

根粒初期発生における細胞リプログラミング機構

寿崎拓哉・川口正代司
 基礎生物学研究所 共生システム研究部門
 総合研究大学院大学 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

A mechanism of reprogramming cell fate during early nodule development

Key words: endoreduplication, *Lotus japonicus*, nodule development, root nodule symbiosis

Takuya Suzaki, Masayoshi Kawaguchi
 Division of Symbiotic Systems, National Institute for Basic Biology
 Department of Basic Biology, School of Life Sciences, Graduate School for Advances Studies
 Nishigonaka 38, Myodaiji, Okazaki 444-8585, Aichi, Japan

1. はじめに

多くのマメ科植物とごく一部の植物（ニレ科のパラスボニアなど）は、窒素固定能を有する土壤細菌である根粒菌と相互作用することにより、根に“根粒”と呼ばれる共生器官を形成する能力を有している。根粒を通して、植物と根粒菌は“根粒共生”と呼ばれる窒素と炭素の栄養のやりとりを基本とした相利共生関係を築くことができる。植物と微生物の共生機構を研究する上で、根粒共生はそのモデルケースとなることは多くの研究により示されていることであるが、植物の形態形成の研究としても非常に興味深い現象が含まれていると我々は考えている。というのも、根粒初期発生過程では、根粒菌の感染および根粒菌が分泌するリポキチンオリゴ糖の一種であるNod factorがトリガーとなり、宿主植物根のこれまで分化していた皮層の細胞の一部が脱分化し、細胞分裂が誘導され、根粒原基が形成されるからである(Brewin 1991, Yang et al. 1994)。したがって、この発生過程では、外的刺激（根粒菌感染）に応答した新たな器官形成（根粒形成）に向けた分化細胞の運命転換（リプログラミング）が起こると言え換えることができる(Crespi & Frugier 2008, Suzaki & Kawaguchi 2014)。根粒形成の研究は、マメ科のモデル植物であるミヤコグサ (*Lotus japonicus*) とタルウマゴヤシ (*Medicago truncatula*) を用いて世界中で精力的に研究が進められている。タルウマゴヤシの根粒は無限型根粒と呼ばれ、根粒の先端に根粒メリシステムが存在し、求頂的に根粒が成長するのに対し、ミヤコグサに形成される根粒は明確な根粒メリシステム構造はみられず、有限型根粒と呼ばれる(Brewin 1991, Ferguson et al. 2010)。また、無限型根粒では、内側の皮層（一般的にマメ科植物では皮層は3-4層から成る）と内鞘の細胞分裂が誘導され、根粒を構成する細胞となると考えられている(Xiao et al. 2014)。一方、有限型根粒では専ら外側の皮層細胞の細胞分裂が誘導され、根粒を構成する細胞へと分化すると考えられている(Szczyglowski et al. 1998)。このように、根粒の形態や由来する細胞に違いはあるが、根粒菌の感染・侵入機構や根粒発生の基本的なメカニズムはミヤコグサとタルウマゴヤシは保存されていることが多くの研究により示されており、これまで、この2つの植物の研究者がしのぎを削ることにより根粒形成の研

究が発展してきた。

我々が研究対象としているミヤコグサは、我が国主導でゲノム配列の解読や研究リソースの整備が行われてきたマメ科の草本である（図1）(Sato et al. 2008)。ゲノムサイズは470 Mbほどで、イネとほぼ同等であり、草丈は30cmほどで、室内の蛍光灯下で安定した栽培が可能である。また、世代時間が早いエコタイプ(MG-20)を用いれば、2~3ヶ月ほどで世代をまわすことができる。さらに、マメ科植物では難しいとされてきた形質転換技術が早くから確立している点も特徴である。近年では内在性のトランスポゾン(*LORE1*)を用いたタグラインの整備が充実してきており、逆遺伝学的な研究を行う環境も整いつつある(Fukai et al. 2012, Urbanski et al. 2012)。ミヤコグサの共生パートナーであるミヤコグサ根粒菌 (*Mesorhizobium loti*) も我が国が主導でゲノム解読、リソースの整備が行われている(Kaneko et al. 2000)。共生関係にある生物は無数にいるが、共生関係にある生物の両方（ミヤコグサ、根粒菌）のゲノムが解読され、またそれぞれの生物種において様々な遺伝的リソースや分子ツールが整っている例はほとんどない。根粒共生は、宿主-根粒菌の認識、根粒菌の宿主細胞への侵入、根粒内における共生窒素固定などが植物・根粒菌それぞれの因子によって密接に相互作用しながらコントロールされており、我々にとっては大変興味深い現象が満載の研究対象であるが、ここでは、根粒初期発生に焦点を当てて、植物側の研究により得られた最近の知見や我々の研究成果を紹介し考察する。



図1. ミヤコグサ (A) とミヤコグサの根粒(B).

スケールバー: 10 cm (A), 1 mm (B).

2. 根粒初期発生におけるサイトカイニン・オーキシンの役割

植物の形態形成では、2つの植物ホルモン、サイトカイニンとオーキシンが細胞増殖・分化をコントロールする中枢的な機能を担うことが広く知られている。根粒発生においても例外ではなく、サイトカイニンとオーキシンの根粒発生における機能を調べる生理学的な研究が古くから行われてきた(Suzaki et al. 2013)。近年、ミヤコグサとタルウマゴヤシにおいて、サイトカイニンの受容体が特定され、根粒発生におけるサイトカイニンの遺伝的機能の理解が大きく進んだ(Gonzalez-Rizzo et al. 2006, Murray et al. 2007, Tirichine et al. 2007, Frugier et al. 2008)。ミヤコグサのLOTUS HISTIDINE KINASE 1 (*LHK1*)はシロイヌナズナのARABIDOPSIS HISTIDINE KINASE 4 (*AHK4*)のオルソログであり、サイトカイニンの受容体として機能する。*LHK1*の機能喪失変異体 (*lhk1*) では根粒発生が阻害されることから、*LHK1*は根粒発生を正に制御する働きをもつことが示された(Murray et al. 2007)。その一方で、*lhk1*変異体では、根粒形成能が完全には抑制されず、少数の根粒が形成されることが知られていた。最近、ミヤコグサではLHK1AとLHK3と名付けられた他のサイトカイニン受容体が*LHK1*と重複した機能をもつことが明らかにされた(Held et al. 2014)。実際に、*lhk1 lhk1a lhk3*の3重変異体では根粒発生が全く起こらない。その一方で、*LHK1*の優性変異体として、サイトカイニンの受容に関わるドメインの点突然変異により、サイトカイニンシグナリングが構成的に活性化される*spontaneous nodule formation 2 (snf2)*変異体

が単離されている。この *snf2* 変異体を根粒菌非存在下で育てると、皮層細胞分裂が自発的に誘導され、“自発的根粒”と呼ばれる、形態が通常の根粒と類似した構造が形成されることがわかつた (Tirichine et al. 2007)。このように、サイトカイニン受容体の劣性および優性変異体の解析から、サイトカイニンシグナリングの活性化が根粒発生のトリガーとして必要かつ十分であることがわかつてきた。最近では、ミヤコグサの根にサイトカイニンを与えるだけで、条件次第で根粒様構造の形成が誘導されることも示されている(Heckmann et al. 2011)。サイトカイニンからの情報伝達はヒスチジン-アスパラギンのリン酸化リレー系が用いられており、この機構は細菌や酵母の二成分制御系と類似していることが知られている(Heyl & Schmulling 2003)。サイトカイニン情報伝達では、最終的にはDNA結合活性をもつ B-type response regulators (RRs)がそのターゲット遺伝子の発現を調節することが知られている。タルウマゴヤシを中心にして、根粒発生過程において発現が誘導される RRs 遺伝子が同定されつつあるが(Gonzalez-Rizzo et al. 2006, Ariel et al. 2012)，詳細な機能解明には至っていない。

オーキシンもサイトカイニンと同様に、根粒発生における関与が古くから研究されてきた植物ホルモンの1つである(Suzaki et al. 2013)。近年、我々の研究により、オーキシン応答が皮層細胞分裂時に誘導されることがわかつた(Suzaki et al. 2012)。また、*snf2* 変異体における自発的根粒形成過程において、オーキシン応答が誘導されることもわかつた。さらに、タルウマゴヤシにおいて、オーキシンの極性輸送を阻害すると、根粒菌非存在下で根粒様の構造が分化することや、サイトカイニンシグナリングは、オーキシン排出キャリアーをコードする *PIN* 遺伝子の発現をコントロールすることも示された(Plet et al. 2011, Rightmyer & Long 2011)。これらの知見を統合すると、根粒発生におけるサイトカイニンシグナリングの1つの役割として、オーキシンを根粒発生予定領域に蓄積する働きを担っている可能性が示唆される。これまでのところ、オーキシンの生合成、シグナリング、輸送に関わる遺伝子の根粒発生における機能を示した報告例はないため、根粒初期発生におけるオーキシンの役割はあいまいな点が多い。今後、ミヤコグサ、タルウマゴヤシ双方において逆遺伝学的な研究が加速することで、その詳細が明らかになることが期待される。

3. サイトカイニンシグナリングの下流における根粒初期発生の制御機構

これまでのミヤコグサとタルウマゴヤシを中心とした研究により、根粒形成に関わる多くの遺伝子が同定されている。根粒形成では、“表皮における根粒菌感染に依存したシグナリング”と“皮層における根粒発生”の質的に異なる2つの制御系が、空間的に離れた組織において、連続的かつ一部同調的に進行することが知られており、この2つの制御系のどちらか一方でも破綻すると、基本的には根粒が形成されない。これまでの研究では、この2つの制御系をうまく区分して研究することは困難であったが、ごく最近の組織特異的プロモーターを用いた研究により、その問題は緩和されつつある(Rival et al. 2012, Hayashi et al. 2014)。さらに、自発的根粒現象の発見により、根粒発生に焦点を当てた研究が可能になった。*snf2* 変異体により誘導される自発的根粒形成が、種々の既知の根粒形成変異によって影響を受けるか調べた研究により、GRAS タイプの転写因子 NODULATION SIGNALING PATHWAY 1 (NSP1) および NSP2, RWP-RK タイプの転写因子 NODULE INCEPTION (NIN) がサイトカイニン受容体の下流において、根粒発生の正の制御に関与することが明らかになった(Tirichine et al. 2007)。NIN は根粒形成に関わる遺伝子として最初に

同定された植物側の遺伝子であり、根粒形成過程で特異的に発現が誘導される遺伝子であることが知られてきた(Schauser et al. 1999)。最近、NIN は NUCLEAR FACTOR-Y(NF-Y) 遺伝子を直接の標的とすることが明らかになり、さらに *NIN* や *NF-Y* 遺伝子を構成的に発現させると、根粒菌非存在下で皮層細胞分裂が誘導されることも示された（ただし、*snf2* の自発的根粒と異なり、根粒様構造の形成までには至らない）(Soyano et al. 2013)。サイトカイニンを投与した根では *NIN* の発現が誘導されること、*lkh1* 変異体では根粒菌感染依存的な *NIN* の発現誘導が起こらないことから、サイトカイニンシグナリングは *NIN* の発現誘導に必要であると考えられている(Heckmann et al. 2011, Soyano et al. 2014)。

4. 核内倍加と根粒発生の制御関係

我々はサイトカイニンシグナリングの下流において根粒初期発生に関与する分子機構を明らかにすることを目的に、これまで *snf2* の抑圧変異体のスクリーニングを行い、単離した変異体の原因遺伝子の解析を行ってきた。ミヤコグサの *vagrant infection thread 1 (vag1)* は *snf2* 依存的な自発的根粒形成を抑圧する変異体として単離された(Suzaki et al., 2014)。*vag1* の完全な機能喪失変異体と思われるアリルでは、通常の根粒形成が完全に抑圧されることから、*VAG1* は根粒発生に必須な遺伝子と考えられる。ポジショナルクローニングにより、その原因遺伝子を特定したところ、*VAG1* はシロイヌナズナにおいて DNA トポイソメラーゼ VI の構成因子として知られている ROOT HAIRLESS 1 (RHL1)/HYPOCOTYL 7 のオルソログであることあることが判明した (Sugimoto-Shirasu et al. 2005, Suzaki et al. 2014)。DNA トポイソメラーゼ VI は核内倍加と呼ばれる核内 DNA 量を増幅する過程において、DNA の二重らせんがもつれることを防ぐ作用をもつ酵素複合体と考えられている。シロイヌナズナでは、DNA トポイソメラーゼ VI を構成する因子の機能喪失変異体はいずれも核内倍加に関連した細胞生長過程に著しい異常がみられる(Hartung et al. 2002, Sugimoto-Shirasu et al. 2002, Yin et al. 2002, Sugimoto-Shirasu et al. 2005, Breuer et al. 2007, Kirik et al. 2007)。シロイヌナズナの *RHL1* を *vag1* 変異体に導入したところ、根粒形成の異常が相補されたことから、*VAG1* と *RHL1* はタンパクの機能としても類似していることが示唆された。

根粒形成では、成熟した根粒において、根粒菌が侵入しつつある細胞の核内倍加が起こることにより細胞サイズが増大し、根粒菌がコロナ化

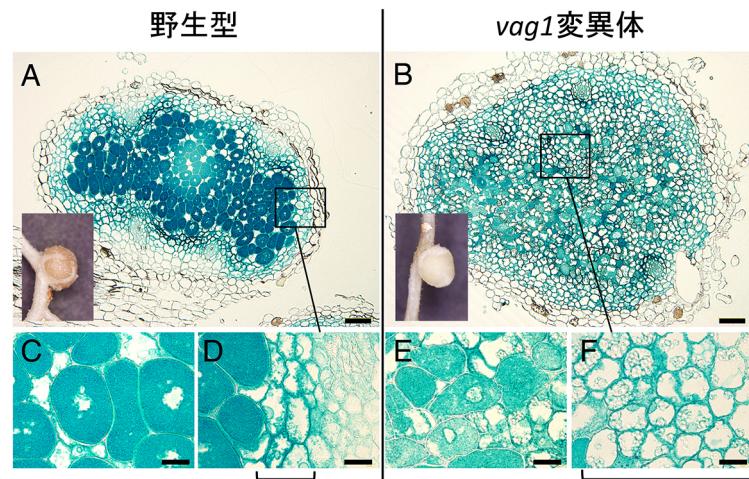


図 2. 野生型(A,C,D)と *vag1* 変異体(B,E,F)の根粒切片.

LacZ を構成的に発現する根粒菌を感染させ、根粒を X-gal 染色している。ドット状の青色のシグナルは根粒菌を示す。野生型では根粒内部は核内倍加した感染細胞で埋めつくされている(A,C)。*vag1* 変異体では感染細胞の数とサイズが減少し(B,E)、感染細胞の前段階の細胞（ brackets で示す）の数が増加する(D,F)。スケールバー : 100 μm (A, B), 20 μm (C-F).

し窒素固定を行う細胞（感染細胞）へと分化することが知られている(Foucher & Kondorosi 2000, Vinardell et al. 2003, Kondorosi & Kondorosi 2004,)。*vag1* 変異体の弱いアリルでは根粒形成能が完全には失われておらず、ごく少数の根粒を形成する。形成された根粒のサイズは野生型と大きな違いは認められないが、感染細胞のサイズと数が著しく減少していることが判明した（図 2）。根粒細胞の核相を調べたところ、高次(16C 以上)に核内倍加した細胞の割合が減少していることもわかった。その一方で、*vag1* の根粒では、感染細胞に分化する前段階の細胞の数が増加していることから、通常の細胞分裂は正常（むしろ活発）に行われていると考えられる（図 2）。これらの結果は、VAG1 は成熟根粒における感染細胞の分化に関わる核内倍加をコントロールしていることが示唆される。

次に、根粒発生（皮層細胞分裂）の開始過程における VAG1 の関与を調べるために、核のサイズに着目した根粒初期発生の観察を行ったところ、野生型では皮層細胞分裂の直前に一部の細胞の核サイズが増大することがわかった。その後、サイズの増大した核をもつ細胞の周囲の皮層細胞の分裂が誘導される様子が観察された。その一方で、*vag1* 変異体では根粒菌が感染した領域における皮層細胞の核サイズの増大はみられず、皮層細胞分裂も誘導されないことがわかった。このことは、根粒発生を開始する上で、VAG1 を介した皮層細胞の核内倍加が重要な役割を担う可能性を示唆している（図 3）。上述のように、根粒初期発生では皮層細胞における局所的なオーキシン応答はサイトカイニンシグナリングの制御下におかれていると考えられている。*vag1* 変異体では皮層細胞分裂は誘導されないもののオーキシン応答はみされることから、オーキシン応答までは正常に機能していると思われる。言い換えると、皮層細胞の核内倍加はサイトカイニンとオーキシンシグナリングの下流において誘導される可能性が考えられる。この発見は、エンドウの根の皮層組織片にサイトカイニンとオーキシンを与えると核内倍加が誘導されることを示したごく初期の研究成果とも一致する(Libbenga & Torrey 1973)。また、根粒発生の制御における DNA トポイソメラーゼ VI の役割は、最近、

VAG1 とは異なる DNA トポイソメラーゼ VI の構成因子の解析からも明らかにされている(Yoon et al. 2014)。DNA トポイソメラーゼ VI の A サブユニットをコードする *SUNERGOS1* の機能喪失体では、興味深いことに高温において根粒形成の表現型が強まることが示されており、温度依存的に DNA トポイソメラーゼ VI の活性をコントロールする仕組みが存在する可能性が考えられる。

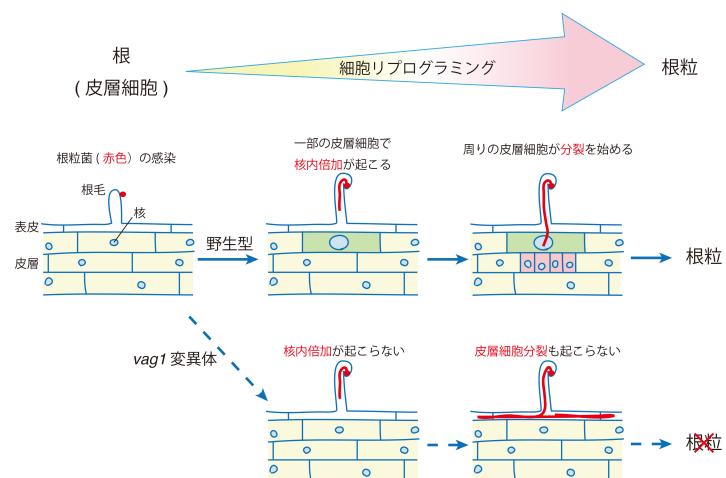


図 3. VAG1 を介した根粒初期発生の制御モデル

植物の発生では、シロイヌナズナの葉の表皮のトライコーム、トウモロコシの胚乳、根粒内部の感染細胞の分化に代表されるように、核内倍加は細胞サイズの制御に密接にリンクするものと一般的に考えられてきた。その一方で、本研究により見出された根粒初期発生における皮層細胞の核内倍加は細胞サイズの明確な増大を伴わない。現在のところ、根粒初期発生において核内倍

加が起こることの生物学的な意味は不明であるが、皮層細胞の局所的な核内倍加の誘導が根粒発生の開始を決める要因になる可能性がある。したがって、その詳細な機構を明らかにすることで、分化細胞の運命転換の分子機構の理解が進み、さらに核内倍加の新たな役割が見出される可能性があると考えている。そのためには、DNA トポイソメラーゼ VI に限らず、核内倍加の制御に関わる遺伝子の根粒初期発生における詳細な機能やその相互関係を明らかにしていくことが今後の重要な課題である。

5. おわりに

この数年の間に、根粒発生に関する遺伝子が次々と単離され、また既知の遺伝子の新たな機能が明らかになり、根粒初期発生の分子機構を理解する基盤が整いつつある。しかし、細胞リプログラミングの視点に立つと、サイトカイニン、オーキシン、NINなどの転写因子、あるいは核内倍加を制御する因子が、具体的にどのようなメカニズムで皮層細胞の細胞運命をリセットし、根粒発生プログラムのスイッチを入れるのかを説明するまでには至っていない。その制御の詳細を明らかにするには、これらの鍵因子の詳細な分子機能を明らかにし、また新たな因子を特定していくことは当然重要であるが、分化細胞の分子・形態マーカーを確立し、さらに、エピジェネティックな制御の視点も取り入れることにより、細胞運命の転換の現場を明確におさえることが肝要と思われる。今後は、根粒初期発生の研究により得られた知見を、植物の他の細胞リプログラミング現象と比較・検討することにより、植物の細胞リプログラミングの制御の根幹を理解するような研究へと発展させることを目標に研究を進めていきたい。

引用文献

- Ariel, F., Brault-Hernandez, M., Laffont, C., Huault, E., Brault, M., Plet, J., Moison, M., Blanchet, S., Ichante, J.L., Chabaud, M., Carrere, S., Crespi, M., Chan, R.L., & Frugier, F. 2012. Two direct targets of cytokinin signaling regulate symbiotic nodulation in *Medicago truncatula*. *Plant Cell* 24: 3838-3852.
- Breuer, C., Stacey, N.J., West, C.E., Zhao, Y., Chory, J., Tsukaya, H., Azumi, Y., Maxwell, A., Roberts, K., & Sugimoto-Shirasu, K. 2007. BIN4, a novel component of the plant DNA topoisomerase VI complex, is required for endoreduplication in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 19: 3655-3668.
- Brewin, N.J. 1991. Development of the legume root nodule. *Annu. Rev. Cell Biol.* 7: 191-226.
- Crespi, M., & Frugier, F. 2008. De novo organ formation from differentiated cells: root nodule organogenesis. *Sci. Signal.* 1: re11.
- Ferguson, B.J., Indrasumunar, A., Hayashi, S., Lin, M.H., Lin, Y.H., Reid, D.E., & Gresshoff, P.M. 2010. Molecular analysis of legume nodule development and autoregulation. *J. Integr. Plant Biol.* 52: 61-76.
- Foucher, F., & Kondorosi, E. 2000. Cell cycle regulation in the course of nodule organogenesis in *Medicago*. *Plant Mol. Biol.* 43: 773-786.
- Frugier, F., Kosuta, S., Murray, J.D., Crespi, M., & Szczyglowski, K. 2008. Cytokinin: secret agent of symbiosis. *Trends Plant Sci.* 13: 115-120.
- Fukai, E., Soyano, T., Umehara, Y., Nakayama, S., Hirakawa, H., Tabata, S., Sato, S., & Hayashi, M. 2012. Establishment of a *Lotus japonicus* gene tagging population using the exon-targeting endogenous

- retrotransposon *LORE1*. *Plant J.* 69: 720-730.
- Gonzalez-Rizzo, S., Crespi, M., & Frugier, F. 2006. The *Medicago truncatula* CRE1 cytokinin receptor regulates lateral root development and early symbiotic interaction with *Sinorhizobium meliloti*. *Plant Cell* 18: 2680-2693.
- Hartung, F., Angelis, K.J., Meister, A., Schubert, I., Melzer, M., & Puchta, H. 2002. An archaebacterial topoisomerase homolog not present in other eukaryotes is indispensable for cell proliferation of plants. *Curr. Biol.* 12: 1787-1791.
- Hayashi, T., Shimoda, Y., Sato, S., Tabata, S., Imaizumi-Anraku, H., & Hayashi, M. 2014. Rhizobial infection does not require the cortical expression of upstream common symbiosis genes responsible for the induction of Ca²⁺ spiking. *Plant J.* 77: 146-159.
- Heckmann, A.B., Sandal, N., Bek, A.S., Madsen, L.H., Jurkiewicz, A., Nielsen, M.W., Tirichine, L., & Stougaard, J. 2011. Cytokinin induction of root nodule primordia in *Lotus japonicus* is regulated by a mechanism operating in the root cortex. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 24: 1385-1395.
- Held, M., Hou, H., Miri, M., Huynh, C., Ross, L., Hossain, M.S., Sato, S., Tabata, S., Perry, J., Wang, T.L., & Szczyglowski, K. 2014. *Lotus japonicus* cytokinin receptors work partially redundantly to mediate nodule formation. *Plant Cell* 26: 678-694.
- Heyl, A., & Schmülling, T. 2003. Cytokinin signal perception and transduction. *Curr. Opin. Plant Biol.* 6: 480-488.
- Kaneko, T., Nakamura, Y., Sato, S., Asamizu, E., Kato, T., Sasamoto, S., Watanabe, A., Idesawa, K., Ishikawa, A., Kawashima, K., Kimura, T., Kishida, Y., Kiyokawa, C., Kohara, M., Matsumoto, M., Matsuno, A., Mochizuki, Y., Nakayama, S., Nakazaki, N., Shimpo, S., Sugimoto, M., Takeuchi, C., Yamada, M., & Tabata, S. 2000. Complete genome structure of the nitrogen-fixing symbiotic bacterium *Mesorhizobium loti*. *DNA Res.* 7: 331-338.
- Kirik, V., Schrader, A., Uhrig, J.F., & Hulskamp, M. 2007. *MIDGET* unravels functions of the *Arabidopsis* topoisomerase VI complex in DNA endoreduplication, chromatin condensation, and transcriptional silencing. *Plant Cell* 19: 3100-3110.
- Kondorosi, E., & Kondorosi, A. 2004. Endoreduplication and activation of the anaphase-promoting complex during symbiotic cell development. *FEBS Lett.* 567: 152-157.
- Libbenga, K.R., & Torrey, J.G. 1973. Hormone-induced endoreduplication prior to mitosis in cultured pea root cortex cells. *Am. J. Bot.* 60: 293-299.
- Murray, J.D., Karas, B.J., Sato, S., Tabata, S., Amyot, L., & Szczyglowski, K. 2007. A cytokinin perception mutant colonized by *Rhizobium* in the absence of nodule organogenesis. *Science* 315: 101-104.
- Plet, J., Wasson, A., Ariel, F., Le Signor, C., Baker, D., Mathesius, U., Crespi, M., & Frugier, F. 2011. MtCRE1-dependent cytokinin signaling integrates bacterial and plant cues to coordinate symbiotic nodule organogenesis in *Medicago truncatula*. *Plant J.* 65: 622-633.
- Rightmyer, A.P., & Long, S.R. 2011. Pseudonodule formation by wild-type and symbiotic mutant *Medicago truncatula* in response to auxin transport inhibitors. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 24: 1372-1384.

- Rival, P., de Billy, F., Bono, J.J., Gough, C., Rosenberg, C., & Bensmihen, S. 2012. Epidermal and cortical roles of *NFP* and *DMI3* in coordinating early steps of nodulation in *Medicago truncatula*. *Development* 139: 3383-3391.
- Sato, S., Nakamura, Y., Kaneko, T., Asamizu, E., Kato, T., Nakao, M., Sasamoto, S., Watanabe, A., Ono, A., Kawashima, K., Fujishiro, T., Katoh, M., Kohara, M., Kishida, Y., Minami, C., Nakayama, S., Nakazaki, N., Shimizu, Y., Shinpo, S., Takahashi, C., Wada, T., Yamada, M., Ohmido, N., Hayashi, M., Fukui, K., Baba, T., Nakamichi, T., Mori, H., & Tabata, S. 2008. Genome structure of the legume, *Lotus japonicus*. *DNA Res.* 15: 227-239.
- Schauser, L., Roussis, A., Stiller, J., & Stougaard, J. 1999. A plant regulator controlling development of symbiotic root nodules. *Nature* 402: 191-195.
- Soyano, T., Kouchi, H., Hirota, A., & Hayashi, M. 2013. NODULE INCEPTION directly targets NF-Y subunit genes to regulate essential processes of root nodule development in *Lotus japonicus*. *PLoS Genet.* 9: e1003352.
- Soyano, T., Hirakawa, H., Sato, S., Hayashi, M., & Kawaguchi, M. 2014. NODULE INCEPTION creates a long-distance negative feedback loop involved in homeostatic regulation of nodule organ production. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 111: 14607-14612.
- Sugimoto-Shirasu, K., Stacey, N.J., Corsar, J., Roberts, K., & McCann, M.C. 2002. DNA topoisomerase VI is essential for endoreduplication in *Arabidopsis*. *Curr. Biol.* 12: 1782-1786.
- Sugimoto-Shirasu, K., Roberts, G.R., Stacey, N.J., McCann, M.C., Maxwell, A., & Roberts, K. 2005. RHL1 is an essential component of the plant DNA topoisomerase VI complex and is required for ploidy-dependent cell growth. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 102: 18736-18741.
- Suzaki, T., Yano, K., Ito, M., Umebara, Y., Suganuma, N., & Kawaguchi, M. 2012. Positive and negative regulation of cortical cell division during root nodule development in *Lotus japonicus* is accompanied by auxin response. *Development* 139: 3997-4006.
- Suzaki, T., Ito, M., & Kawaguchi, M. 2013. Genetic basis of cytokinin and auxin functions during root nodule development. *Front. Plant Sci.* 4: 42.
- Suzaki, T., Ito, M., Yoro, E., Sato, S., Hirakawa, H., Takeda, N., & Kawaguchi, M. 2014. Endoreduplication-mediated initiation of symbiotic organ development in *Lotus japonicus*. *Development* 141: 2441-2445.
- Suzaki, T., & Kawaguchi, M. 2014. Root nodulation: a developmental program involving cell fate conversion triggered by symbiotic bacterial infection. *Curr. Opin. Plant Biol.* 21: 16-22.
- Szczyglowski, K., Shaw, R.S., Wopereis, J., Copeland, S., Hamburger, D., Kasiborski, B., Dazzo, F.B., & de Bruijn, F.J. 1998. Nodule organogenesis and symbiotic mutants of the model legume *Lotus japonicus*. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 11: 684-697.
- Tirichine, L., Sandal, N., Madsen, L.H., Radutoiu, S., Albrektsen, A.S., Sato, S., Asamizu, E., Tabata, S., & Stougaard, J. 2007. A gain-of-function mutation in a cytokinin receptor triggers spontaneous root nodule organogenesis. *Science* 315: 104-107.
- Urbanski, D.F., Malolepszy, A., Stougaard, J., & Andersen, S.U. 2012. Genome-wide *LORE1*

- retrotransposon mutagenesis and high-throughput insertion detection in *Lotus japonicus*. *Plant J.* 69: 731-741.
- Vinardell, J.M., Fedorova, E., Cebolla, A., Kevei, Z., Horvath, G., Kelemen, Z., Tarayre, S., Roudier, F., Mergaert, P., Kondorosi, A., & Kondorosi, E. 2003. Endoreduplication mediated by the anaphase-promoting complex activator CCS52A is required for symbiotic cell differentiation in *Medicago truncatula* nodules. *Plant Cell* 15: 2093-2105.
- Xiao, T.T., Schilderink, S., Moling, S., Deinum, E.E., Kondorosi, E., Franssen, H., Kulikova, O., Niebel, A., & Bisseling, T. 2014. Fate map of *Medicago truncatula* root nodules. *Development* 141: 3517-3528.
- Yang, W.C., Deblank, C., Meskiene, I., Hirt, H., Bakker, J., Vankammen, A., Franssen, H., & Bisseling, T. 1994. *Rhizobium* Nod factors reactivate the cell cycle during infection and nodule primordium formation, but the cycle is only completed in primordium formation. *Plant Cell* 6: 1415-1426.
- Yin, Y., Cheong, H., Friedrichsen, D., Zhao, Y., Hu, J., Mora-Garcia, S., & Chory, J. 2002. A crucial role for the putative *Arabidopsis* topoisomerase VI in plant growth and development. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 99: 10191-10196.
- Yoon, H.J., Hossain, M.S., Held, M., Hou, H.W., Kehl, M., Tromas, A., Sato, S.S., Tabata, S., Andersen, S.U., Stougaard, J., Ross, L., & Szczyglowski, K. 2014. *Lotus japonicus SUNERGOS1* encodes a predicted subunit A of a DNA topoisomerase VI that is required for nodule differentiation and accommodation of rhizobial infection. *Plant J.* 78: 811-821.