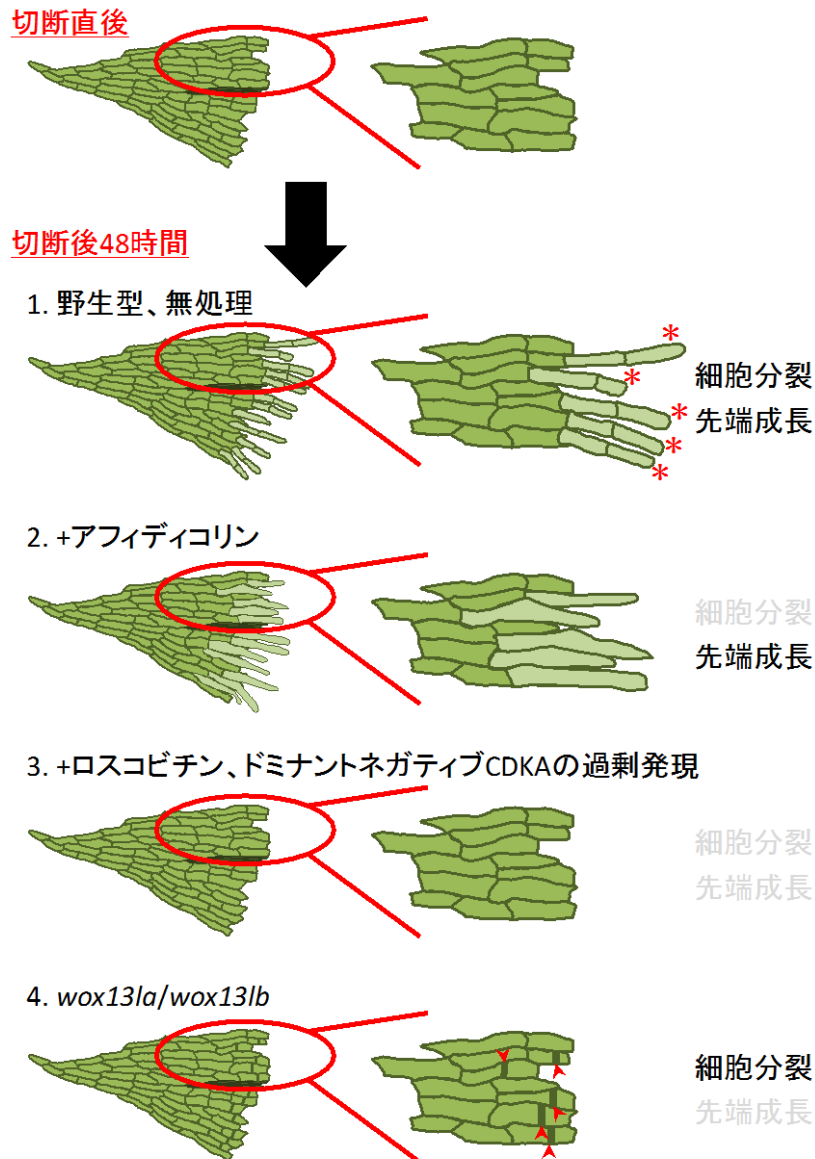


図4. 切断後の葉細胞の変化を表した模式図

1. 野生型、無処理の場合、切断面に接した細胞が幹細胞化し、細胞分裂と先端成長がおこる。
*はクロロネマ頂端幹細胞を示す。
2. 切断葉をアフィディコリンで処理した場合。細胞分裂は抑制されるが、先端成長はおこる。
3. 切断葉をロスコビチン、ドミナントネガティブ CDKA を過剰発現させた場合。細胞分裂と先端成長の両方が抑制される。
4. *wox13la wox13lb* 二重遺伝子欠失株の切断葉。先端成長は抑制されるが、細胞分裂は抑制されない。鋸は細胞質分裂を示している。

く、先端成長と原糸体特異的遺伝子発現も抑制された (図4; Ishikawa et al., 2011)。どちらも細胞周期の進行を抑制する薬剤であるが、アフィディコリンは DNA ポリメラーゼ活性を阻害することで DNA 複製を抑制し、細胞周期の進行を止める。一方ロスコビチンは、CDK のキナーゼ活性

を抑制することで、細胞周期の進行を止める。これらのことから2つの阻害剤による表現型の違いは、CDK キナーゼ活性の違いによる可能性が考えられた。そこで、キナーゼ不活性型の CDKA;1 をヒメツリガネゴケで過剰発現させることで、内在性の CDKA のキナーゼ活性を抑制させると、ロスコピチン処理と同様に切断後の細胞分裂と頂端成長が抑制された (図4; Ishikawa et al., 2011)。これらのことから、CDKA が細胞周期の進行と細胞伸長の両方を制御していることが分かった (図5)。言い換えれば、幹細胞化の過程では、細胞周期の進行と独立して細胞の性質変化を誘導する分子機構が働いており、CDKA がその分子機構を制御していると言うことができる。

この細胞の性質変化を誘導する分子機構は、ホメオボックス遺伝子の一つである *WUSCHEL-RELATED HOMEODOMAIN 13-LIKE (WOX13L)* の解析から、その一端が見え始めてきた。*WOX13L* 遺伝子は、シロイヌナズナの *WOX13* 遺伝子のオルソログであり、ヒメツリガネゴケには、*WOX13LA*、*WOX13LB*、*WOX13LC* の三つの遺伝子が存在している (Deveaux et al., 2008; Sakakibara et al., 2014)。*WOX13LA* と *WOX13LB* の二つの遺伝子を破壊した変異体では、細胞質分裂は起こるが、クロロネマ頂端幹細胞の特徴である頂端成長は抑制される (図4; Sakakibara et al., 2014)。つまり、*WOX13L* 遺伝子は、細胞周期制御とは独立した幹細胞化における先端成長のプログラムを制御しているということが明らかになった (図5)。

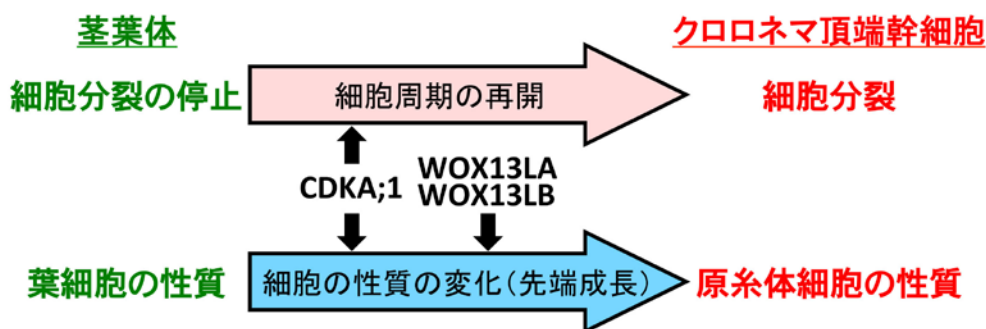


図5. 細胞周期の再開と細胞性質の変化を統御する仕組み

現時点で、どのようにしてCDKAが細胞の性質変化、つまり先端成長を制御しているのかは不明であるが、これまでの動物やシロイヌナズナの知見を合わせて、一つの可能性を考えてみたい。シロイヌナズナの葉からのカルス形成には、ゲノムワイドのヒストン H3K27me3 の変化が必要である (He et al., 2012)。また動物の培養細胞では、CDKA のホモログである Cdk1 が、ポリコーム抑制複合体 (PRC2) を構成する因子 Ezh2 をリン酸化することで、Ezh2 のヒストンメチル化活性を制御し、ヒストン H3K27me3 の頻度を変化させる (Chen et al., 2010)。ヒメツリガネゴケにも PRC2 を構成している因子は存在しており (Mosquna et al., 2009; Okano et al., 2009)、そのうちのひとつ *FIE* 遺伝子は、幹細胞化の過程で発現が上昇するので、幹細胞化に関わっているのではないかと考えられている (Mosquna et al., 2009)。そこで、切断後に活性化された CDKA は、分裂を停止している葉細胞の細胞周期を再開させるとともに、PRC2 の構成因子をリン酸化することで、その酵素活性やゲノムDNAと結合能などを変えることで、ゲノムワイドにヒストン H3K27 のメチル化状態を変え、細胞周期以外の細胞性質変化を誘導しているのではないかと考えている。

この仮説を検証するためには、CDKA の標的因子を同定するとともに、CDKA のキナーゼ活性によってヒストン修飾状態がどのように変化するのか調べることが必要であろう。

5. 今後の展望

陸上植物間でのゲノム比較から、細胞周期制御因子だけでなく基本的な遺伝子セットは陸上植物間で保存されている (Banks et al., 2011)。また、シロイヌナズナの CDKA が細胞周期制御だけでなく、幹細胞の性質を制御していることが示されているので (Gaamouche et al., 2010)、ヒメツリガネゴケの幹細胞化における協調的制御機構が、陸上植物全体でも機能している可能性は大きいと予想される。そのため、ヒメツリガネゴケの幹細胞化過程における CDKA の機能の解明は、被子植物の発生および再生過程に見られる幹細胞化の細胞性質の変化・維持に対して統一的な理解に貢献できることが期待される。さらには、どのようにして細胞周期制御因子である CDKA が、細胞周期以外の細胞性質の変化を誘導させるのか、その分子基盤を明らかにすることで、動植物を問わず、多細胞生物の分化状態と幹細胞状態の2つの状態が変動するときの分子機構を解き明かす鍵が得られるのではないかと期待される。

6. 謝辞

本稿で紹介したヒメツリガネゴケの幹細胞化研究は、主に ERATO 長谷部分化全能性進化プロジェクトで行われた。また本研究を進めるにあたり、数々のご助言や実験のサポートを頂いた、基礎生物学研究所の長谷部光泰 教授、村田隆 博士、日渡祐二 博士、ERATO 長谷部プロジェクトでお世話になった倉田哲也 博士、久保稔 博士、佐藤良勝 博士、西山智明 博士、榊原恵子 博士に、この場を借りてお礼申し上げます。

7. 引用文献

- Banks, J.A., Nishiyama, T., Hasebe, M., Bowman, J.L., Gribskov, M., et al. 2011. The Selaginella genome identifies genetic changes associated with the evolution of vascular plants. *Science* 332: 960-963.
- Che, P., Lall, S., and Howell, S.H. 2007. Developmental steps in acquiring competence for shoot development in Arabidopsis tissue culture. *Planta* 226: 1183-1194.
- Chen, S., Bohrer, L.R., Rai, A.N., Pan, Y., Gan, L., Zhou, X., Bagchi, A., Simon, J.A., and Huang, H. 2010. Cyclin-dependent kinases regulate epigenetic gene silencing through phosphorylation of EZH2. *Nat. Cell Biol.* 12: 1108-1114.
- Deveaux, Y., Toffano-Nioche, C., Claisse, G., Thareau, V., Morin, H., Laufs, P., Moreau, H., Kreis, M., and Lecharny, A. 2008. Genes of the most conserved WOX clade in plants affect root and flower development in Arabidopsis. *BMC Evol. Biol.* 8: 291.
- Gaamouche, T., Manes, C.L., Kwiatkowska, D., Berckmans, B., Koumproglou, R., Maes, S., Beeckman, T., Vernoux, T., Doonan, J.H., Traas, J., Inze, D., and De Veylder, L. 2010. Cyclin-dependent kinase activity maintains the shoot apical meristem cells in an undifferentiated state. *Plant J.* 64: 26-37.
- Hajkova, P., Jeffries, S.J., Lee, C., Miller, N., Jackson, S.P., and Surani, M.A. 2010. Genome-wide reprogramming in the mouse germ line entails the base excision repair pathway. *Science* 329: 78-82.

- Hajkova, P., Ancelin, K., Waldmann, T., Lacoste, N., Lange, U.C., Cesari, F., Lee, C., Almouzni, G., Schneider, R., and Surani, M.A. 2008. Chromatin dynamics during epigenetic reprogramming in the mouse germ line. *Nature* 452: 877-881.
- Hanna, J., Saha, K., Pando, B., van Zon, J., Lengner, C.J., Creighton, M.P., van Oudenaarden, A., and Jaenisch, R. 2009. Direct cell reprogramming is a stochastic process amenable to acceleration. *Nature* 462: 595-601.
- He, C., Chen, X., Huang, H., and Xu, L. 2012. Reprogramming of H3K27me3 is critical for acquisition of pluripotency from cultured Arabidopsis tissues. *PLoS Genet.* 8: e1002911.
- Hyldig, S.M., Croxall, N., Contreras, D.A., Thomsen, P.D., and Alberio, R. 2011. Epigenetic reprogramming in the porcine germ line. *BMC Dev. Biol.* 11: 11.
- Ide, S., Miyazaki, T., Maki, H., and Kobayashi, T. 2010. Abundance of ribosomal RNA gene copies maintains genome integrity. *Science* 327: 693-696.
- Ishikawa, M., Murata, T., Sato, Y., Nishiyama, T., Hiwatashi, Y., Imai, A., Kimura, M., Sugimoto, N., Akita, A., Oguri, Y., Friedman, W.E., Hasebe, M., and Kubo, M. 2011. Physcomitrella cyclin-dependent kinase A links cell cycle reactivation to other cellular changes during reprogramming of leaf cells. *Plant Cell* 23: 2924-2938.
- Kim, J., Lengner, C.J., Kirak, O., Hanna, J., Cassady, J.P., Lodato, M.A., Wu, S., Faddah, D.A., Steine, E.J., Gao, Q., Fu, D., Dawlaty, M., and Jaenisch, R. 2011. Reprogramming of postnatal neurons into induced pluripotent stem cells by defined factors. *Stem Cells* 29: 992-1000.
- Kofuji, R., and Hasebe, M. 2014. Eight types of stem cells in the life cycle of the moss *Physcomitrella patens*. *Curr. Opin. Plant Biol.* 17: 13-21.
- Komaki, S., and Sugimoto, K. 2012. Control of the plant cell cycle by developmental and environmental cues. *Plant Cell Physiol.* 53: 953-964.
- Kunakh, V.A. 1999. Plant genome variation in the course of *in vitro* dedifferentiation and callus formation. *Russian J. Plant Physiol.* 46: 808-817.
- Masip, M., Veiga, A., Izpisua Belmonte, J.C., and Simon, C. 2010. Reprogramming with defined factors: from induced pluripotency to induced transdifferentiation. *Mol. Hum. Reprod.* 16: 856-868.
- Mosquna, A., Katz, A., Decker, E.L., Rensing, S.A., Reski, R., and Ohad, N. 2009. Regulation of stem cell maintenance by the Polycomb protein FIE has been conserved during land plant evolution. *Development* 136: 2433-2444.
- Okano, Y., Aono, N., Hiwatashi, Y., Murata, T., Nishiyama, T., Ishikawa, T., Kubo, M., and Hasebe, M. 2009. A polycomb repressive complex 2 gene regulates apogamy and gives evolutionary insights into early land plant evolution. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 106: 16321-16326.
- Petruk, S., Sedkov, Y., Johnston, D.M., Hodgson, J.W., Black, K.L., Kovermann, S.K., Beck, S., Canaani, E., Brock, H.W., and Mazo, A. 2012. TrxG and PcG proteins but not methylated histones remain associated with DNA through replication. *Cell* 150: 922-933.
- Pirouz, M., Pilarski, S., and Kessel, M. 2013. A critical function of Mad2l2 in primordial germ cell development of mice. *PLoS Genet.* 9: e1003712.

- Rensing, S.A., Lang, D., Zimmer, A.D., Terry, A., Salamov, A., et al. 2008. The *Physcomitrella* genome reveals evolutionary insights into the conquest of land by plants. *Science* 319: 64-69.
- Sakakibara, K., Reisewitz, P., Aoyama, T., Friedrich, T., Ando, S., Sato, Y., Tamada, Y., Nishiyama, T., Hiwatashi, Y., Kurata, T., Ishikawa, M., Deguchi, H., Rensing, S.A., Werr, W., Murata, T., Hasebe, M., and Laux, T. 2014. WOX13-like genes are required for reprogramming of leaf and protoplast cells into stem cells in the moss *Physcomitrella patens*. *Development* 141: 1660-1670.
- Schwab, M. 1998. Amplification of oncogenes in human cancer cells. *Bioessays* 20: 473-479.
- Seki, Y., Yamaji, M., Yabuta, Y., Sano, M., Shigeta, M., Matsui, Y., Saga, Y., Tachibana, M., Shinkai, Y., and Saitou, M. 2007. Cellular dynamics associated with the genome-wide epigenetic reprogramming in migrating primordial germ cells in mice. *Development* 134: 2627-2638.
- Sugiyama, M., Yeung, E., Shoji, Y., and Komamine, A. 1995. Possible involvement of DNA-repair events in the transdifferentiation of mesophyll cells of *Zinnia elegans* into tracheary elements. *J. Plant Res.* 85: 351-361.
- Sustar, A., and Schubiger, G. 2005. A transient cell cycle shift in *Drosophila* imaginal disc cells precedes multipotency. *Cell* 120: 383-393.
- Weigel, D., and Jurgens, G. 2002. Stem cells that make stems. *Nature* 415: 751-754.
- Zimmer, A.D., Lang, D., Buchta, K., Rombauts, S., Nishiyama, T., Hasebe, M., Van de Peer, Y., Rensing, S.A., and Reski, R. 2013. Reannotation and extended community resources for the genome of the non-seed plant *Physcomitrella patens* provide insights into the evolution of plant gene structures and functions. *BMC Genomics* 14: 498.