

令和元年6月10日現在

機関番号：82401

研究種目：若手研究(A)

研究期間：2016～2018

課題番号：16H06161

研究課題名(和文) 卵母細胞に特有な動原体の役割

研究課題名(英文) Unique roles of kinetochores in oocytes

研究代表者

北島 智也 (Kitajima, Tomoya)

国立研究開発法人理化学研究所・生命機能科学研究センター・チームリーダー

研究者番号：00376641

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 18,500,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、卵母細胞の減数第一分裂において動原体が果たす特有な役割について研究した。動物の卵母細胞においては、体細胞や精母細胞と異なり、中心体が存在しない。本研究ではまず、減数第一分裂では紡錘体両極化が比較的長いのに対し、減数第二分裂では迅速であることを示した。次に、減数第一分裂では紡錘体両極化に機能的な動原体を必要とするのに対し、減数第二分裂では必要ないことを示した。また、動原体に集積した微小管制御因子の活性をもとにシミュレーションを行い、減数第一分裂と第二分裂の違いを再現した。これらの結果は、卵母細胞特異的な動原体の機能が、減数第一分裂における紡錘体両極化を可能にしていることを示している。

研究成果の学術的意義や社会的意義

マウス卵母細胞において動原体が果たす役割の一つは、非中心体性の紡錘体を両極化させることであることが分かった。ヒト卵母細胞では紡錘体の両極化の失敗が卵子の染色体数異常の原因となることが知られている。今後さらに動原体が紡錘体を両極化させる分子機構を明らかにすることで、流産などの主要な原因の一つである卵子の染色体数異常の理解につながる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：This study investigated oocyte-specific roles for kinetochores in meiosis I of oocytes. In animals, unlike somatic cells and spermatocytes, oocytes lack centrosomes. To reveal how the acentrosomal spindle forms during meiosis in oocytes, we investigated the process using mouse oocytes as a model. First, we showed that meiosis I underwent a relatively long process of spindle bipolarization, whereas meiosis II rapidly formed a bipolar spindle. Second, we showed that meiosis I required functional kinetochores for spindle bipolarization, whereas meiosis II did not. Third, we showed that meiosis II cytoplasm enabled meiosis I chromosomes to form a bipolar spindle independently of functional kinetochores. Forth, we identified kinetochore-enriched microtubule regulators, which were exploited to simulation approaches. These results indicate that an oocyte-specific function of kinetochores enables meiosis I-specific mode of acentrosomal spindle bipolarization.

研究分野：細胞生物学

キーワード：卵母細胞 動原体 染色体分配

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

動物の卵母細胞では、体細胞や精母細胞と異なり、中心体が存在しない。卵母細胞は減数分裂を行うことにより配偶子である卵子を産生する細胞であるが、染色体分配に必要なとされる両極性紡錘体が中心体なしにどのように形成されるのかは、はっきりと分かっていない。様々な動物モデルにおいて非中心体の紡錘体形成が研究されてきたものの、それらの多くは減数第二分裂を材料としたものであり、特に哺乳類の減数第一分裂における紡錘体形成の機構は明らかになっていなかった。

2. 研究の目的

本研究では、卵母細胞に特有な動原体の役割を明らかにすることを目的とした。特に、動原体が減数第一分裂において非中心体性の紡錘体両極化に果たす役割に着目し、減数第二分裂における過程との比較を行った。

3. 研究の方法

研究のモデルとして、マウス卵母細胞を用いた。まず、ライブイメージングと3D動態解析を行うことにより、減数第一分裂における紡錘体両極化の過程を定量的に記述するとともに、減数第二分裂における過程との比較を行った。次に、動原体機能を破壊したマウス卵母細胞を遺伝学的に作製し、紡錘体両極化に動原体機能が果たす役割を明らかにするとともに、減数第一分裂と第二分裂の間で動原体依存性に差異がないかを検討した。さらに、細胞融合実験を手掛かりに、動原体に集積する微小管制御因子を同定した。最後に、同定した因子の活性をもとにシミュレーションを行うことで、非中心体性の紡錘体両極化の過程の一端を再現することを試みた。

4. 研究成果

まず、ライブイメージングと3D動態解析により、減数第一分裂では紡錘体両極化が比較的長いプロセス(3-4時間)を経て行われるのに対し、減数第二分裂では迅速(20-30分間)であることを示した。次に、減数第一分裂では紡錘体両極化に機能的な動原体を必要とするのに対し、減数第二分裂では必要ないことを示した。続いて、細胞融合実験から、減数第二分裂では細胞質から供給される因子が動原体非依存的な紡錘体両極化を支持していることを明らかにした。さらに、減数第一分裂において動原体に集積する微小管制御因子を複数個同定することに成功した。これらの因子の活性をもとにシミュレーションを行うことで、減数第一分裂と第二分裂の違いを一部再現することができた。これらの結果から、卵母細胞に特有な動原体の機能の一つは、減数第一分裂における非中心体性の紡錘体両極化を可能にすることであると結論した。ヒト卵母細胞では紡錘体の両極化の失敗が卵子の染色体数異常の原因となることが知られており、今後さらに動原体が紡錘体を両極化させる分子機構を明らかにすることで、流産などの主要な原因の一つである卵子の染色体数異常の理解につながる可能性がある。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 7 件)

1. Nakamura S., Oba M., Suzuki M., Takahashi A., Yamamuro T., Fujiwara M., Ikenaka K., Minami S., Tabata N., Yamamoto K., Kubo S., Tokumura A., Akamatsu K., Miyazaki Y., Kawabata T., Hamasaki M., Fukui K., Sango K., Watanabe Y., Takabatake Y., Kitajima T.S., Okada Y., Mochizuki H., Isaka Y., Antebi A. and Yoshimori T. Suppression of autophagic activity by Rubicon is a signature of aging. *Nature Communications*, 査読有, Feb 19;10(1):847 (2019). DOI: 10.1038/s41467-019-08729-6.
2. Kyogoku H., Wakayama T., Kitajima, T.S., and Miyano T. Single nucleolus precursor body formation in the pronucleus of mouse zygotes and SCNT embryos. *PLoS ONE*. 査読有, 13(8): e0202663 (2018). DOI: 10.1371/journal.pone.0202663.
3. Ding, Y., Kaido, M., Llano, E., Pendas, A.M., and Kitajima, T.S. The Post-anaphase SUMO Pathway Ensures the Maintenance of Centromeric Cohesion through Meiosis I-II Transition in Mammalian Oocytes. *Current Biology*, 査読有, 28(10), 1661-1669 (2018). DOI: 10.1016/j.cub.2018.04.019.
4. 北島智也、哺乳類卵母細胞における染色体分配 細胞の特異性に対する染色体分配の恒常性と破綻を理解する、*実験医学*、査読無、36(17), 157-162 (2018).
5. Kitajima, T.S. Mechanisms of kinetochore-microtubule attachment errors in mammalian oocytes. *Development, Growth & Differentiation*, 査読有, 60(1), 33-43 (2018). DOI: 10.1111/dgd.12410.
6. Kyogoku, H., and Kitajima, T.S. Large cytoplasm is linked to the error-prone nature of oocytes. *Developmental Cell*, 査読有, 41(3), 287-298 (2017). DOI: 10.1016/j.devcel.2017.04.009.
7. Niwayama R., Nagao H., Kitajima, T.S., Hufnagel L., Shinohara K., Higuchi T., Ishikawa

T., and Kimura A. Bayesian inference of forces causing cytoplasmic streaming in *Caenorhabditis elegans* embryos and mouse oocytes. PLOS ONE, 査読有, 11(7), 2016, e0159917 (2016). DOI: 10.1371/journal.pone.0159917.

[学会発表](計 34 件)

1. 北島智也、卵子の染色体数異常の細胞生物学的な原因、第 15 回東海 ART カンファレンス (招待講演) 2019 年 2 月 24 日、名鉄ニューグランドホテル (愛知県)
2. 北島智也、マルチカラー動画解析から迫る卵子の染色体分配のしくみ、第 36 回日本染色体遺伝子検査学会総会・学術集会 (招待講演) 2018 年 12 月 16 日、スクエア荏原 (東京都)
3. 北島智也、卵、胚の細胞サイズと染色体安定性、新学術領域研究成果取りまとめ公開シンポジウム「生殖細胞のエピゲノムダイナミクスとその制御」(招待講演) 2018 年 12 月 5 日、京都教育文化センター (京都府)
4. Tomoya Kitajima and Shuhei Yoshida, A unique role of kinetochores in mammalian oocytes, Meiosis Gordon Research Conference 2018 (招待講演) (国際学会) 2018 年 6 月 12 日、Colby-Sawyer College (米国 New London)
5. Tomoya Kitajima, Causes of aneuploidy in eggs, The School of Life Sciences and Biotechnology (SLSB) Seminar, Shanghai Jiao Tong University (招待講演) 2018 年 5 月 9 日、Shanghai Jiao Tong University (中国 Shanghai)
6. Tomoya Kitajima, Roles of kinetochores in mammalian oocytes, 17th International Titisee Conference From oocyte to embryo -illuminating the origins of life (招待講演) (国際学会) 2018 年 4 月 12 日、Treschers Schwarzwaldhotel (ドイツ Titisee)
7. 北島智也、卵子の巨大な細胞質サイズの役割、Symposium on Epigenome Dynamics and Regulation in Germ Cells (招待講演) 2017 年 11 月 21 日、つくばノバホール (茨城県)
8. 北島智也、卵子の染色体数異常の細胞生物学的な原因、日本人類遺伝学会第 62 回大会 (招待講演) 2017 年 11 月 17 日、神戸国際会議場 (兵庫県)
9. 北島智也、卵母細胞における染色体分配エラーの原因、第 2 回 eurofin 学術セミナー (招待講演) 2017 年 11 月 11 日、グランフロント大阪 (大阪府)
10. 北島智也、卵子の染色体数異常の原因、京都大学生物物理学セミナー (招待講演) 2017 年 11 月 6 日、京都大学大学院理学研究科 (京都府)
11. Tomoya Kitajima, Roles of large cytoplasmic size of eggs, The 27th Hot Spring Harbor International Symposium (招待講演) (国際学会) 2017 年 10 月 31 日、Hospital Campus, Kyushu University (福岡県)
12. Tomoya Kitajima, Cell biological causes of aneuploidy in eggs, The 11th Congress of the Pacific Society for Reproductive Medicine (PSRM2017) (招待講演) (国際学会) 2017 年 10 月 15 日、Osaka International Convention Center (大阪府)
13. Tomoya Kitajima and Shuhei Yoshida, A unique role of kinetochores in mammalian oocytes, EMBO Conference on Meiosis 2017 (招待講演) (国際学会) 2017 年 8 月 29 日、Amfora Beach Resort (クロアチア Hvar)
14. Tomoya Kitajima, Cell Biological causes of aneuploidy in eggs, The international Research Symposium on Regulation of Germ Cell Development in vivo and in vitro (招待講演) (国際学会) 2017 年 7 月 28 日、九州大学大学院医学研究科 (福岡県)
15. 北島智也、ライブイメージングで探る卵子の染色体数異常の原因、第 35 回日本受精着床学会総会・学術講演会 (招待講演) 2017 年 7 月 20 日、米子コンベンションセンター (島根県)
16. Tomoya Kitajima, The causes of chromosome segregation errors in oocytes, The 2nd Meeting on SMC proteins (招待講演) (国際学会) 2017 年 6 月 15 日、Nanyo City Cultural Hall (山形県)
17. Tomoya Kitajima, The origins of meiotic chromosome segregation errors in mammalian oocytes, EMBO Workshop: Dynamic Kinetochores (招待講演) (国際学会) 2017 年 6 月 7 日、University of Edinburgh (英国エジンバラ)
18. Tomoya Kitajima, The causes of chromosome segregation errors in mammalian oocytes, Gordon Research Conference, Chromosome Dynamics (招待講演) (国際学会) 2017 年 5 月 24 日、Renaissance Tuscany Il Ciocco (イタリア Lucca)
19. 北島智也、卵子の染色体異常の原因、東京大学大学院薬学系研究科主催講演会 (招待講演) 2017 年 5 月 8 日、東京大学大学院薬学系研究科 (東京都)
20. 北島智也、卵子における染色体数異常の細胞生物学的な要因、第 23 回ホルモン療法を考える神奈川県医師の会 (招待講演) 2017 年 3 月 1 日、ホテルキャメロットジャパン (神奈川県)
21. Tomoya Kitajima, The causes of aneuploidy in eggs, RIKEN Epigenetics 2017 (招待講演) 2017 年 2 月 17 日、理研つくば研究所 (茨城県)
22. 吉田周平・北島智也、卵母細胞では動原体が紡錘体の二極化に必要である、第 34 回染色体ワークショップ・第 15 回核ダイナミクス研究会 (招待講演) 2017 年 1 月 12 日、かずさアカデミアホール (千葉県)
23. 北島智也、細胞動態のイメージングと定量、第 39 回日本分子生物学会年会 (招待講演)

- 2016年12月1日、パシフィコ横浜(神奈川県)
24. 北島智也、卵子の染色体数異常の原因、第39回日本分子生物学会年会(招待講演) 2016年11月30日、パシフィコ横浜(神奈川県)
 25. 北島智也、卵母細胞がエラーを起こしやすい原因、第4回公開シンポジウム 新学術領域会議「生殖細胞のエピゲノムダイナミクスとその制御」「ステムセルエイジングから解明する疾患原理」(招待講演) 2016年11月16日、三島市民文化会館(静岡県)
 26. 北島智也、卵母細胞がエラーを起こしやすい原因、第37回インターゲノミクスセミナー「染色体分配システム研究の最前線」(招待講演) 2016年11月11日、神戸大学(兵庫県)
 27. 北島智也、卵子の染色体数異常の原因、第61回日本生殖医学会学術講演会(招待講演) 2016年11月3日、パシフィコ横浜(神奈川県)
 28. Tomoya Kitajima, Large cytoplasm predisposes oocytes to chromosome segregation errors, Conference Pigmod and Czechoslovak Biological Society: From reproductive biology to large animal models of human diseases(招待講演)(国際学会) 2016年9月23日、Institute of Animal Physiology and Genetics(チェコ Libechov)
 29. 北島智也、Oocytes - why so error-prone?, 国立遺伝学研究所 セミナー(招待講演) 2016年9月12日、国立遺伝学研究所(静岡県)
 30. 北島智也、卵母細胞の巨大な細胞サイズの意義、第18回京都大学生命科学研究科シンポジウム(招待講演)(国際学会) 2016年7月7日、京都大学(京都府)
 31. Hirohisa Kyogoku and Tomoya Kitajima, Effects of oocyte size on chromosome segregation during meiosis, Meiosis: Gordon Research Conference(招待講演)(国際学会) 2016年6月28日、Colby-Sawyer College(米国 New London)
 32. 北島智也、卵子の染色体数異常の原因、第38回中部生殖医学会学術集会(招待講演) 2016年6月18日、アスト津(三重県)
 33. 北島智也、老化にともなう卵子の染色体数異常の原因、第68回日本細胞生物学会大会・第11回日本ケミカルバイオロジー学会 合同大会(招待講演) 2016年6月16日、京都テルサ(京都府)
 34. 北島智也、卵子の染色体数異常の原因、ナースのためのART医学セミナー2016年(招待講演) 2016年5月22日、六本木アカデミーヒルズ49(東京都)

[図書](計 3 件)

1. Courtois Aurelien, Solc Petr, and Kitajima Tomoya S., Springer Nature, Mouse Oocyte Development, 2018, 89-97.
2. Kyogoku Hirohisa, Yoshida Shuhei, and Kitajima Tomoya S., Elsevier, 2018, Methods in Cell Biology, 2018, 459-474.
3. Yoshida Shuhei, Sakakibara Yogo, and Kitajima Tomoya S., Springer New York, Oogenesis: Methods and Protocols, 2016, 241-251.

[産業財産権]

出願状況(計 0 件)

名称：
 発明者：
 権利者：
 種類：
 番号：
 出願年：
 国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：
 発明者：
 権利者：
 種類：
 番号：
 取得年：
 国内外の別：

[その他]

ホームページ等

理化学研究所 生命機能科学研究センター 染色体分配研究チーム

<https://www.bdr.riken.jp/jp/research/labs/kitajima-t/index.html>

染色体分配研究チーム

<http://www.cdb.riken.jp/lcs/>

理化学研究所 染色体分配研究チーム 理化学研究所 染色体分配研究チーム

http://www.riken.jp/research/labs/bdr/chromo_segr/

6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号（8桁）：

(2)研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。