論文内容の要旨

申請者氏名 Yihui Cui

In land plants, sexual dimorphism can develop in both diploid sporophytes and haploid gametophytes. While developmental processes of sexual dimorphism have been extensively studied in the sporophytic reproductive organs of model flowering plants such as stamens and carpels of *Arabidopsis thaliana*, those occurring in gametophyte generation are less well characterized due to the lack of amenable model systems. To investigate this unexplored developmental process, the applicant performed a three-dimensional (3D) morphological analysis of sexual dimorphism development using the gametophyte-dominant bryophyte species *M. polymorpha*. Using a reliable marker gene for germline precursors, the applicant visualized the spatial arrangement of germline segregation and their contribution to the sex-specific organ morphologies. The obtained data indicated that the specification of germline precursors initiates very early stage of sexual branch formation, and that spatiotemporal distribution patterns of germline precursors differ between males and females before the sex-specific organ morphologies become evident. These results suggested a link between germline positioning and sexual organ morphogenesis in *M. polymorpha*.

The applicant also explored the role of FEMALE GAMETOPHYTE MYB gene encoding an R2R3 Myb-type transcription factor (MpFGMYB) in the female sexual differentiation in M. polymorpha. The applicant first investigated the 3D expression patterns of MpFGMYB during the gametangiophore morphogenesis and found that the MpFGMYB expression initiates in the early stages where germline positioning is established. To understand what genes act downstream of MpFGMYB to achieve female sexual differentiation, the applicant further performed a comparative transcriptome analysis and obtained a list of genes up-regulated by MpFGMYB during female sexual development. Expression analyses of selected genes revealed specific and distinct expression patterns in female gametangia and gametes, demonstrating that the study provided a valuable list of genes for future functional analyses.

Together, this study revealed the cellular bases for the distinct gametophytic sexual morphogenesis in *M. polymorpha* and additionally provided a list of genes potentially acting in the female sexual differentiation in *M. polymorpha*.

[□] やむを得ない事由[図書出版,学術雑誌等への掲載,特許・実用新案出願,個人情報等の保護, その他()]により本要旨を非公表とする。【※該当する事由に○印をすること】

論文審査結果の要旨

申請者氏名 Yihui Cui

植物の形態に性的二型性が発現する機構については、被子植物の胞子体花器官を対象とした研究が精力的に行われ、多くの制御因子が明らかにされて来た。一方で、植物においては胞子体のみならず、半数体世代の配偶体も多細胞化し性的二型性を示す。配偶子形成の場である配偶体における性分化の過程と制御を理解することは、有性生殖の機能や進化を解明するための重要な課題であるが、これを配偶体世代が極度に退化している種子植物で研究することは困難であった。この障壁を突破するため、申請者は半数体世代が優勢な生活環を持つモデル苔類のゼニゴケ(Marchantia polymorpha)を用いた研究を展開した。

申請者は、まず発生過程のゼニゴケ生殖枝原基について、高深度かつ高精細な3次元共焦点 レーザー顕微鏡イメージを取得する技術と、画像解析プログラム MorphoGraphX を用いてそ れらを細胞単位にセグメンテーションする技術を樹立した。これを用いた観察により、ゼニゴ ケにおいては生殖枝原基の形成と、その内部での生殖細胞系列の分化が同調的に開始されるこ と、また生殖枝原基の形態に雌雄差が生じる以前に、生殖細胞系列の空間分布に雌雄差が生じ ることを明らかにした。また雌雄に特異的な生殖細胞系列の空間配置が生殖枝の形態に強く相 関することを見出した。この発見は、ゼニゴケ配偶体の性分化における生殖器官の形態形成と 生殖細胞分化の空間的なカップリングを示したもので、これらが独立に進行する種子植物の性 分化と対照をなすものであることから、陸上植物の有性生殖機構の理解に新たな視点を提供し た成果と言える。さらに申請者は、ゼニゴケにおいて雌性分化を促進する遺伝的機構の解明に 取り組み、R2R3 Myb 型転写因子をコードする MpFGMYBが、生殖枝形成の最初期から雌の 生殖枝原器で発現していること、また Mpfgmyb機能欠損変異体の雌個体においては、生殖枝 原基の形態や生殖細胞系列の配置が野生型の雄植物と同一であることを見出した。これにより MpFGMYB が雌性形態分化を最初期から制御するマスター転写因子であることを明らかにし た。さらに $\mathrm{Mp}\mathit{fgmby}$ 変異体背景で $\mathrm{Mp}\mathit{FGMYB}$ を誘導的に過剰発現する植物系統を樹立し、 これを用いた比較トランスクリプトーム解析などから、Mp*FGMYB* の下流で雌性分化に機能 する 12 個の候補遺伝子を得た。蛍光レポーターラインを作成して観察した結果から、これら の遺伝子が、生殖枝原器や、生殖器官原基、卵の前駆細胞などで強く発現していることを明ら かにし、雌性分化に機能する新規かつ有力な候補遺伝子であることを示した。

以上のように、本学位論文研究は植物の配偶体世代において性的二型性が発現する機構や、雌性分化に機能し得る遺伝子群に関する知見を得たもので、学術上、貢献するところが大きい。よって審査委員一同は、本論文が博士(バイオサイエンス)の学位論文として価値あるものと認めた。

[□] やむを得ない事由[図書出版,学術雑誌等への掲載,特許・実用新案出願,個人情報等の保護, その他()]により本要旨を非公表とする。 【※該当する事由に○印をすること】