

令和 2 年 6 月 12 日現在

機関番号：82401

研究種目：若手研究(A)

研究期間：2017～2019

課題番号：17H05005

研究課題名(和文) 哺乳類の受精における2倍体維持機構

研究課題名(英文) The mechanism to maintain ploidy during mammalian fertilization

研究代表者

森 雅志 (Mori, Masashi)

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・研究員

研究者番号：00747941

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 21,000,000円

研究成果の概要(和文)：受精期における染色体の局在制御機構について解析した。高解像ライブイメージングできる系を構築し、精子が卵子染色体から離れた場所に融合することを明らかにした。その分子機構については卵子染色体が膜たんぱく質の局在を制御することを見出した。精子融合後には卵子染色体と精子染色体はランダムに移動するが、それらが30-40um以上近接しないことを明らかにした。その分子機構にはアクチンが必須であることを見出した。

本研究の成果は顕微授精等の不妊治療を行う上で、その成功率を高めるために有用な知見となる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年不妊治療の技術が発達・普及し、顕微授精で生まれる子供も多くなっている。一方で、不妊治療後も原因不明のまま妊娠できないケースも多い。本研究の成果から精子染色体は卵子染色体の近傍に局在してはならないことが明らかになった。これは顕微授精を行う際に卵子染色体の局在を考慮することで、その成功率が上昇することを意味している。卵子染色体の観察については、すでに偏光顕微鏡等の非侵襲的な技術が確立されている。今後は不妊治療クリニックにおいて、卵子染色体の局在を観察したうえでの顕微授精が望まれる。

研究成果の概要(英文)： This study investigated how chromosomes are localized during fertilization process. First, we established high resolution live imaging set up. These live imaging showed that sperm fuse far from maternal chromosomes. To control where sperm fuse, maternal chromosomes regulate the localization of membrane proteins on egg surface. After egg-sperm fusion, both maternal and paternal chromosomes move randomly, however they are not localized within 30-40 um.

The results of this study is useful to rise the success rate of infertility treatment like intra-cytoplasmic sperm injection.

研究分野： 卵子形成

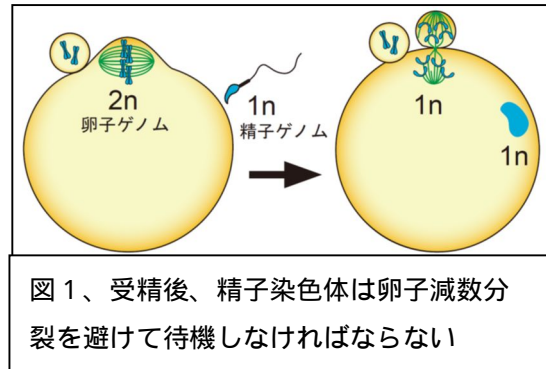
キーワード： 受精 卵子 精子 染色体 アクチン

1. 研究開始当初の背景

臨床研究の統計からヒトの未受精卵および初期胚では染色体数の異なる異数体が高確率で産出されることが分かっており、これは流産や出生異常の大きな原因となっている。しかしながら、なぜこれらの細胞で染色体の恒常性が不安定であるか、その分子的な機構は不明な点が多い。そこで申請者はこの不安定性を理解することを最終目的として、卵母細胞および受精胚における染色体の挙動制御機構について研究を行っている。

2. 研究の目的

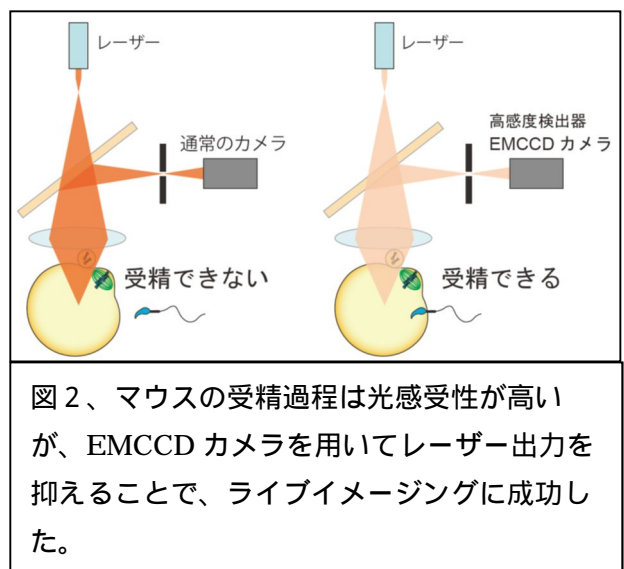
受精は二つの細胞が融合するとユニークな過程である。長年受精研究のモデルシステムとして用いられてきたウニでは卵子・精子ともに減数分裂を完了して1倍体となっており、受精後に雌雄のゲノムは同調して細胞周期を進行させる。一方、多くの動物種では卵子は減数分裂期の途中で細胞周期を停止しており、1セットを超える染色体数を保持することが知られている。線虫・ハエ・ホヤの卵子は4倍体(減数



第一分裂の中期)、カエル・メダカ・マウス・ヒトの卵子は2倍体(減数第二分裂の中期)で停止している(Masui Y. 2001 review)。これらの動物では受精後に卵子が減数分裂を完了して1倍体となるまで、精子染色体は細胞内で待機しなければならない(図1)。この“精子ゲノムが卵子減数分裂を避ける機構”はゲノム恒常性を維持する上で重要であるが、技術的な問題から解析が進んでいなかった。そこで本研究では受精期における染色体の動態を解析し、精子ゲノムが必ず初期胚に分配される機構の解明を目的とする。

3. 研究の方法

哺乳類の卵子は雌の体内から外界へと放出されることはなく、概して光耐性が低い。マウスでは特に受精における精子と卵子の細胞融合は光感受性が高いことが知られており、蛍光を用いたライブイメージングが難しかった(図2)。我々は高感度検出器であるEMCCDカメラやGASP検出器を用いてレーザー出力を抑えることで、マウス受精過程のライブイメージング法を確立した。このライブイメージング法を用いて、受精過程における染色体の挙動を解析した。



4. 研究成果

受精期における染色体の局在制御機構について解析した。高解像ライプイメージングできる系を構築し、精子が卵子染色体から離れた場所に融合することを明らかにした。その分子機構については卵子染色体が膜たんぱく質の局在を制御することを見出した。精子融合後には卵子染色体と精子染色体はランダムに移動するが、それらが30-40 μm 以上近接しないことを明らかにした。その分子機構にはアクチンが必須であることを見出した(図3)。

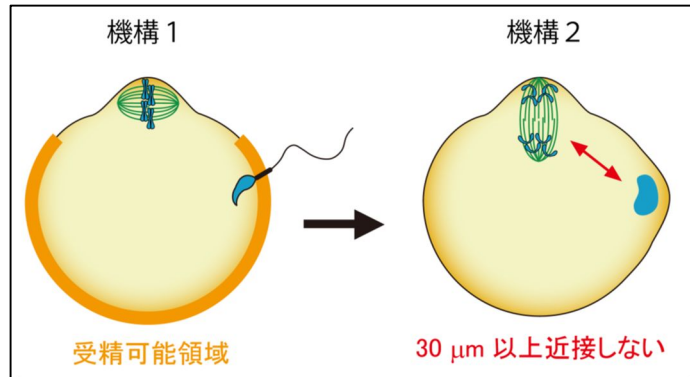


図3、受精期における染色体の局在制御機構

- 1、卵子膜たんぱく質の局在が制御されることにより、精子は卵子染色体から離れた場所に受精する。
- 2、融合後、卵子染色体と精子染色体はアクチン依存的に近接が阻害される。

本研究の成果から精子染色体は卵子染色体の近傍に局在してはならないことが明らかになった。これは不妊治療で顕微授精を行う際に卵子染色体の局在を考慮することで、その成功率が上昇することを意味している。今後はこの知見の普及に取り組みたい。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 1件）

| | |
|--|---------------------------|
| 1. 著者名 Bischof Johanna, Brand Christoph A., Somogyi Kalman, Majer Imre, Thome Sarah, Mori Masashi, Schwarz Ulrich S., Lenert Peter | 4. 巻 8 |
| 2. 論文標題 A cdk1 gradient guides surface contraction waves in oocytes | 5. 発行年 2017年 |
| 3. 雑誌名 Nature Communications | 6. 最初と最後の頁 1-10 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41467-017-00979-6 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である） | 国際共著 該当する |
| 1. 著者名 Burdyniuk Mariia, Callegari Andrea, Mori Masashi, Nedelec Francois, Lenert Peter | 4. 巻 217 |
| 2. 論文標題 F-Actin nucleated on chromosomes coordinates their capture by microtubules in oocyte meiosis | 5. 発行年 2018年 |
| 3. 雑誌名 Journal of Cell Biology | 6. 最初と最後の頁 2661 ~ 2674 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1083/jcb.201802080 | 査読の有無 無 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |
| 1. 著者名 Kiyozumi Daiji, Mori Masashi, Kodani Mayo, Ikawa Masahito | 4. 巻 69 |
| 2. 論文標題 Genetic mutation of <i>Frem3</i> does not cause Fraser syndrome in mice | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 Experimental Animals | 6. 最初と最後の頁 104 ~ 109 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1538/expanim.19-0088 | 査読の有無 無 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |
| 1. 著者名 Wesolowska Natalia, Avilov Ivan, Machado Pedro, Geiss Celina, Kondo Hiroshi, Mori Masashi, Lenart Peter | 4. 巻 9 |
| 2. 論文標題 Actin assembly ruptures the nuclear envelope by prying the lamina away from nuclear pores and nuclear membranes in starfish oocytes | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 eLife | 6. 最初と最後の頁 1-20 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.7554/elife.49774 | 査読の有無 無 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

| |
|---|
| 1. 発表者名 森 雅志 |
| 2. 発表標題 Embryo keeps paternal chromosomes away from maternal spindle not to discard them into polar body |
| 3. 学会等名 The 50th Annual Meeting of Japanese Society of Developmental Biologists |
| 4. 発表年 2017年 |

| |
|--------------------------------------|
| 1. 発表者名 森 雅志 |
| 2. 発表標題 マウス受精過程における精子染色体の極体放出防止機構 |
| 3. 学会等名 2017年度生命科学系学会合同年次大会 |
| 4. 発表年 2017年 |

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

| 6. 研究組織 | 氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号) | 所属研究機関・部局・職 (機関番号) | 備考 |
|---------|---------------------------|-----------------------|----|
|---------|---------------------------|-----------------------|----|