

平成 29 年 5 月 30 日現在

機関番号：82401

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2014～2016

課題番号：26650072

研究課題名(和文) 卵母細胞特異的な紡錘体スケーリング

研究課題名(英文) Oocyte-specific spindle scaling

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・多細胞システム形成研究センター・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) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、卵母細胞における紡錘体スケーリングの機構および役割を解明することを目指した。細胞質量を人為的に増減させたマウス卵母細胞をライブイメージングし、減数第一分裂における紡錘体動態を4D解析したところ、卵母細胞の細胞質量とともに紡錘体体積が変化することが分かった。これらの紡錘体の機能性について詳細に調べたところ、細胞質が大きいほど紡錘体の機能性が低下し、染色体分配エラーが起きやすくなることが分かった。これらの結果は、卵母細胞で染色体分配エラーが起きやすい理由の一つはその大きな細胞質にあることを示唆した(Kyogoku & Kitajima 2017 Dev Cell)。

研究成果の概要(英文)：This study aimed to reveal the mechanisms and roles of spindle scaling in oocytes. Four-dimensional live analysis of mouse oocytes following artificial cytoplasmic increase or decrease demonstrated that spindle volume is influenced by cytoplasmic volume. Further investigation of the functionality of the spindles indicated that a larger cytoplasm lowers the spindle functionality and increases the frequency of chromosome segregation errors. These results suggested that the large cytoplasm of oocytes is a cell-intrinsic feature that predisposes to chromosome segregation errors (Kyogoku & Kitajima 2017 Dev Cell).

研究分野：細胞生物学

キーワード：卵母細胞 紡錘体 染色体分配

### 1. 研究開始当初の背景

卵母細胞は減数分裂を通して配偶子である卵子となる細胞である。卵子の染色体数はこの減数分裂における染色体分配によって決定される。染色体分配を行う細胞内装置が紡錘体であり、その機能は精密に制御される必要がある。

申請者らは、マウス卵母細胞を用いた実験から、紡錘体のサイズが細胞質体積に依存するという予備的結果を得ていた。しかしながら、どのように細胞質が紡錘体のサイズを制御し、その機能性に影響するのかは分かっていなかった。

### 2. 研究の目的

本研究では、細胞質が紡錘体のサイズを制御する(紡錘体スケールリング)機構と、細胞質サイズが紡錘体の機能性に影響する可能性について明らかにすることを目的とした。

### 3. 研究の方法

マウス卵母細胞を用いて、人為的に細胞質サイズを変化させる系を確立した(図1)。細胞質サイズを減少させるためには、マイクロピペットで半分の体積の細胞質を除去した。細胞質サイズを増加させるためには、マイクロピペットで核を除去した卵母細胞を用意し、それと通常の卵母細胞を電気融合させた。これら人為的に細胞質サイズを操作した卵母細胞について、紡錘体と染色体を蛍光タンパク質でラベルすることで、高解像度ライブイメージングを行った。得られたデータを3次元再構築し、その体積や形状、機能に関する特徴を定量的に解析した。

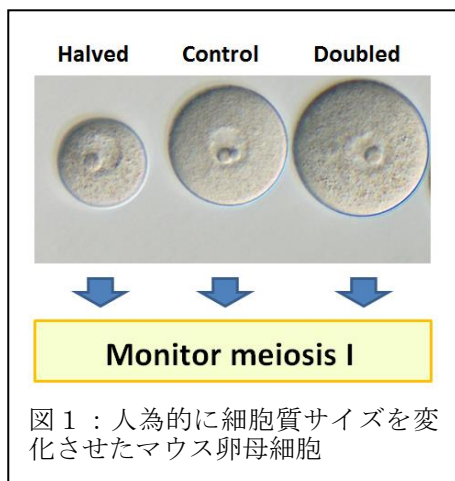


図1：人為的に細胞質サイズを変化させたマウス卵母細胞

### 4. 研究成果

#### (1) 紡錘体体積は細胞質体積にほぼ比例する

まず、ライブイメージングにより得られたデータから、減数第一分裂における紡錘体の体積を経時的に測定した。その結果、いずれ

の時点においても、半分の体積の細胞質を持つ卵母細胞においては、通常と比べて紡錘体の体積がほぼ半分であった。逆に、二倍の体積の細胞質を持つ卵母細胞においては、通常と比べて紡錘体の体積がほぼ二倍であった(図2)。一方で、紡錘体の形状には影響がほぼ見られなかった。

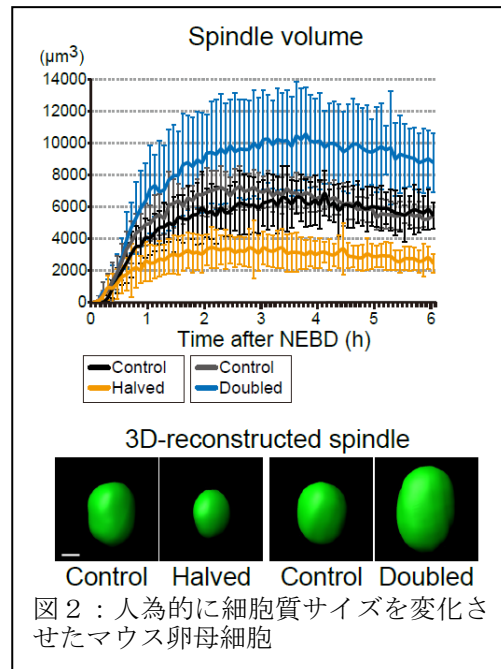


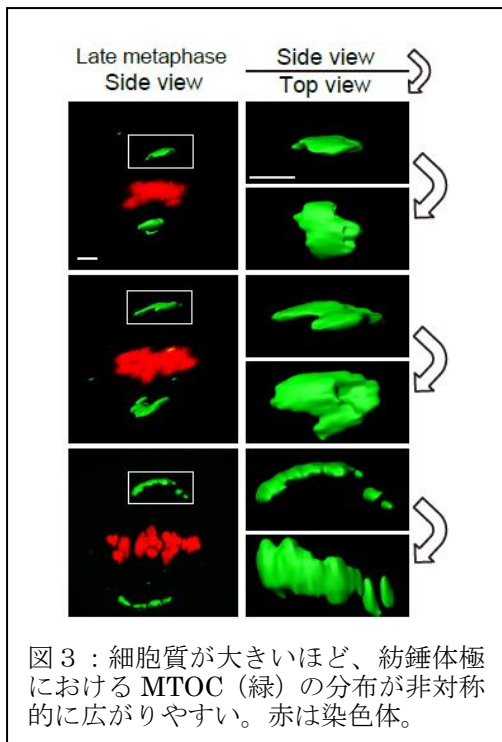
図2：人為的に細胞質サイズを変化させたマウス卵母細胞

#### (2) 紡錘体サイズは細胞質量に依存する

次に、紡錘体サイズが変化する機構を理解するための実験を行った。細胞質サイズを変化させると、紡錘体から細胞表層までの距離が変化する。この距離が紡錘体サイズに影響する可能性を調べるため、卵母細胞を電気融合させた後に細胞膜動態を阻害することで、ひょうたん型の二倍細胞質を持つ卵母細胞を作出した。この細胞では、球形の二倍細胞質を持つ卵母細胞でできる紡錘体と同じサイズの紡錘体が形成した。また、核と細胞質の比は紡錘体サイズに大きく影響しないことを明らかにした。これらのことから、細胞質量そのものが紡錘体サイズに影響することが強く示唆された。

#### (3) 細胞質量に依存して紡錘体極が変化する

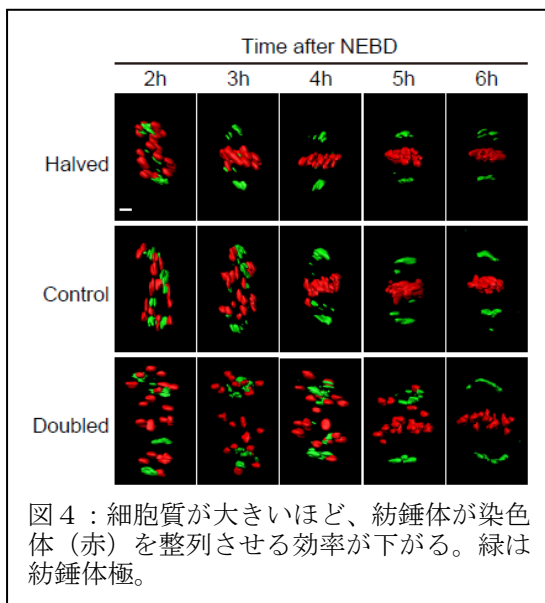
つづいて、紡錘体極に着目した解析を行った。卵母細胞は中心体を持たないため、細胞質にある微小管重合中心(MTOC)が寄り集まって紡錘体極を成すことが知られている。紡錘体極のMTOCの分布を4Dライブイメージング解析により詳細に調べたところ、半分の細胞質を持つ卵母細胞では、MTOCは紡錘体極の狭い領域に点対称的に分布しているのに対し、コントロールでは一つの方向に広がった分布をしていた。このMTOC分布の非対称的な広がり、二倍の細胞質を持つ卵母細胞ではさらに大きくなっていった(図3)。これらの結果から、大きな細胞質は紡錘体極にお



る MTOC 分布を非対称に広げる影響があることが分かった。

(4) 細胞質が大きいほど、紡錘体は染色体整列に失敗しやすい

紡錘体極における MTOC 分布の変化は、紡錘体が染色体を整列させる機能への影響を示唆していた。そこで、ライブイメージングにより染色体整列の過程を詳細に解析した。すると、二倍の細胞質を持つ卵母細胞では、染色体の整列は優位に遅延しており、整列に失敗したまま分配エラーに至る染色体も見られた。反対に、半分の細胞質を持つ卵母細胞では、紡錘体が染色体を整列させる効率が上がっていた (図4)。これらのことは、細胞質による紡錘体スケールリングは紡錘体の機能性に影響し、細胞質が大きいほど紡錘体



の機能が低いことを示していた。

(5) 細胞質が大きいほど、紡錘体チェックポイントが弱い

二倍の細胞質を持つ卵母細胞では、整列に失敗した染色体がそのまま分配エラーに至る様子が観察された。このことは、紡錘体チェックポイントが弱まっていることを示唆していた。実際に、二倍の細胞質を持つ卵母細胞では、分裂後期への進行が通常よりも早まっていた。逆に、半分の細胞質を持つ卵母細胞では、分裂後期への進行に遅延が見られた。紡錘体チェックポイントを阻害すると、これら細胞質サイズ依存的な分裂後期への進行への遅延は見られなくなった。さらに、紡錘体チェックポイントを動原体で強制的に活性化させると、二倍の細胞質を持つ卵母細胞では分裂後期への進行のブロックがかかりにくく、半分の細胞質を持つ卵母細胞ではブロックがかかりやすかった。これらのことは、細胞質が大きいほど紡錘体チェックポイントの強さが弱まることを示していた。

(まとめ)

これらの結果は、卵母細胞における大きな細胞質サイズは、少なくとも二つの機構を介して染色体分配の正確性を制限していることを示している。一つは、細胞質サイズが大きいことは、紡錘体極における MTOC の分布が広げ、染色体整列の効率を制限している。もう一つは、紡錘体チェックポイントを弱め、整列に失敗した染色体があったときに分配エラーに至りやすくしている。これらのことから、卵母細胞における紡錘体スケールリングは紡錘体の機能性とリンクしており、卵母細胞が染色体分配でエラーを起こしやすい性質と関連があることが明らかになった。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 13 件)

<原著論文>

1. Kyogoku, H., and Kitajima, T.S. Large cytoplasm is linked to the error-prone nature of oocytes. *Dev Cell* **41**, 287-298 (2017). 査読有

2. 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* **11**, e0159917 (2016). 査読有

3. Ke, M.-T., Nakai, Y., Fujimoto, S., Takayama, R., Yoshida, S., [Kitajima, T.S.](#), Sato, M., and Imai, T. Super-Resolution Mapping of Neuronal Circuitry With an Index-Optimized Clearing Agent. *Cell Rep.* **14**, 2718-2732 (2016). 査読有
4. Isokane, M., Walter, T., Mahen, R., Nijmeijer, B., Hériché, J.K., Miura, K., Maffini, S., Ivanov, M.P., [Kitajima, T.S.](#), Peters, J.M., and Ellenberg, J. ARHGEF17 is an essential spindle assembly checkpoint factor that targets Mps1 to kinetochores. *J Cell Biol.* **212**, 647-659 (2016). 査読有
5. Mayer A., Baran V., Sakakibara Y., Brzakova A., Ferencova I., Motlik J., [Kitajima, T.S.](#), Schultz R.M., and Solc P. DNA damage response during mouse oocyte maturation. *Cell Cycle* **15**. 546-558 (2016). 査読有
6. Sakakibara, Y., Hashimoto, S., Nakaoka, H., Kouznetsova, A., Höög, C., and [Kitajima, T.S.](#) Bivalent separation into univalents precedes age-related meiosis I errors in oocytes. *Nat. Commun.* **6**, 7550 (2015). 査読有
7. Yoshida, S., Kaido, M., and [Kitajima, T.S.](#) Inherent instability of correct kinetochore-microtubule attachments during meiosis I in oocytes. *Dev Cell* **33**, 589-602 (2015). 査読有
8. Solc, P. \*\*, [Kitajima, T.S.](#) \*\*, Yoshida, S., Brzakova, A., Kaido, M., Baran, V., Mayer, A., Samalova, P., Motlik, J. & Ellenberg, J. (\*\*equally contributing, co-corresponding authors). Multiple requirements of PLK1 during mouse oocyte maturation. *PLoS One* **10**, e0116783 (2015). 査読有
9. Kim, J., Ishiguro, K., Nambu, A., Akiyoshi, B., Yokobayashi, S., Kagami, A., Ishiguro, T., Pendas, A.M., Takeda, N., Sakakibara, Y., [Kitajima, T.S.](#), Tanno, Y., Sakuno, T., and Watanabe, Y. Meikin is a conserved regulator of meiosis-I-specific kinetochore function. *Nature* **517**, 466-471 (2015). 査読有
10. [Kyogoku, H.](#), [Kitajima, T.S.](#), and Miyano, T. Nucleolus Precursor Body (NPB): A Distinct Structure in Mammalian Oocytes and Zygotes. *Nucleus* **5**, 493-498 (2014). 査読有  
<レビュー>
11. 吉田周平・[北島智也](#) 卵母細胞の染色体分配異常 *細胞工学* **34**, 1063-1066 (2015). 査読無
12. [北島智也](#) 減数分裂における染色体分配の制御機構とエラー *細胞* **47**, 17-20 (2015). 査読無
13. [北島智也](#) 卵母細胞における染色体分配と老化によるエラー *実験医学* **32**, 865-869 (2014). 査読無
- [学会発表] (計 37 件)  
<国際学会・セミナー>
1. [Kitajima, T. S.](#)  
Large cytoplasm predisposes oocytes to chromosome segregation errors  
September 23, 2016  
Conference Pigmod and Czechoslovak Biological Society: From reproductive biology to large animal models of human diseases  
Institute of Animal Physiology and Genetics AS CR (Liběchov, Czech Republic)
2. [Kitajima, T. S.](#)  
Effects of oocyte size on chromosome segregation during meiosis  
June 28, 2016  
Meiosis, Gordon Research Conference Colby-Sawyer College (New London, USA)
3. [Kitajima, T. S.](#)  
Intrinsic and age-related sources of aneuploidy in eggs  
February 18, 2016  
International Symposium on Epigenome Dynamics and Regulation in Germ Cells  
Clock Tower Centennial Hall, Kyoto University (Kyoto, Japan)
4. [Kitajima, T. S.](#)  
Intrinsic and age-related sources of chromosome segregation errors in mouse oocytes.  
September 4, 2015  
Lecture at the Institute of Animal Physiology and Genetics AS CR (Liběchov, Czech Republic)
5. [Kitajima, T.S.](#)

Chromosome segregation errors in oocytes.  
June 17, 2015

Oocyte Maturation and Fertilization  
Meeting IV.

Research Center for Marine Biology, Tohoku  
University (Aomori, Japan)

**6.** Shuhei Yoshida, Yogo Sakakibara  
and Kitajima, T.S.

Intrinsic and age-related sources of  
chromosome segregation errors during  
meiosis I in oocytes.

May 21, 2015

EMBO Workshop Dynamic Kinetochore.

Teilum Building (Copenhagen, Denmark)

**7.** Kitajima, T.S.

Major causes of age-related chromosome  
segregation errors at meiosis I in  
oocytes.

September 8, 2014

International Microscopy Congress (IMC).

Prague Congress Centre (Prague, Czech  
Republic)

**8.** Kitajima, T.S.

Major causes of chromosome segregation  
errors during meiosis in mouse oocytes  
September 5, 2014

Seminar, Department of Biochemistry,  
University of Oxford (Oxford, UK)

**9.** Kitajima, T.S.

Major causes of age-related chromosome  
segregation errors at meiosis I in  
oocytes.

September 4, 2014, World Congress of  
Reproductive Biology 2014.

Edinburgh International Conference Centre  
(Edinburgh, UK)

<国内学会・セミナー>

**10.** 北島智也

The causes of aneuploidy in eggs

2017年3月23日

蛋白研セミナー “Chromosome dynamics and  
genome stability in meiosis and mitosis”  
大阪大学蛋白質研究所 (吹田)

**11.** 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

2017年3月1日

第23回ホルモン療法を考える神奈川県医師  
の会

ホテルキャメロットジャパン (横浜)

**12.** 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

2017年1月12日

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

かずさアカデミアホール (木更津)

**13.** 北島智也

細胞動態のイメージングと定量

2016年12月1日

第39回日本分子生物学会年会

パシフィコ横浜 (横浜)

**14.** 北島智也

卵子の染色体数異常の原因

2016年11月30日

第39回日本分子生物学会年会

パシフィコ横浜 (横浜)

**15.** 北島智也

卵母細胞がエラーを起こしやすい原因

2016年11月16日

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」

三島市民文化会館小ホール (三島)

**16.** 北島智也

卵母細胞がエラーを起こしやすい原因

2016年11月11日

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」

神戸大学農学部・大学院農学研究科 (神戸)

**17.** 北島智也

卵子の染色体数異常の原因

2016年11月3日

第61回日本生殖医学会学術講演会

パシフィコ横浜 (横浜)

**18.** 京極博久・北島智也

卵母細胞は大きな細胞質のために染色体分  
配異常を起こしやすい

2016年9月13日

第109回日本繁殖生物学会大会

麻布大学 (相模原)

**19.** 北島智也

Oocytes - why so error-prone?

2016年9月12日

国立遺伝学研究所 セミナー

国立遺伝学研究所 (三島)

**20.** 北島智也

卵母細胞の巨大な細胞サイズの意義

2016年7月7日

第18回京都大学生命科学研究科シンポジウ  
ム

京都大学芝蘭会館稲盛ホール (京都)

**21.** 北島智也

卵子の染色体数異常の原因

2016年6月18日

第38回中部生殖医学会学術集会

アスト津アストホール (津)

**22.** 北島智也

老化にともなう卵子の染色体数異常の原因

2016年6月16日

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

京都テルサ (京都)

**23.** 北島智也

卵子の染色体数異常の原因

2016年5月22日

ナースのための ART[医学セミナー2016

六本木アカデミーヒルズ 49 タワーホール (東

京)

**24. 北島智也**

卵子の染色体数異常の原因～マウス卵母細胞のライブイメージングを用いた研究から  
2016年3月20日

日本A-PART 学術講演会 2016

品川インターシティホール (東京)

**25. 北島智也**

Intrinsic and age-related sources of aneuploidy in eggs

2015年12月2日

BMB2015 (第38回日本分子生物学会年会・第88回日本生化学会大会 合同大会)

神戸ポートアイランド (神戸)

**26. 北島智也**

Intrinsic and age-related sources of aneuploidy in eggs

2015年9月15日

熊本大学リエゾンラボ研究会

熊本大学発生医学研究所 (熊本)

**27. 北島智也**

卵子における染色体数異常の内在的な原因と老化依存的な原因

2015年9月11日

神戸大学重点研究チーム「資源動物のシグナル伝達制御に関する研究」ワークショップ「生殖細胞研究の最先端技術」

神戸大学農学研究科 (神戸)

**28. 北島智也**

Intrinsic and age-related sources of aneuploidy in eggs

2015年8月18日

第698回九州大学生医研セミナー

九州大学生体防御医学研究所 (福岡)

**29. 北島智也**

加齢により卵子が染色体数異常となる原因

2015年7月4日

北陸実験動物研究会第19回総会・第50回研究会

金沢大学医学類G棟 (金沢)

**30. Kitajima, T. S.**

The major cause of age-related aneuploidy in eggs

2015年7月2日

第17回京都大学生命科学研究科シンポジウム

京都大学芝蘭会館稲盛ホール (京都)

**31. 北島智也**

マウス卵母細胞における老化依存的な染色体分配エラーの原因

2015年6月14日

第21回セント・ルカセミナー第3回大分がん・生殖医療研究会

セント・ルカ産婦人科 (大分)

**32. 北島智也**

卵子における年齢に依存した染色体数異常の原因

2015年5月15日

日本顕微鏡学会第71回学術講演会

国立京都国際会館 (京都)

**33. 北島智也**

卵母細胞における老化依存的な染色体分配エラーの原因

2014年11月10日 第277回大阪大学生物科学セミナー

大阪大学豊中キャンパスΣホール (豊中)

**34. 北島智也**

理化学研究所の若手PIに学ぶ、オリジナルな研究の進め方とは

2014年8月28日 第54回生命科学夏の学校白浜荘 (高島)

**35. Kitajima, T. S.**

Causes of age-related chromosome segregation errors in oocytes

2014年7月1日 第16回京都大学生命科学研究科シンポジウム

京都大学芝蘭会館 稲盛ホール (京都)

[図書] (計 1 件)

1. Yoshida S., Sakakibara Y., and Kitajima

T.S. Live Imaging of Intracellular Dynamics

During Meiotic Maturation in Mouse Oocytes.

*Oogenesis: Methods and Protocols*. Springer

New York, 241-251 (2016).

[産業財産権]

なし

[その他]

ホームページ等

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

<http://www.cdb.riken.jp/research/laboratory/kitajima.html>

[http://www.riken.jp/research/labs/cdb/chromo\\_segr/](http://www.riken.jp/research/labs/cdb/chromo_segr/)

6. 研究組織

(1) 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・多細胞システム形成研究センター・チームリーダー

研究者番号：00376641

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

京極 博久 (Kyogoku, Hirohisa)

国立研究開発法人理化学研究所・多細胞システム形成研究センター・訪問研究員

研究者番号：20726038

(4) 研究協力者

なし