

令和元年6月4日現在

機関番号：82401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K15069

研究課題名(和文) 卵母細胞における新規の紡錘体二極性化機構の解明

研究課題名(英文) Mechanism of spindle bipolarization in oocytes

研究代表者

吉田 周平 (Yoshida, Shuhei)

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：20363997

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：

染色体は主に微小管から構成される紡錘体によって娘細胞へと分配される。そして染色体を正しく分配するには紡錘体が二極性であることが非常に重要であり、多くの体細胞では中心体が紡錘体の極性を決定づけている。しかしながら哺乳動物の卵母細胞は中心体を持たず、紡錘体が二極性化する機構は明らかになっていない。本研究では、マウス卵母細胞の減数第一分裂において動原体が紡錘体の二極性化に重要な機能を担っていることを明らかにした。さらに動原体には微小管束形成を促進するクロスリンカータンパク質が集積しており、このクロスリンカータンパク質の空間的制御が卵母細胞の染色体分配に重要であることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

卵母細胞においては染色体分配異常が高い頻度で起こる。そして卵母細胞において染色体を分配する紡錘体が二極性化する機構は未だ明らかになっていない。本研究では、マウス卵母細胞において動原体が紡錘体の二極性化に重要であること、そして動原体に局在する微小管のクロスリンカータンパク質が染色体の分配に重要であることを明らかにした。紡錘体の二極性化機構を解明することで、卵母細胞において染色体分配異常が高頻度で起こる原因を明らかにすることが期待できる。

研究成果の概要(英文)：

Spindle bipolarity is important for chromosome segregation. In most animal somatic cells, centrosomes predetermine spindle bipolarity. However, oocytes in many organisms lack centrosomes. The mechanisms for spindle bipolarization in mammalian oocytes are still elusive. In this study, we found that kinetochores are required for spindle bipolarization in mouse oocytes. Kinetochores recruit microtubule cross-linker proteins to kinetochores. Our results indicate that spatial regulation of microtubule cross-linker proteins is critical for precise chromosome segregation during meiosis I in mouse oocytes.

研究分野：分子生物学

キーワード：減数分裂 卵母細胞 紡錘体 動原体

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

1. 研究開始当初の背景

(1) 卵母細胞は二回の染色体分配を経て卵子となり、精子と受精し、個体発生へと至る。そして卵母細胞における染色体の減数第一分裂は、個体発生へと至る最初の重要な行程であり、減数第一分裂における染色体分配異常は流産や先天性疾患の原因となる。にもかかわらず卵母細胞の減数第一分裂では染色体分配異常が起こりやすい。

(2) 遺伝情報運ぶ染色体は、主に微小管から構成される紡錘体によって娘細胞へと分配される。紡錘体の極より伸びた微小管が染色体に接続され、染色体は紡錘体の極へと分配される。そのため染色体を正しく分配するためには紡錘体が二極性であることが非常に重要であり、多極性紡錘体は染色体分配異常の原因となる。多くの体細胞では中心体が主な微小管重合中心である。そして複製された2つの中心体から伸びた微小管により二極性の紡錘体が形成される。即ち、中心体が紡錘体の極性を決定づけている。しかし哺乳動物の卵母細胞には中心体が存在せず、紡錘体が二極性化する機構は未だ明らかになっていない。哺乳動物であるマウスの卵母細胞にも中心体は存在せず、複数の微小管重合中心が存在する。そして複数存在する微小管重合中心が2つの集まりを形成し、二極性の紡錘体の両極に局在している。そのため、これら微小管重合中心の集まりが中心体の様に機能して紡錘体を二極性化している、という微小管重合中心依存的な紡錘体の二極性化モデルが考えられてきた。

しかし近年、ヒトの卵母細胞では二極性紡錘体の両極に微小管重合中心が局在していないことが報告された。即ち、哺乳動物の卵母細胞には微小管重合中心に非依存的な紡錘体の二極性化機構が存在することが予想されるが、その機構は明らかになっていない。

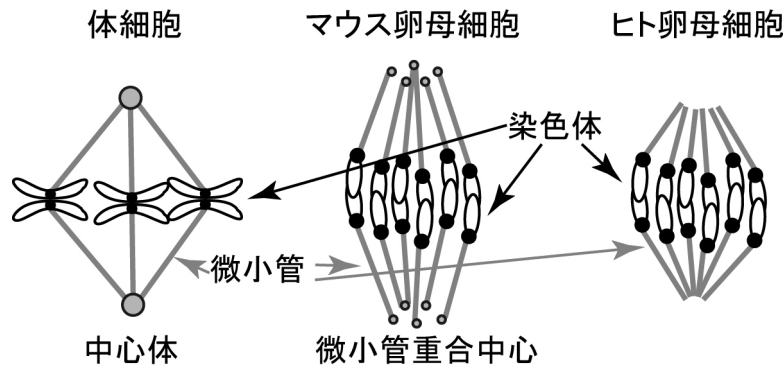


図1. 体細胞と卵母細胞における二極性紡錘体

2. 研究の目的

本研究の目的は、哺乳動物の卵母細胞における紡錘体の二極性化機構を明らかにすることである。紡錘体が二極性であることは染色体を正しく分配するために必須な行程である。しかし哺乳動物の卵母細胞には紡錘体の極性を決定づける中心体が無く、紡錘体の二極性を確立することが難しい。そして染色体分配異常が高い頻度で起こる。卵母細胞における紡錘体の二極性化機構を明らかにすることにより、染色体分配異常が起こりやすい原因の解明を目指す。

3. 研究の方法

我々はマウス卵母細胞では微小管と染色体とを接続する動原体タンパク質が紡錘体の二極性化に重要であること、そして微小管のクロスリンカータンパク質が動原体へと局在していることを明らかにしてきた。そこでまず変異型動原体タンパク質を発現し紡錘体の二極性化を解析することにより、動原体における機能が紡錘体の二極性化に必要なかを評価した。そして動原体タンパク質への変異導入、及び微小管のクロスリンカータンパク質の増加、抑制による紡錘体の二極性化への影響を解析することにより、動原体に局在する微小管のクロスリンカータンパク質が紡錘体への二極性化に必要なかを評価した。

4. 研究成果

(1) マウス卵母細胞において変異型動原体タンパク質の導入が紡錘体二極性化へ与える影響の解析

マウス卵母細胞において微小管接続能を保持する動原体タンパク質の発現を抑制し、変異型タンパク質を発現した。それら卵母細胞の紡錘体の二極性化を解析することにより、紡錘体の二極性化における動原体タンパク質の機能解析を行った。標的とした動原体タンパク質は主に三つの領域により構成される。それらの(A)微小管との接続に必要な領域、(B)微小管のクロスリンカータンパク質と相互作用する領域、(C)動原体局在に必要な領域、それぞれを欠失させた変異型タンパク質を発現し解析した結果、(A)領域は紡錘体の二極性化に必須ではなく、(B)(C)領域は紡錘体の二極性化に必須であることが明らかになった。これらの結果は既知の微小管と染色体との接続に加え、微小管のクロスリンカータンパク質を動原体へと局在させる機能がマウス卵母細胞においては紡錘体の二極性化に重要であることを示唆している。

(2) マウス卵母細胞における微小管クロスリンカータンパク質が紡錘体の二極性化に与える影響の解析

マウス卵母細胞において、紡錘体は極性を持たない球状から樽型へと減数第一分裂の進行に伴い二極性化される。一方で微小管クロスリンカータンパク質も減数第一分裂の進行に伴い卵母細胞内のタンパク質量が増加する。そこで微小管クロスリンカータンパク質を増加、抑制させた卵母細胞における紡錘体の二極性化を解析した結果、微小管クロスリンカータンパク質を増加させた場合は紡錘体が二極性化するタイミングが早まること、逆に抑制した場合は紡錘体が二極性化するタイミングが遅延することが明らかになった。微小管クロスリンカータンパク質の量的制御が紡錘体二極性化のタイミングに重要であることが示唆された。

(3) マウス卵母細胞における微小管クロスリンカータンパク質が染色体分配に与える影響の解析

マウス卵母細胞においては、微小管クロスリンカータンパク質の量的変化が紡錘体を二極性化するタイミングを制御していることが示唆された。そして紡錘体の二極性化は染色体を正しく分配するうえで非常に重要である。そこで微小管クロスリンカータンパク質を増加、抑制させた卵母細胞における染色体の分配を解析することにより、微小管クロスリンカータンパク質が染色体分配に与える影響を評価した。その結果、微小管のクロスリンカータンパク質を増加させた場合は染色体分配異常の頻度が上昇すること、そして抑制した場合は染色体分配のタイミングが遅延、あるいは分配が停滞することが明らかになった。微小管のクロスリンカータンパク質の量的変化は紡錘体が二極性化するタイミングだけでなく、染色体分配にも影響することが明らかになった。マウス卵母細胞においては紡錘体を二極性化するタイミングが染色体分配に重要であることが示唆された。

通常の卵母細胞

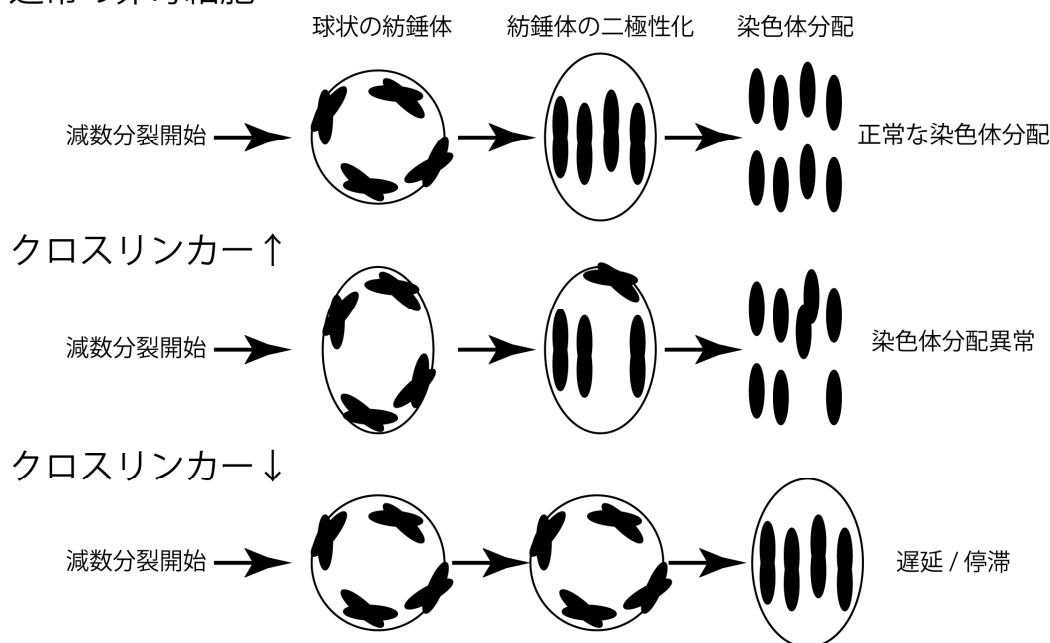


図2. マウス卵母細胞における微小管クロスリンカータンパク質と染色体分配

マウス卵母細胞の減数第一分裂においては動原体に微小管のクロスリンカータンパク質が集積すること、そして微小管のクロスリンカータンパク質が紡錘体の二極性化を制御しており、それらが卵母細胞における染色体の分配に重要であることが示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 0件)

〔学会発表〕(計 4件)

第41回日本分子生物学会年会 (2018)

「マウス卵母細胞における中心体非依存的な紡錘体の二極性化機構」

発表者：吉田 周平

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 (2017)

「マウス卵母細胞の減数第一分裂では動原体が紡錘体の二極性化に必須である」

発表者：吉田 周平

2017年度生命科学系学会合同年次大会（2017）

「マウス卵母細胞における動原体依存的な紡錘体二極化機構の解明」

発表者：吉田 周平

第69回日本細胞生物学会大会（招待講演）（2017）

「マウス卵母細胞の減数第一分裂では動原体が紡錘体の二極性化に必須である」

発表者：吉田 周平

〔図書〕（計 0件）

〔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

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。