

令和 3 年 5 月 20 日現在

機関番号：34419

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2018～2020

課題番号：18H02357

研究課題名（和文）体外培養卵胞と再構成卵胞中の卵子核機能性獲得ダイナミクスのイメージング法の確立

研究課題名（英文）Live-cell imaging of nuclear dynamics in oocyte during follicle culture

研究代表者

山縣 一夫（YAMAGATA, Kazuo）

近畿大学・生物理工学部・教授

研究者番号：10361312

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,500,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、卵胞発育・卵胞成熟過程における核内クロマチン動態を観察するための方法を確立し、ライブセルイメージングによって評価を行った。特に染色体動原体付近に存在するペリセントロメア領域の核内局在性に着目して観察した結果、核内のメチル化DNAの動態を連続的に三次元評価することに成功した。また、卵胞成熟期の核内クロマチン動態が卵子発生能との連関していることを明らかにした。卵胞発育・卵子成熟過程における核内クロマチン動態を低侵襲な条件で評価し、その後の発生率と結びつけることにはじめて成功した。ここで確立された方法論は、これまでブラックボックスとなっていた卵子形成における研究に新しい方法論を提供した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、卵胞発育・卵子成熟過程における核内クロマチン動態を低侵襲な条件で評価し、その後の発生率と結びつけることにはじめて成功した。ここで確立された方法論は、これまで卵巣内でブラックボックスとなっていた卵子形成における研究に新しい方法論を提供したことになった。また、受精直後や初期胚発生におけるクロマチン変換の研究に対しても相乗効果がある。特に本研究で検討を開始した単一胚移植の成功は、本研究に加え生殖補助医療の基礎技術として応用性が高く、特筆すべき成果である。

研究成果の概要（英文）：In this study, we established a method for observing nuclear chromatin dynamics during follicle development and maturation, and evaluated it by live-cell imaging. In particular, as a result of observing the nuclear localization of the pericentromeric region existing near the chromosomal centromere, we succeeded in continuously evaluating the dynamics of methylated DNA in the nucleus in three dimensions. We also revealed that nuclear chromatin dynamics during follicle maturation are associated with development of embryos. Moreover, we succeeded in evaluating the nuclear chromatin dynamics during follicle development and oocyte maturation under minimally invasive conditions and linking them to the subsequent development. The methodology established in the present study provided a new methodology for the study of oogenesis.

研究分野：発生工学

キーワード：体外卵胞培養 再構成卵胞 クロマチン ライブセルイメージング

1. 研究開始当初の背景

哺乳動物では、卵子は胎生期の卵巣ですでに形成されており、出生時には第一減数分裂前期で停止し、顆粒膜細胞に包まれた原始卵胞という形で存在する。マウスでは1～2年、ヒトでは数十年にわたりその状態で排卵のタイミングを待ち続け、排卵が決定づけられると短期間の間に卵子そのものが大きく発育するのに加えて、周りの顆粒膜細胞も活発に増殖を始める。この過程を卵胞発育と呼ぶ。その後、排卵されて受精のタイミングを待つ未受精卵の段階に至る過程は、卵子成熟と呼ぶ。卵子成熟期には、長期間にわたり停止していた減数分裂がいったん再開し、第二減数分裂中期まで進行したのち、未受精卵として再び細胞周期を停止しながら受精のタイミングを待つ。卵胞発育時は、卵子細胞質が成長するだけでなく、その後の発生に備えて多くの母性因子を蓄えるために転写が盛んになる。一方、卵子成熟期には活性化していた転写がグローバルに抑制される。この間、核内のクロマチンは、ヘテロクロマチンが核内に分散した状態で存在する Non-surrounded nucleolus (NSN) 型から、核小体周辺に凝集する Surrounded-nucleolus (SN) 型に構造が大きく変化することが古くから知られている (Mattson et al., Mol Reprod Dev, 1990)。この構造変化が正常に起こらない卵子では、減数分裂が再開しない、排卵しないなどの異常がみられる (Zuccotti, Mol Reprod Dev, 1995)。このように卵胞内卵子発育における卵子成熟過程は核内のクロマチンや染色体構造の成熟過程と言っても過言ではないが、その機序はおろか、その変換がその後の受精・発生に与える影響や生物学的意義についてはほとんどが未知である。その原因として卵胞発育時・卵子成熟期における卵子は顆粒膜細胞に包まれており、そのままでは観察が困難であることがあげられる。これまで報告されている方法では細胞の固定や破碎を経たスナップショット観察に基づいているため、時間軸方向の概念が欠けているだけでなく、その後の発生能を推し量ることはもはや不可能である。

申請者らはこれまでに受精から胚盤胞期までを連続的かつ3次元的に観察するライブセルイメージング技術を開発してきた。この方法では、核や染色体をラベルする Histone H2B-mCherry や、メチル化 DNA (EGFP-MBD-NLS) やセントロメア領域などの特定のクロマチン領域を可視化する蛍光プローブをコードする RNA や蛍光ラベルされた抗体を受精卵に注入する。その後、顕微鏡ステージ上のインキュベーターに移し培養しながら連続観察を行う。この方法論の最大の特徴はその低侵襲性であり、装置や撮影条件の検討の結果、卵割過程を4日間にわたり観察した後も、受精卵を仮親に移植することで正常に個体発生させることに成功している。

2. 研究の目的

本研究では、上述のような卵胞発育・卵子成熟期の卵子核内にみられる一連の変化を卵子の「核機能性獲得ダイナミクス」と定義して、最終的にはその機序や生物学的な意義を明らかにすることを学術的問いとしつつ、本研究期間においてはそのための方法論として、卵胞や卵子を体外培養しながら生きたままそれを観察する系を確立することを目的とした。具体的には、クロマチンの核内局在などに着目しながら、顕微鏡や培養法を検討することでイメージング後の受精や発生能を損なわないで卵胞内卵子を連続観察する方法論の確立を目指した。合わせて、卵子核動態と受精・発生能、産仔作出能を直接結び付けることで、卵子核機能性獲得ダイナミクスの生物学的意義の理解につなげる試みを行った。

3. 研究の方法

上記の目的を達成するため、まずは(1)未成熟卵胞卵子にダメージなく確実に蛍光プローブを導入する方法論の確立をおこない、(2)卵子成熟後の受精や発生に影響のない体外卵胞培養のライブセルイメージングの条件検討を行った。さらに、(3)イメージング後に得られた卵子を媒精・体外培養・移植することで卵胞発育・卵子成熟期の核内クロマチン動態との関連性を検討した。以下、詳細に解説する。

(1) 未成熟卵胞内卵子への蛍光プローブ導入法の確立

これまでも卵胞内卵子へのプローブ導入については報告があるが、多量のプローブを必要とする上、必ずしも再現性の高い方法であるとは言えなかった。卵胞のライブセルイメージングには、卵胞を包む顆粒膜細胞を貫通して確実に一定量の蛍光プローブを未成熟な卵胞内卵子に注入する方法が必要である。そこでマイクロマニピュレーション法や各種条件検討を行い、確実かつ卵胞・卵子にダメージの無い注入法を検討した。

(2) 受精、胚発生に影響のない体外卵胞培養ライブセルイメージングの検討

厚みのある卵胞内の卵子核を数日間3次元イメージングし、その卵子から最終的には産仔を獲得することが可能なイメージングおよび培養方法の確立を行った。具体的には、深部まで観察可能なシリコンレンズや透過性の高い励起光を組み合わせて、イメージング後の卵子の成熟能、受精能、胚盤胞期発生能が、イメージングをしていない区と比較して同等となるようレーザーパワ

一や撮影条件、培養液などの撮影条件を設定した。かつ高効率培養の両立を目指した。

(3) 卵子核内クロマチン動態の評価と受精・発生能の関連付け

上記手法を用いて、卵胞発育中・卵子成熟中における核内クロマチン動態を観察・評価し、その後それらを個別に受精、胚培養をすることで、受精や発生能との関連性を検討した。具体的には、メチル化 DNA (EGFP-MBD-NLS) やペリセントロメア領域 (TALE-mClover_MajSat) によってみられる NSN 型、SN 型の核内クロマチン構造に分類し、「発生する」あるいは「生まれる」パターンを核の機能性獲得の指標として、クロマチン構造変化と産仔作出能に關係があるのかを明らかにすることを目的にした。

4. 研究成果

(1) 研究の主な成果

卵胞内卵子への蛍光プローブ導入法

卵胞発育過程における卵子内部を観察するため、卵巣より採取した未成熟卵胞(二次卵胞) 卵子に直接顕微操作によって蛍光プローブを安定的に導入する方法論の開発を行った。インジェクション装置の検討、インジェクションに用いるキャピラリーの太さや培養液などを検討することで、最終的に生存率 90%以上、導入後の卵胞発育率はおよそ 80%、そして 30%以上の卵子成熟率を達成することができた。これは、インジェクションを行わなかった場合に比して遜色のない結果であった。

卵胞内卵子の核内のライブセルイメージングによる評価

卵巣より採取した未成熟卵胞の発育・成熟過程における核内のクロマチン構造について、特にペリセントロメア領域の核内局在性に着目しながら観察・評価することと試みた(図 1)。その結果、卵胞発育過程 8 日間の後半 3 日間において、顆粒膜細胞に包まれた状態で卵子内の核内のメチル化 DNA の動態を連続的に三次元評価することに成功した。計 66 個の卵胞を観察したところ、38 個(57.6%)において観察中に NSN 型から SN 型へと変換し、残りは NSN 型のままであった。

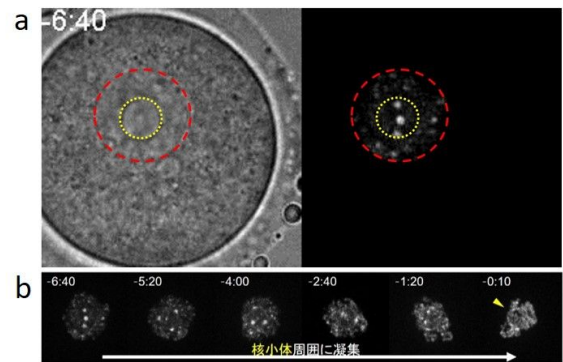


図 1 卵子成熟過程のクロマチン動態のライブセルイメージング

a. 成熟過程卵子におけるクロマチンの可視化。赤破線が核、黄色破線が核小体を示す。
b. 卵子成熟過程のクロマチン動態。矢頭は核小体周辺に凝集する Surrounded-nucleolus (SN) 型クロマチンを示す。

核内クロマチン動態と発生能・産仔作出能との関連性

2 年目からは、観察されたクロマチン動態とその後の受精・発生を結びつけるため、体外成熟過程のイメージング後にそれぞれの卵子をタイプごとに分類し、それらを個別に単一卵子体外受精を行った。受精直後から 2 細胞期における核内クロマチン動態(図 2)を紐づけながら再度ライブセルイメージングし、さらにそれらを個別に胚盤胞期胚まで培養することで発生能との関連性の検討を行った。その結果、卵子成熟時に SN 型まで進行したもの(72.0%)は NSN 型のままであったもの(28.0%)に比べて優位に受精率(60.6% vs. 28.1%)や桑実胚胚盤胞期発生率(約 30% vs. 0%)が高かった。また、成熟時に SN 型まで進行した卵子の多くは、受精後の 2 細胞期においても SN 型を経て NSN 型に至ることがわかり、そのような胚のみが胚盤胞期に進行することが明らかとなった。

また、卵子核内クロマチン動態の生物学的意義を明らかにするためには、個別の卵子について、得られた胚の最終的な産仔作出能を調べなくてはならない。そこで、まずはその予備検討として、観察後の胚を個別に培養し、一つの子宮に移植(単一胚移植)することで、受精卵から産仔までの一連の過程を直接個別に紐づける系の開発に着手し、成功した(Mashiko et al., Sci Rep, 2020)。

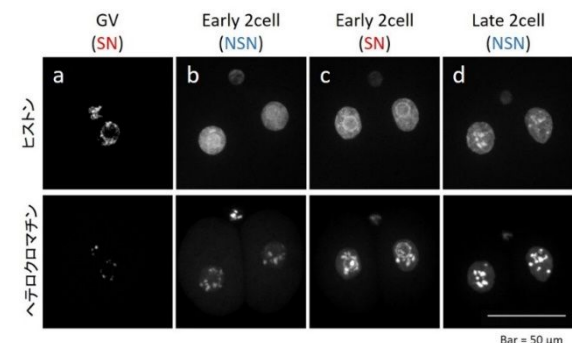


図 2 受精後 2 細胞期におけるクロマチン動態

a. 成熟過程卵子のクロマチン。核小体周辺にクロマチンが凝集している Surrounded-nucleolus (SN) の状態。
b. 初期 2 細胞期のクロマチン。クロマチンが核小体に凝集していない Non-surrounded nucleolus (NSN) の状態。
c. 初期 2 細胞期のクロマチン。クロマチンが核小体周辺に凝集している SN の状態。
d. 後期 2 細胞期のクロマチン。
上段は Histone H2B-mCherry、下段は EGFP-MBD-NLS のシグナル。

その他の成果

卵胞発育・卵子成熟過程におけるセントロメア・ペリセントロメア領域の動態を観察するため、いくつかの蛍光プローブを検討・開発した。その結果、2012年に Miyanari らが開発した TALE をもとにした既報の蛍光プローブ (TALE-mClover_MajSat, TALE-mClover_MinSat) がこの時期にも使用可能であることが明らかとなった。また、Wang らが 2019 年に報告した CRISPR/dCAS9 をもとにしたシステム (LIVE-FISH 法) をもとに、Major satellite や Minor satellite に対するガイド RNA を設計することで、セントロメア・ペリセントロメア領域を可視できるプローブを新たに開発した (Hatano et al., BioRxiv)。

(2) 得られた成果の国内外における位置づけとインパクト

本研究では、卵胞発育・卵子成熟過程における核内クロマチン動態を低侵襲な条件で評価し、その後の発生率と結びつけることにはじめて成功した。ここで確立された方法論は、これまで卵巣内でブラックボックスとなっていた卵子形成における研究に新しい方法論を提供したことになった。また、受精直後や初期胚発生におけるクロマチン変換の研究に対しても相乗効果があり、実際に別紙のとおりいくつかの成果に結びついた。特に本研究で検討を開始した単一胚移植の成功は、本研究に加え生殖補助医療の基礎技術として応用性が高く、特筆すべき成果である。

(3) 今後の展望

単一胚移植は、いまだその系の開発にとどまっており、実際に卵子成熟期の核内クロマチン動態の評価後に産子との紐づけを行うことに成功していない。そこで、さらに条件検討を進め、卵巣内卵子から受精卵や初期胚を経て産仔までを一個体ごとに連続的追跡が可能な系を確立する。これにより、真に卵子「核機能性獲得ダイナミクス」の生物学的意義に迫れると考えている。本研究で得られた成果をもとにして、今後は共同研究により多能性幹細胞からの再構築卵子の評価を進めていく予定である。

(4) 当初予期していなかったことへの対応

顆粒膜細胞に囲まれた卵胞内卵子は、光の透過性が低く、卵胞発育に伴って厚みも増すため、詳細な観察が困難であった。そこで、使用するレンズや観察用の培養皿などを検討することで卵胞内卵子の核内を観察することに成功した。また、卵巣表面にある卵胞を培養しながら長時間観察するための条件検討を行ってきたが、それらの核内の観察に関しては断念せざるを得なかった。顕微鏡観察技術はプローブも顕微鏡も日進月歩である。よって、今後も目標をもって取り組めば、いずれは技術的なブレイクスルーにより、組織深部の核内を見ることが可能になると考えている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計10件（うち査読付論文 9件／うち国際共著 1件／うちオープンアクセス 10件）

1. 著者名 Okuno Tomomi, Li Wayne Yang, Hatano Yu, Takasu Atsushi, Sakamoto Yuko, Yamamoto Mari, Ikeda Zenki, Shindo Taiki, Plessner Matthias, Morita Kohtarō, Matsumoto Kazuya, Yamagata Kazuo, Grosse Robert, Miyamoto Kei	4. 巻 31
2. 論文標題 Zygotic Nuclear F-Actin Safeguards Embryonic Development	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cell Reports	6. 最初と最後の頁 107824 ~ 107824
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.celrep.2020.107824	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 -
1. 著者名 Tokuoka Yuta, Yamada Takahiro G., Mashiko Daisuke, Ikeda Zenki, Hiroi Noriko F., Kobayashi Tetsuya J., Yamagata Kazuo, Funahashi Akira	4. 巻 6
2. 論文標題 3D convolutional neural networks-based segmentation to acquire quantitative criteria of the nucleus during mouse embryogenesis	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 npj Systems Biology and Applications	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41540-020-00152-8	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 -
1. 著者名 Hatano Yu, Mashiko Daisuke, Tokoro Mikiko, Yao Tatsuma, Hirao Ryota, Kitasaka Hiroya, Fukunaga Noritaka, Asada Yoshimasa, Yamagata Kazuo	4. 巻 -
2. 論文標題 Chromosome counting in the mouse and human zygote using low-invasive super-resolution live-cell imaging	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 bioRxiv	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1101/2021.03.14.435348	査読の有無 無
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 -
1. 著者名 Yamazaki Taiga, Hatano Yu, Taniguchi Ryoya, Kobayashi Noritada, Yamagata Kazuo	4. 巻 21
2. 論文標題 Editing DNA Methylation in Mammalian Embryos	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 637 ~ 637
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms21020637	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 -

1. 著者名 Mashiko Daisuke, Ikeda Zenki, Yao Tatsuma, Tokoro Mikiko, Fukunaga Noritaka, Asada Yoshimasa, Yamagata Kazuo	4. 巻 10
2. 論文標題 Chromosome segregation error during early cleavage in mouse pre-implantation embryo does not necessarily cause developmental failure after blastocyst stage	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 854
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-020-57817-x	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 -

1. 著者名 Kitaura Fusako, Yuno Miyuki, Fujita Toshitsugu, Wakana Shigeharu, Ueda Jun, Yamagata Kazuo, Fujii Hodaka	4. 巻 14
2. 論文標題 Normal B cell development and Pax5 expression in Thy28/ThyN1-deficient mice	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 e0220199
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0220199	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 -

1. 著者名 Suzuki Yuka, Bilir Sukriye, Hatano Yu, Fukuda Tatsuhito, Mashiko Daisuke, Kobayashi Shouhei, Hiraoka Yasushi, Haraguchi Tokuko, Yamagata Kazuo	4. 巻 9
2. 論文標題 Nuclear formation induced by DNA-conjugated beads in living fertilised mouse egg	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 8461
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-019-44941-6	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 -

1. 著者名 Au Yeung Wan Kin, Brind' Amour Julie, Hatano Yu, Yamagata Kazuo, Feil Robert, Lorincz Matthew C., Tachibana Makoto, Shinkai Yoichi, Sasaki Hiroyuki	4. 巻 27
2. 論文標題 Histone H3K9 Methyltransferase G9a in Oocytes Is Essential for Preimplantation Development but Dispensable for CG Methylation Protection	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cell Reports	6. 最初と最後の頁 282 ~ 293.e4
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.celrep.2019.03.002	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 -

1. 著者名 Takahashi Tomohiro, Okeyo Kennedy O., Ueda Jun, Yamagata Kazuo, Washizu Masao, Oana Hidehiro	4. 巻 8
2. 論文標題 A microfluidic device for isolating intact chromosomes from single mammalian cells and probing their folding stability by controlling solution conditions	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-018-31975-5	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 -

1. 著者名 Yamagata Kazuo(1st author/22 author), Nagai Kouhei, Miyamoto Hiroshi, Anzai Masayuki, Kato Hiromi, ..., Iritani Akira	4. 巻 9
2. 論文標題 Signs of biological activities of 28,000-year-old mammoth nuclei in mouse oocytes visualized by live-cell imaging	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-019-40546-1	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

〔学会発表〕 計39件 (うち招待講演 15件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 波多野裕、野老美紀子、八尾竜馬、山縣一夫
2. 発表標題 超解像顕微鏡を用いたマウス初期胚のライブセルイメージング
3. 学会等名 第38回日本受精着床学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 清水祐稀、八尾竜馬、山縣一夫
2. 発表標題 ライブセルイメージングを用いた胚のATP濃度と発生能の関連性についての検討
3. 学会等名 第38回日本受精着床学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 植田朱音、佐藤優子、大井彰人、八尾竜馬、木村宏、山縣一夫
2. 発表標題 低侵襲ライブセルイメージング技術を用いた高精度着床前胚雌雄判別法の開発
3. 学会等名 第38回日本受精着床学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 山縣一夫
2. 発表標題 受精卵から産仔までを紐づけるライフコースイメージング
3. 学会等名 第38回日本受精着床学会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 山縣一夫
2. 発表標題 科学の歴史からひも解く定量の必然性と論文紹介
3. 学会等名 第2回 ART JAPAN定量生殖医療研究会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 山縣一夫
2. 発表標題 科学的「確からしさ」をどう担保するか？
3. 学会等名 第7回 生殖若手の会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 山縣一夫
2. 発表標題 計測・再構成アプローチによる初期胚核の機能性獲得機序の理解
3. 学会等名 第93回 日本生化学会大会 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Kazuo Yamagata
2. 発表標題 Construction of artificial nucleus in mouse fertilized oocyte by quantitative and reconstitution approach
3. 学会等名 第43回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 山縣一夫
2. 発表標題 マウス受精卵における細胞核の再構成
3. 学会等名 2019遺伝研研究会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 山縣一夫
2. 発表標題 再構成とエピゲノム編集による初期胚核の機能性獲得機序の理解
3. 学会等名 クロマチン潜在能 第2回領域班会議 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 山縣一夫
2. 発表標題 ライブセルイメージングを用いた哺乳動物受精卵の質の評価
3. 学会等名 第46回日本毒性学会学術年会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 山縣一夫
2. 発表標題 高解像・超解像ライブセルイメージングによる胚の細胞核・染色体の観察
3. 学会等名 ART FORUM'19（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 鈴木由華、Sukriye Bilir、波多野裕、福田龍人、増子大輔、小林昇平、平岡泰、原口徳子、山縣一夫
2. 発表標題 マウス受精卵での人工細胞核構築
3. 学会等名 第37回日本受精着床学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 山縣一夫
2. 発表標題 ライブセルイメージングによる哺乳動物初期胚の質の評価
3. 学会等名 第3回日本胚移植技術研究会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yamagata Kazuo
2. 発表標題 Manipulate & Reconstitute the chromatin
3. 学会等名 RIKEN SEMINAR 7th Epigenetics Seminar Series 2019 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 山縣一夫
2. 発表標題 細胞核を造る-機能的な核の再構成を目指して-
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 山縣一夫
2. 発表標題 ライブセルイメージングによる胚の質の評価
3. 学会等名 生殖補助医療技術者のためのリカレントセミナー (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 池田善貴、増子大輔、小林徹也、八尾竜馬、野老美紀子、細井美彦、山縣一夫
2. 発表標題 初期胚発生におけるイベントのタイミングは細胞数・時間のどちらに依存しているのか～三次元画像解析による時間定量～
3. 学会等名 定量生物学の会 第9回年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 波多野裕、山崎大賀、谷口稜弥、増子大輔、野老美紀子、八尾竜馬、山縣一夫
2. 発表標題 エピゲノム編集によるマウス生殖系列細胞特異的なペリセントロメア/セントロメアのDNA低メチル化状態の意義の解明
3. 学会等名 有性生殖にかかわる染色体・クロマチン・核動態に関する研究会(遺伝研研究会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 池田善貴、小林徹也、八尾竜馬、野老美紀子、増子大輔、細井美彦、山縣一夫
2. 発表標題 ライブセルイメージングおよび単一胚移植による産まれる発生パターンの解析
3. 学会等名 有性生殖にかかわる染色体・クロマチン・核動態に関する研究会(遺伝研研究会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 波多野裕、山崎大賀、谷口稜弥、増子大輔、野老美紀子、八尾竜馬、山縣一夫
2. 発表標題 エピゲノム編集によるマウス生殖系列細胞特異的なペリセントロメア/セントロメアのDNA低メチル化状態の意義の解明
3. 学会等名 クロマチン潜在能 第2回領域班会議 第1回クロマチン潜在能ワークショップ
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 谷口稜弥、山崎大賀、波多野裕、増子大輔、舩本寛、山縣一夫
2. 発表標題 マウス初期胚特異的なセントロメア構造および機能の分子機序の解明
3. 学会等名 クロマチン潜在能 第2回領域班会議 第1回クロマチン潜在能ワークショップ
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 福田龍人、鈴木由華、Sukriye Bilir、波多野裕、増子大輔、小林昇平、平岡泰、原口徳子、山縣一夫
2. 発表標題 転写能を持つ人工細胞核の作製
3. 学会等名 クロマチン潜在能 第2回領域班会議 第1回クロマチン潜在能ワークショップ
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 清水祐希、植村碧、波多野裕、増子大輔、野老美紀子、八尾竜馬、細井美彦、山縣一夫
2. 発表標題 in vitro卵形成・初期胚発生の連続観察に向けた試み
3. 学会等名 第37回日本受精着床学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 池田善貴、小林徹也、八尾竜馬、野老美紀子、増子大輔、山縣一夫
2. 発表標題 マウス着床前発生における細胞数半自動計測法を用いた産仔に繋がる胚の解析
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 波多野裕、野老美紀子、八尾竜馬、山縣一夫
2. 発表標題 超解像顕微鏡を用いたマウス初期胚のライブセルイメージング
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 植田朱音、佐藤優子、大井彰人、八尾竜馬、木村宏、山縣一夫
2. 発表標題 Mintbody法を用いたマウス着床前胚におけるX染色体不活性化の可視化
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 谷口稜弥、波多野裕、山崎大賀、舛本寛、小布施力史、山縣一夫
2. 発表標題 マウス初期胚特異的なセントロメア構造および機能の分子機序の解明
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 松本侑也、福田龍人、赤井絹香、平岡泰、原口徳子、山縣一夫
2. 発表標題 微小核の核膜形成とインポート活性の有無はサイズに依存する
3. 学会等名 第43回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 山縣一夫
2. 発表標題 ゲノム編集を応用したマウス受精卵のエピゲノム編集
3. 学会等名 日本ゲノム編集学会第3回大会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 山縣一夫
2. 発表標題 ライブセルイメージングとエピゲノム編集によるマウス生殖・発生のエピジェネティクス解析
3. 学会等名 第91回日本生化学会大会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 山縣一夫
2. 発表標題 哺乳動物受精卵ライブセルイメージングの構築とそれによる胚の質評価
3. 学会等名 TARAセミナー（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 八尾竜馬、鈴木由華、廣地郁哉、山本正道、朝山雄太、野老美紀子、細井美彦、福永憲隆、浅田義正、山縣一夫
2. 発表標題 ATPイメージングによる卵子老化の定量的理解に向けた試み
3. 学会等名 第36回日本受精着床学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 植村碧、藤村雪乃、野老美紀子、八尾竜馬、山縣一夫、細井美彦
2. 発表標題 ライブセルイメージングを用いた卵子発育過程における核内構造変換タイミングの特定
3. 学会等名 第36回日本受精着床学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 池田善貴、小林徹也、八尾竜馬、野老美紀子、増子大輔、細井美彦、山縣一夫
2. 発表標題 ライブセルイメージングを用いたマウス着床前胚発生におけるcompactionおよびcavitationタイミングの定量
3. 学会等名 第36回日本受精着床学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 小栗未生奈、半田哲也、鈴木由華、波多野裕、野老美紀子、八尾竜馬、小林昇平、細井美彦、野崎直仁、原口徳子、木村宏、山縣一夫
2. 発表標題 受精卵におけるDNA損傷の可視化及び定量化の試み
3. 学会等名 近畿大学 海南研究所公開シンポジウム
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 波多野裕、山崎大賀、谷口稜弥、増子大輔、野老美紀子、八尾竜馬、小林憲忠、山縣一夫
2. 発表標題 マウス初期胚発生におけるセントロメア/ペリセントロメアのDNAメチル化機能
3. 学会等名 第41回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 小栗未生奈、半田哲也、鈴木由華、波多野裕、野老美紀子、八尾竜馬、小林昇平、細井美彦、野崎直仁、原口徳子、木村宏、山縣一夫
2. 発表標題 ライブセルイメージングを用いたマウス受精卵におけるDNA損傷の可視化及び定量化
3. 学会等名 第41回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 池田善貴、小林徹也、八尾竜馬、野老美紀子、増子大輔、細井美彦、山縣一夫
2. 発表標題 初期胚発生におけるイベントのタイミングは細胞数・時間のどちらに依存しているのか～三次元画像解析による時間定量～
3. 学会等名 定量生物学の会 第9回年会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 平野 達也、胡桃坂 仁志	4. 発行年 2018年
2. 出版社 羊土社	5. 総ページ数 214
3. 書名 教科書を書き換える！染色体の新常識	

〔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
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------