

# 花粉とコケ植物配偶体の発生における配偶子前駆細胞の分化

山岡 尚平

京都大学 大学院生命科学研究科 分子代謝制御学分野  
〒606-8501 京都市左京区吉田近衛町

## **Gamete progenitor differentiation during development of pollen and bryophyte gametophytes**

Shohei Yamaoka

Graduate School of Biostudies, Kyoto University  
Kyoto, 606-8501, Japan

Keywords: gametophyte, generative cell, gametangium, bHLH,  
alternation of generations

DOI: 10.24480/bsj-review.14a3.00238

### 1. はじめに

陸上植物は、約5億年前に緑藻類から分岐して誕生した単系統群である。その特徴の1つとして、生活環の単相 ( $n$ ) と複相 ( $2n$ ) の両方において多細胞体 (配偶体と孢子体) を形成する、いわゆる「世代交代」を行うことが挙げられる。配偶体は、その細胞の一部を配偶子の前駆細胞 (gamete progenitor) に分化させることで配偶子形成を行う (Hisanaga et al. 2019b; Rensing and Weijers 2021)。このプロセスは、ヒトをはじめとする後生動物には見られない。後生動物では、減数分裂で生じた単相の細胞が、多細胞化することなく直接的に配偶子へと変化する。

植物の配偶子形成の発生様式は、系統間で大きく異なっている。コケ植物の配偶体は茎葉体・葉状体であり、造卵器・造精器 (配偶子器 gametangium) を発生させてその中に配偶子を形成する (図1)。一方、被子植物の配偶体は、受精と胚発生のために特化したわずか数細胞の組織である。その発生は孢子体に依存し、発生パターンは他の組織と比べてひとときわ特異である。雌性配偶体 (胚嚢) は、減数分裂で生じる大孢子が多核化し、それぞれの核が細胞化することで形成される。雄性配偶体である花粉は、減数分裂で生じる小孢子が2回だけ有糸分裂することで形成される。1回目の分

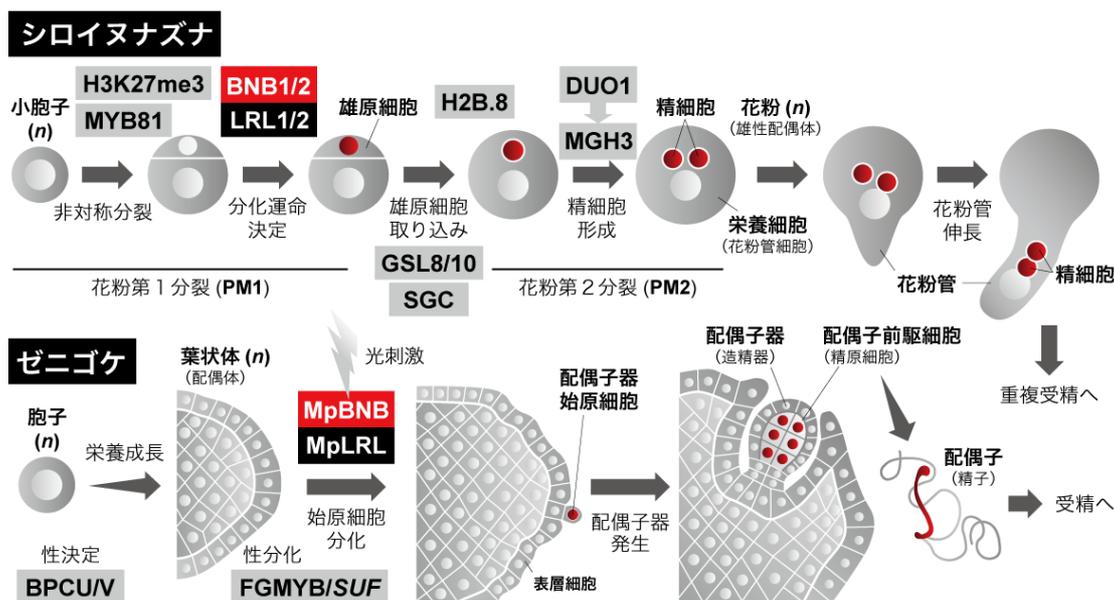


図1. シロイヌナズナの花粉発生とゼニゴケの葉状体の生殖成長 各制御因子等は本文にて説明する。

裂（花粉第1分裂，PM1）は非対称であり，小さい方の娘細胞である雄原細胞は，栄養細胞（花粉管細胞）の細胞質中に取り込まれ，「細胞の中の細胞」という特異な構造をつくる。2回目の分裂（花粉第2分裂，PM2）は，取り込まれた状態の雄原細胞に特異的な等分裂であり，2つの精細胞が生じ，重複受精が可能となる（図1）。

陸上植物の配偶体と配偶子形成の研究の歴史は長く，分子レベルでも既に多くの知見が示され，最近も数多くの優れた総説がある（たとえば Hackenberg and Twell 2019; Hater et al. 2020; Hafidh and Honys 2021）。そこで本稿では，配偶体における配偶子形成の初期過程，特に，花粉における雄原細胞の分化と栄養細胞への取り込み，そしてコケ植物の配偶子器発生の初期過程に関して，最近明らかにされた分子機構を紹介するとともに，今後の研究について展望したい。

## 2. 花粉第1分裂における細胞運命決定

PM1 において雄原細胞が分化するには，分裂の非対称性が重要であることが様々な解析で示されてきた。英国の David Twell らのグループは，タバコ小胞子をコルヒチンで処理すると，等分裂して2つの栄養細胞様の細胞が生じ，それらは花粉管を発芽できることを示した。このことから，花粉のデフォルトは栄養細胞であり，分裂の非対称性により雄原細胞の運命が決まることが分かった（Eady et al. 1995）。その後の分子遺伝学研究もこれを支持し，微小管動態制御（Park et al. 1998）および細胞周期制御の変異によって細胞運命決定の異常が生じることが示された（Glöckle et al. 2018）。最近では，PM1を制御する転写因子 MYB81 が同定された。*myb81* 変異をもつ小胞子は，核の極性移動はみられるが，細胞分裂が阻害され，成熟花粉の核のほとんどは栄養細胞の性質をもつ。

しかしながら、ごく一部の核はしばしば栄養細胞と精細胞の両方の性質をもち、細胞分裂も進行する。このことから、PM1における細胞運命決定は、MYB81とは別の因子により制御されていると考えられる (Oh et al. 2020)。

筆者らは、ゼニゴケ (*Marchantia polymorpha*) の変異株の分子遺伝学解析から、生殖成長を統御するマスター転写因子 MpBONOBO (MpBNB) を同定した (後述)。MpBNB は塩基性ヘリックス・ループ・ヘリックス (bHLH) 転写因子の1種であり、陸上植物で進化的に保存されたサブファミリーに属していた (Yamaoka et al. 2018; Bowman et al. 2017; Catarino et al. 2016)。被子植物のBNB オルソログは2つのサブクレードに分かれ、シロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana*) の2つのオルソログ BNB1 と BNB2 はそのうちの一方に属していた。GFP 標識した BNB2 (GFP-BNB2) は、PM1 直後の雄原細胞で一過的に発現した。*bnb1 bnb2* 二重変異をもつ花粉は、PM1 は正常に進行するが、その雄原細胞は PM2 のマスター転写因子 DUO1 とその標的の精細胞特異的ヒストンバリエント MGH3/HTR10/H3.10 を発現せず、本来のアイデンティティを失っていると考えられた。さらに、この二重変異型の雄原細胞は栄養細胞へ取り込まれず、「細胞の中の細胞」の構造を形成しなかった。成熟した花粉では精細胞が失われ、栄養細胞様の核1つのみをもっていた。これらの変異表現型は、BNB1 と BNB2 のいずれか一方、もしくは MpBNB によって機能的に相補できた。これらのことから、シロイヌナズナの PM1 における雄原細胞の分化運命決定は、BNB1 と BNB2 により冗長的に制御されており、その機能は陸上植物種間で保存されていることが示唆された (Yamaoka et al. 2018; 山岡ら、論文未発表)。

BNB とは別のサブファミリーに属する bHLH 転写因子 *Lotus japonicus* ROOTHAIRLESS1-LIKE 1 (LRL1) /DEFECTIVE REGION OF POLLEN 1 (DROP1) と LRL2/DROP2 の二重欠損変異株も、*bnb1 bnb2* 二重変異株と同様、精細胞を失った花粉を生じる (Zhang et al. 2017)。筆者らは、シロイヌナズナとゼニゴケの BNB と LRL/DROP (以下 LRL) は、いずれもヘテロ二量体を形成することを示した (山岡ら、論文未発表)。両者は C 末端領域に、進化的に保存された機能未知のドメインをもっている (Breuninger et al. 2016) (図 2 A)。立体構造予測によれば、BNB と LRL の二量体化には、bHLH ドメインだけでなく、これらのドメインも関わる可能性がある (図 2 B)。シロイヌナズナの *lrl1/drop1 lrl2/drop2* 二重変異は、*bnb1 bnb2* 二重変異と同様、雄原細胞の分化運命決定に異常をもたらした。さらに、この二重変異型の雄原細胞では GFP-BNB2 の発現が見られないことから、LRL は BNB とのヘテロ二量体形成だけでなく、BNB タンパク質の安定な蓄積自体にも必要であることが分かった (山岡ら、論文未発表)。LRL は、ミヤコグサ (*Lotus japonicus*) で最初に同定され、根毛形成の制御にも関わっている (Karas et al. 2009; Lin et al. 2015; Breuninger et al. 2016)。最近では、別のサブファミリーに属する bHLH 転写因子 PERICYCLE FACTOR TYPE-A 1 (PFA1) や PFA2 とヘテロ二量体形成し、側根原基の形成に関わることが示された (Zhang et al. 2021)。

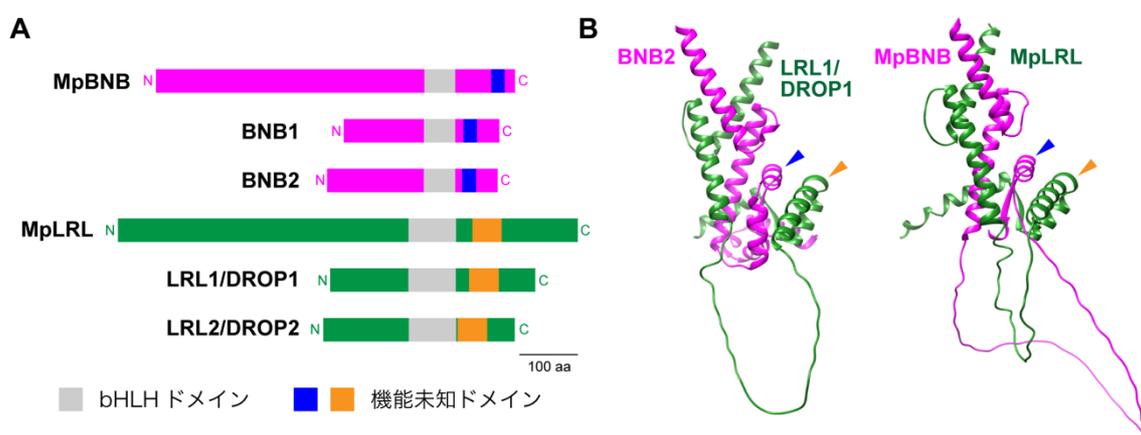


図 2. シロイヌナズナ・ゼニゴケの BNB・LRL/DROP タンパク質の構造

(A) タンパク質一次構造。スケールバーは 100 アミノ酸残基長 (aa) を示す。(B) BNB-LRL/DROP ヘテロ二量体の立体構造予測。bHLH ドメインから C 末端までの部分の相互作用を ColabFold (Mirdita et al. 2022) を用いて予測した。矢じりは BNB (青) と LRL/DROP (橙) の機能未知ドメインを示す。

*LRL* は緑藻類の一部と陸上植物において進化的に保存されており、コケ植物では仮根の形成に関わる (Tam et al. 2015; Breuninger et al. 2016)。これらのことから、*LRL* は多様なパートナー分子が機能するためのプラットフォームとしての役割を持ち、植物の生活環全般において細胞分化や器官形成に関わること、そして *BNB* は *LRL* のパートナーの 1 つであり、ヘテロ二量体形成により雄原細胞の運命決定を行うと考えられる。

一般に、細胞の分化にはエピゲノムの変化が伴う。最近、*BNB* 発現のエピジェネティック制御の可能性が示された。ヒストン H3 のリジン 27 番目残基のトリメチル化修飾 (H3K27me3) は、PM1 後、栄養細胞では維持されるが、精細胞ではほとんど消失する (Borg et al. 2020; Huang and Sun 2022)。栄養細胞で発現する H3K27me3 メチル基転移酵素遺伝子 *SWINGER* (*SWN*) のノックアウトでは、栄養細胞の H3K27me3 は完全に消失せず、細胞分化にも影響がなかった。そこで、H3K27me3 脱メチル化酵素 *RELATIVE OF EARLY FLOWERING 6* (*REF6*) を栄養細胞で過剰発現させたところ、H3K27me3 はほとんど除去され、*DUO1* が異所的に発現して、生殖細胞の性質をもつようになった。*BNB1* と *BNB2* の遺伝子座はいずれも、栄養細胞においては H3K27me3 が蓄積しており、また転写関連因子が接近しにくい「閉じた」クロマチン状態にある。*REF6* 異所発現により、これらは解除される傾向が見られ、それが *DUO1* 活性化につながることを示唆された。したがって、*BNB* の活性化には H3K27me3 の除去が必要であると考えられる (Huang and Sun 2022)。

しかしながら、PM1 の細胞運命決定のメカニズムは、依然として不明の部分が多い。前述のように、分裂の非対称性が雄原細胞の運命決定に必要とされるが、*BNB* 発現との関係は分かっていない。また、雄原細胞の染色体は著しく凝縮することが知られている。栄養細胞のクロマチンは、花粉発生のあいだ広がったままであるのに対し、雄原細胞のそれは、PM1 と同時に著しく凝縮する (田中, 2017)。最近の研究により、このク

ロマチン凝縮の一部は被子植物に特異的なヒストンバリエント H2B.8 が担うことが示されたが (Buttress et al. 2022), メカニズムの全容は明らかでない。BNB-LRL ヘテロ二量体とクロマチン凝縮の関係について、今後の研究が待たれる。

### 3. 花粉の「細胞の中の細胞」構造の形成

PM1 直後に起こる栄養細胞への雄原細胞の取り込みは、動物細胞の貪食作用 (phagocytosis) に似た、「飲み込み (engulfment)」と呼ぶべき特異な現象である。これにより、雄原細胞は「細胞の中の細胞」となり、PM2 を経て精細胞となることによって、花粉管受精が可能になる。この現象は半世紀以上にわたって様々な植物種で観察され (たとえば Angold, 1968), 最近では、ヤブラン (*Liriope muscari*) にて詳細な解析が行われた。それによると、PM1 では、雄原細胞と栄養細胞の間にはカロースとペクチンに富む細胞壁が生じる。しかし、雄原細胞が栄養細胞の細胞質中に入り込む頃には、カロースとペクチンは消失する。このことから、これらの細胞壁成分の蓄積と分解が雄原細胞の取り込みに関わる可能性がある (Hiratsuka and Terasaka 2021)。シロイヌナズナでは、カロース合成に関わる *GLUCAN SYNTHASE-LIKE (GSL)* 遺伝子のうち、*GSL8* か *GSL10* のいずれかが欠損すると、小孢子核の極性移動は正常なままだが、PM1 に異常が生じる。これらのホモ接合変異株の花粉は、約半数は成熟して野生型と同様になるが、残りの多くは致死となった。また *gsl10* の欠失変異をもつ花粉は、しばしば雄原細胞の取り込みが見られなかった。その PM1 では、カロースの異所的な蓄積と分裂面の構造異常がみられた。これらのことから、*GSL8* と *GSL10* はカロースの生合成を介して PM1 に寄与すると考えられる (Töller et al. 2008)。また、機能未知の小胞体局在型タンパク質をコードする *STICKY GENERATIVE CELL (SGC)* 遺伝子を欠失した花粉は、*bnb1 bnb2* 二重変異と同様に、PM1 は正常だが、雄原細胞の取り込みがみられない。しかしながら、その雄原細胞では精細胞特異的ヒストンバリエント MGH3/HTR10/H3.10 が発現することから、分化運命決定は正常であると考えられる。また、変異型の雄原細胞の周囲には、カロースの異所的な蓄積が見られた。*SGC* タンパク質は、カロース分解酵素スーパーファミリーに属する *thaumatin* 様タンパク質の 1 種と結合することが示唆された。これらのことから、*SGC* はカロース分解を介して雄原細胞取り込みに関わる可能性がある (Oh et al. 2021)。これらのことから、雄原細胞の取り込みには、カロースをはじめとする細胞壁成分の動態が重要な役割を果たすことが分かってきた。BNB-LRL ヘテロ二量体は、こうした細胞壁成分の動態を制御することで、雄原細胞の取り込みを促進しているのかもしれない。

### 4. コケ植物における配偶子前駆細胞の分化

コケ植物では、配偶体である茎葉体・葉状体の表層から始原細胞が分化し、それらが配偶子を内包する配偶子器へと発達する。蘚類ヒメツリガネゴケ (*Physcomitrium patens*)

は、低温・短日条件の下で茎葉体の頂端部に配偶子器をつくる。茎葉体の頂端幹細胞はまず造精器の元となる始原幹細胞へと変化する。次に、それが分裂して造精器頂端幹細胞をつくり、そこから造精器が発生する。その発生初期には、原基の中で精子の前駆細胞である精原細胞が分化する (Kofuji et al. 2018; 長谷部, 2020)。造精器の周囲には造卵器が発生する。造卵器の頸部構造の発生や卵の形成にはオーキシンが寄与することが示唆されている (Landberg et al. 2013)。

苔類ゼニゴケは雌雄異株であり、造卵器・造精器のどちらを形成するかは、配偶体 (葉状体) の性、ひいてはその性染色体により決まる。最近、雌の性染色体には、性決定因子として転写因子 BASIC PENTACYSTEINE ON THE U CHROMOSOME (BPCU) がコードされていることが分かった。BPCU は常染色体にコードされる転写因子 FEMALE GAMETOPHYTE MYB (FGMYB) の発現制御を介してゼニゴケの性分化を制御していた。FGMYB はシロイヌナズナの雌性配偶体の形成に不可欠な MYB64 と MYB119 のオルソログであった。雄はゼニゴケの性のデフォルトであり、雄個体の FGMYB は、逆鎖にコードされた非コード RNA である SUPPRESSOR OF FEMINIZATION (SUF) の転写により発現抑制されている。雌では、BPCU が SUF の転写を抑制するために、FGMYB の発現抑制が解除されて葉状体が「雌化」する。雄の性染色体には BPCU のホモログ BASIC PENTACYSTEINE ON THE V CHROMOSOME (BPCV) がコードされていた。性決定の活性は BPCU に特異的であったが、BPCU と BPCV はいずれも生殖成長に必要な不可欠であった (Iwasaki et al. 2021; Hisanaga et al. 2019a)。ゼニゴケの生殖成長は、配偶子器の始原細胞の分化と密接な関わりがあることから (後述)、BPC-FGMYB 経路はその制御にも関わる可能性が考えられる。

ゼニゴケの生殖成長は、主に遠赤色光により促進され (Inoue et al. 2019)、その制御には被子植物の日長判別機構と相同な分子機構も関わる (Kubota et al. 2014)。生殖成長は、葉状体の頂端ノッチの表層から配偶子器の始原細胞が分化することで始まる。同時に、ゼニゴケ亜綱 (Marchantiidae) に特有の組織である生殖器托 (雌器托・雄器托) の原基がノッチに生じ、それがやがて傘状の組織へと成長する。この間、生殖器托の表層からは配偶子器始原細胞が分化し続けるため、成熟した生殖器托は多数の配偶子器を内包する (Durand 1908; Shimamura 2016; Yamaoka et al. 2018)。筆者らは以前、遠赤色光を含まない光の下でも恒常的に生殖成長を行うゼニゴケ変異株を単離した (Yamaoka et al. 2004)。この変異株のゲノムには 400 kb 以上にわたる逆位と欠失が生じており、MpBNB はそのゲノム領域内にあつて過剰発現していた。MpBNB をノックアウトすると生殖成長が失われ、人為的に活性化させると変異株と同様に恒常的に生殖成長がみられたことから、MpBNB はゼニゴケの生殖成長のマスター制御因子であると考えられた。相同組み換えにより蛍光タンパク質 Citrine の配列を MpBNB 遺伝子座へ挿入した株 (ノックイン株) を作出し、MpBNB-Citrine 融合タンパク質の発現を調べたところ、配偶子器始原細胞で著しく発現したのち、発生初期の配偶子器ではほぼ消失した。これらのことから、

MpBNB は主に配偶子器始原細胞の分化を制御するとともに、生殖器托を発生させる機能をもつと考えられた (Yamaoka et al. 2018)。

ゼニゴケの唯一の LRL/DROP オルソログである MpLRL は、仮根形成を制御している (Breuninger et al. 2016)。蛍光タンパク質を用いた観察によると、MpLRL は、葉状体と生殖器托の表層で広く発現し、配偶子器始原細胞において MpBNB と共局在していた。ゲノム編集による MpLRL のノックアウトでは、仮根形成と生殖成長が失われた。また、そのノッチでは MpBNB の蓄積と配偶子器始原細胞の分化が見られなかった。したがって、シロイヌナズナの場合と同様に、MpLRL は MpBNB とヘテロ二量体形成するだけでなく、MpBNB タンパク質の安定な蓄積に必要であると考えられる。BNB-LRL ヘテロ二量体形成の制御機構は、陸上植物全体で保存されている可能性がある (山岡ら, 論文未発表)。

ヒメツリガネゴケにおいても、BNB オルソログである PpBNB1 と PpBNB2 が冗長的に配偶子形成に関わっている。レポーター解析によると、これらはいずれも、造卵器では卵と造卵器頸部の内部の細胞 (腹溝細胞・頸溝細胞) で、また造精器では精原細胞で発現していた。ゲノム編集による PpBNB1 と PpBNB2 の二重変異株は、造卵器・造精器ともに発生を開始することができたが、いずれも発生の途中で配偶子の前駆細胞の分化がみられず、最終的に異常な形態を示した。こうしたことから、PpBNB1 と PpBNB2 は配偶子器発生の開始にはほとんど影響しないが、配偶子前駆細胞の分化に関わると考えられる (Sanchez-Vera et al. 2022)。

## 5. おわりに

花粉の雄原細胞の分化と、コケ植物の配偶子器発生の知見から、BNB-LRL ヘテロ二量体は、配偶体から配偶子の前駆細胞を分化させるための制御因子であると考えられる。BNB の属する bHLH サブファミリーは陸上植物特異的である一方、LRL/DROP のサブファミリーは緑藻類にもみられることから (Bowman et al. 2017; Catarino et al. 2016; Nishiyama et al. 2018), 陸上植物の共通祖先は BNB を獲得することにより、陸上環境での配偶子形成を可能にしたのかもしれない。

LRL/DROP は配偶体で広く発現し、様々な細胞分化・器官形成のための「場」をつくりだしている、と考えられる。そして BNB は、発生制御因子による内生の刺激、あるいは光などの環境刺激を受けて発現し、LRL/DROP とヘテロ二量体化することで、配偶体の体細胞を配偶子前駆細胞へと分化させ、配偶子を形成させる。配偶子は、遺伝情報を次世代に伝えるための特殊な細胞であり、ゲノムの大部分が不活化され、エピゲノムの大部分もリセットされるため、植物個体の発生と維持とは相容れない。したがって、陸上植物は BNB を少数細胞でのみ発現させるメカニズムをもつはずであり、それは花粉における PM1 の非対称性や、コケ植物配偶体における配偶子前駆細胞の分化パターンと表裏の関係にあると思われる。今後、BNB の発現制御と標的・下流の分子機構が

明らかになることにより、陸上植物の「世代交代」を駆動する基本メカニズムが解明されると期待できる。

## 謝辞

本稿で紹介した研究について、河内孝之（京大）、荒木崇（京大）、中島敬二（奈良先端大）、西浜竜一（東京理科大）、上田貴志（基生研）、光田展隆（産総研）、Frédéric Berger（GMI）、久永哲也（GMI）、丸山大輔（横浜市立大）、水多陽子（名古屋大）、海老根一生（基生研）の各氏と、ご協力いただいた皆様に感謝申し上げます。これらの研究は、科研費・学術変革領域研究(B)「植物生殖改変」（丸山大輔代表）計画研究 20H05780、科研費・新学術領域研究「植物新種誕生原理」（東山哲也代表）公募研究 19H04860、武田科学振興財団研究助成、旭硝子財団研究助成のサポートを受けて行われました。

## 引用文献

- Angold RE (1968) The formation of the generative cell in the pollen grain of *Endymion Non-scriptus* (L). *J Cell Sci* 3(4): 573-578. doi:10.1242/jcs.3.4.573
- Borg M, Jacob Y, Susaki D, LeBlanc C, Buendia D, Axelsson E, Kawashima T, Voigt P, Boavida L, Becker J, et al. (2020) Targeted reprogramming of H3K27me3 resets epigenetic memory in plant paternal chromatin. *Nat Cell Biol* 22(6): 621-629. doi: 10.1038/s41556-020-0515-y
- Bowman JL, Kohchi T, Yamato KT, Jenkins J, Shu S, Ishizaki K, Yamaoka S, Nishihama R, Nakamura Y, Berger F, et al. (2017) Insights into land plant evolution garnered from the *Marchantia polymorpha* genome. *Cell* 171(2): 287-304.e15. doi: 10.1016/j.cell.2017.09.030
- Breuninger H, Thamm A, Streubel S, Sakayama H, Nishiyama T, Dolan L. (2016) Diversification of a transcription factor family led to the evolution of antagonistically acting genetic regulators of root hair growth. *Curr Biol* 26: 1622-1628. doi: 10.1016/j.cub.2016.04.060
- Buttress T, He S, Wang L, Zhou S, Saalbach G, Vickers M, Li G, Li P, Feng X. (2022) Histone H2B.8 compacts flowering plant sperm through chromatin phase separation. *Nature* 611(7936): 614-622. doi: 10.1038/s41586-022-05386-6
- Catarino B, Hetherington AJ, Emms DM, Kelly S, Dolan L. (2016) The stepwise increase in the number of transcription factor families in the Precambrian predated the diversification of plants on land. *Mol Biol Evol* 33(11), 2815-2819. doi: 10.1093/molbev/msw155
- Durand EJ. (1908) The development of the sexual organs and sporogonium of *Marchantia polymorpha*. *Bull Torr Bot Club* 35(7): 321-335. doi: 10.2307/2485335
- Eady C, Lindsey K, Twell D. (1995) The significance of microspore division and division symmetry for vegetative cell-specific transcription and generative cell differentiation. *Plant Cell* 7(1): 65-74. doi: 10.1105/tpc.7.1.65
- Glöckle B, Urban WJ, Nagahara S, Andersen ED, Higashiyama T, Grini PE, Schnittger A. (2018)

- Pollen differentiation as well as pollen tube guidance and discharge are independent of the presence of gametes. *Development* 145(1): dev152645. doi: 10.1242/dev.152645
- Hackenberg D, Twell D. (2019) The evolution and patterning of male gametophyte development. *Curr Top Dev Biol* 131 257-298. doi: 10.1016/bs.ctdb.2018.10.008
- Hafidh S, Honys D. (2021) Reproduction multitasking: the male gametophyte. (2021) *Annu Rev Plant Biol* 72:581-614. doi: 10.1146/annurev-arplant-080620-021907
- 長谷部光泰 (2020) 陸上植物の形態と進化. 裳華房 pp.38-43.
- Hater F, Nakel T, Gross-Hardt R. (2020) Reproductive multitasking: the female gametophyte. *Annu Rev Plant Biol* 71:517-546. doi: 10.1146/annurev-arplant-081519-035943
- Hiratsuka R, Terasaka O. (2021) Dynamics of cell membrane and cell wall development during generative cell engulfment by the pollen tube cell in *Liriope muscari*. *Cytologia* 86(3), 225-233. doi: 10.1508/cytologia.86.225
- Hisanaga T, Okahashi K, Yamaoka S, Kajiwara T, Nishihama R, Shimamura M, Yamato KT, Bowman JL, Kohchi T, Nakajima K. (2019a) A *cis*-acting bidirectional transcription switch controls sexual dimorphism in the liverwort. *EMBO J* 38(6):e100240. doi: 10.15252/embj.2018100240
- Hisanaga T, Yamaoka S, Kawashima T, Higo A, Nakajima K, Araki T, Kohchi T, Berger F. (2019b) Building new insights in plant gametogenesis from an evolutionary perspective. *Nat Plants* 5(7): 663-669. doi: 10.1038/s41477-019-0466-0
- Huang X, Sun MX. (2022) H3K27 methylation regulates the fate of two cell lineages in male gametophytes. *Plant Cell* 34(8):2989-3005. doi: 10.1093/plcell/koac136
- Inoue K, Nishihama R, Araki T, Kohchi T. (2019) Reproductive induction is a far-red high irradiance response that is mediated by phytochrome and PHYTOCHROME INTERACTING FACTOR in *Marchantia polymorpha*. *Plant Cell Physiol* 60(5): 1136-1145. doi: 10.1093/pcp/pcz029
- Iwasaki M, Kajiwara T, Yasui Y, Yoshitake Y, Miyazaki M, Kawamura S, Suetsugu N, Nishihama R, Yamaoka S, Wanke D, et al. (2021) Identification of the sex-determining factor in the liverwort *Marchantia polymorpha* reveals unique evolution of sex chromosomes in a haploid system. *Curr Biol* 31(24): 5522-5532.e7. doi: 10.1016/j.cub.2021.10.023
- Karas B, Amyot L, Johansen C, Sato S, Tabata S, Kawaguchi M, Szczygłowski K. (2009) Conservation of lotus and Arabidopsis basic helix-loop-helix proteins reveals new players in root hair development. *Plant Physiol* 151(3): 1175-1185. doi: 10.1104/pp.109.143867
- Kofuji R, Yagita Y, Murata T, Hasebe M. (2018) Antheridial development in the moss *Physcomitrella patens*: implications for understanding stem cells in mosses. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 373(1739): 20160494. doi: 10.1098/rstb.2016.0494
- Kubota A, Kita S, Ishizaki K, Nishihama R, Yamato KT, Kohchi T. (2014) Co-option of a

- photoperiodic growth-phase transition system during land plant evolution. *Nat Commun* 5: 3668. doi: 10.1038/ncomms4668
- Landberg K, Pederson ER, Viaene T, Bozorg B, Friml J, Jonsson H, Thelander M, Sundberg E. (2013) The moss *Physcomitrella patens* reproductive organ development is highly organized, affected by the two SHI/STY genes and by the level of active auxin in the SHI/STY expression domain. *Plant Physiol* 162(3):1406-1419. doi: 10.1104/pp.113.214023
- Lin Q, Ohashi Y, Kato M, Tsuge T, Gu H, Qu LJ, Aoyama T. (2015) GLABRA2 directly suppresses basic helix-loop-helix transcription factor genes with diverse functions in root hair development. *Plant Cell* 27(10): 2894-2906. doi: 10.1105/tpc.15.00607
- Mirdita M, Schütze K, Moriwaki Y, Heo L, Ovchinnikov S, Steinegger M. (2022) ColabFold: making protein folding accessible to all. *Nat Methods* 19(6):679-682. doi: 10.1038/s41592-022-01488-1
- Nishiyama T, Sakayama H, de Vries J, Buschmann H, Saint-Marcoux D, Ullrich KK, Haas FB, Vanderstraeten L, Becker D, Lang D, et al. (2018) The *Chara* genome: secondary complexity and implications for plant terrestrialization. *Cell* 174(2): 448-464.e.24. doi: 10.1016/j.cell.2018.06.033
- Oh SA, Hoai TNT, Park HJ, Zhao M, Twell D, Honys D, Park SK. (2020) MYB81, a microspore-specific GAMYB transcription factor, promotes pollen mitosis I and cell lineage formation in *Arabidopsis*. *Plant J* 101(3):590-603. doi: 10.1111/tpj.14564
- Oh SA, Park HJ, Kim MH, Park SK. (2021) Analysis of *sticky generative cell* mutants reveals that suppression of callose deposition in the generative cell is necessary for generative cell internalization and differentiation in *Arabidopsis*. *Plant J* 106(1):228-244. doi: 10.1111/tpj.15162
- Park SK, Howden R, Twell D. (1998) The *Arabidopsis thaliana* gametophytic mutation *geminipollen1* disrupts microspore polarity, division asymmetry and pollen cell fate. *Development* 125(19): 3789-3799. doi: 10.1242/dev.125.19.3789
- Rensing SA, Weijers D. (2021) Flowering plant embryos: How did we end up here? *Plant Reprod* 34(4): 365-371. doi: 10.1007/s00497-021-00427-y
- Sanchez-Vera V, Landberg K, Lopez-Obando M, Thelander M, Lagercrantz U, Muñoz-Viana R, Schmidt A, Grossniklaus U, Sundberg E. (2022) The *Physcomitrium patens* egg cell expresses several distinct epigenetic components and utilizes homologues of *BONOB* genes for cell specification. *New Phytol* 233(6): 2614-2628. doi: 10.1111/nph.17938
- Shimamura M. (2016) *Marchantia polymorpha*: taxonomy, phylogeny and morphology of a model system. *Plant Cell Physiol* 57(2): 230-256. doi: 10.1093/pcp/pcv192
- Tam TH, Catarino B, Dolan L. (2015) Conserved regulatory mechanism controls the development of cells with rooting functions in land plants. *Proc Natl Acad Sci U S A* 112(29): E3959-3968.

doi: 10.1073/pnas.1416324112

田中一朗 (2017) 花粉の科学. 横浜市立大学論叢自然科学系列 65(1): 11-23. doi: 10.15015/00001192

Töller A, Brownfield L, Neu C, Twell D, Schulze-Lefert P. (2008) Dual function of Arabidopsis glucan synthase-like genes GSL8 and GSL10 in male gametophyte development and plant growth. *Plant J* 54(5): 911-923. doi: 10.1111/j.1365-313X.2008.03462.x

Yamaoka S, Nishihama R, Yoshitake Y, Ishida S, Inoue K, Saito M, Okahashi K, Bao H, Nishida H, Yamaguchi K, et al. (2018). Generative cell specification requires transcription factors evolutionarily conserved in land plants. *Curr Biol* 28(3): 479-486.e5. doi: 10.1016/j.cub.2017.12.053

Yamaoka S, Takenaka M, Hanajiri T, Shimizu-Ueda Y, Nishida H, Yamato KT, Fukuzawa H, Ohyama K. (2004) A mutant with constitutive sexual organ development in *Marchantia polymorpha* L. *Sex Plant Reprod* 16(5): 253-257. doi: 10.1007/s00497-003-0195-3

Zhang J, Huang Q, Zhong S, Bleckmann A, Huang J, Guo X, Lin Q, Gu H, Dong J, Dresselhaus T, et al. (2017) Sperm cells are passive cargo of the pollen tube in plant fertilization. *Nat Plants* 3: 17079. doi: 10.1038/nplants.2017.79

Zhang Y, Mitsuda N, Yoshizumi T, Horii Y, Oshima Y, Ohme-Takagi M, Matsui M, Kakimoto T. (2021) Two types of bHLH transcription factor determine the competence of the pericycle for lateral root initiation. *Nat Plants* 7(5): 633-643. doi: 10.1038/s41477-021-00919-9