

平成 21 年 5 月 19 日現在

研究種目：若手研究(スタートアップ)
 研究期間：2007～2008
 課題番号：19880030
 研究課題名(和文) イノシトール3リン酸受容体の制御を介した哺乳動物卵子の体外培養法・活性化法の開発

研究課題名(英文)

研究代表者

伊藤 潤哉 (ITO JUNYA)

麻布大学・獣医学部・准教授

研究者番号：30454143

研究成果の概要：

動物に関係なく受精時に認められる卵内 Ca^{2+} イオンの上昇，その中でも哺乳類の受精時特有な現象である Ca^{2+} 反復上昇の制御に関して，貯蔵された Ca^{2+} を放出させるイノシトール3リン酸受容体(IP_3R1)のリン酸化に焦点を当て，その結果マウス卵においては $Plk1$ が，ブタ卵においては $CDK1$ がそれぞれ IP_3R1 のリン酸化に重要な役割を果たしていることを初めて明らかにした。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,360,000	0	1,360,000
2008年度	1,350,000	405,000	1,755,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,710,000	405,000	3,115,000

研究分野：生殖生物学・発生工学

科研費の分科・細目：応用動物科学

キーワード：卵，受精，イノシトール3リン酸受容体

1. 研究開始当初の背景

不妊治療として円形精子細胞を用いた顕微授精を行う場合や体細胞核移植によるクローン個体の作製には，それらの動物の卵子を体外で培養する必要があり，さらに受精時の現象(卵内 Ca^{2+} イオンの上昇)を模倣した人為的活性化処理を行う必要がある。現在，様々な方法が用いられている。しかし，それらの最適な体外卵子培養法，活性化法を用いた場合でも個体への発生率は通常の受精時に比べて著しく低い。その原因として，受精時に引き起こされる Ca^{2+} 振動のメカニズムが現在のところ詳細には明らかにされておらず，

そのため最も有効な体外卵子培養法，活性化法が確立されていない。

2. 研究の目的

本研究では，哺乳動物，特に体外での胚発生能が低いブタに焦点を当てた。ブタにおける有効な体外卵子培養法・活性化法を確立する目的で，マウス等で Ca^{2+} オシレーションの制御することで知られているイノシトール3リン酸受容体タイプ1(IP_3R1)に関して検討を行った。またマウス・ラット卵の活性化機構の解明についても種々の検討を行った。

3. 研究の方法

本研究では、はじめにマウス卵を用いてイノシトール3リン酸受容体タイプ1(IP₃R1)の制御機構を明らかにする目的で、卵減数分裂進行に関わる諸因子(Plk1, CDK1, およびMAPK)の新規役割を検討した。さらに家畜におけるCa²⁺オシレーション制御機構を明らかにする目的で、ブタ卵を用いてIP₃R1, リン酸化IP₃R1について検討を行った。

4. 研究成果

卵はGVBD以降において、Plk1がIP₃R1を直接リン酸化していること、またMAPKはIP₃R1の局在を制御していることが明らかとなった。本研究により、減数分裂進行に重要なPlk1の受精時における新たな役割を初めて明らかにした。さらにブタ卵においてIP₃R1, リン酸化IP₃R1の発現を初めて明らかにし、卵の減数分裂進行に伴いマウス卵と同様にリン酸化IP₃R1量が増加すること、さらにこのリン酸化にはCDK1が密接に関与していることも初めて明らかにした。これらの知見は、受精メカニズムの解明だけでなく、顕微授精や核移植時の胚発生能の改善にも大きく貢献できると考えられる。

今後さらに、IP₃R1のどの部位のリン酸化がCa²⁺オシレーションに重要であるか、また動物種によって違いがあるのかなどさらに検討していく予定である。

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 5件)

Ito J. et al. Phosphorylation of inositol 1,4,5-triphosphate receptor 1 during in vitro maturation of porcine oocytes. *Animal Science Journal* (in press)

Nakajima N, Inomata T, Ito J. et al. Treatment with proteasome inhibitor MG132 during cloning improves survival and pronuclear number of reconstructed rat embryos. *Cloning and Stem Cells*, 10; 461-468 (2008), 査読有

Ito J. et al. Inositol 1,4,5-triphosphate receptor 1, a widespread Ca²⁺ channel, is a novel substrate of polo-like kinase 1 in eggs. *Developmental Biology*, 320; 402-413 (2008), 査読有

Ito J. et al. Expression and immunodetection of Aquaporin 1 (AQP1) in canine spermatozoa. *Cryobiology*, 57; 312-314 (2008), 査読有

Ito J. et al. Effect of enucleation on inactivation of cytosolic factor activity in matured oocytes. *Cloning and Stem Cells*, 9; 257-266 (2007), 査読有

[学会発表] (計 30件)

Ito J. et al. Stage-dependent changes of IP₃R1 phosphorylation during in vitro maturation and development in pig oocytes. 34th Annual Conference of the International Embryo Transfer Society, 2009年1月5-9日, アメリカ合衆国コロラド州デンバー

[図書] (計 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 件)

○取得状況 (計 件)

[その他]

6. 研究組織

(1) 研究代表者

伊藤 潤哉 (ITO JUNYA)

麻布大学・獣医学部・准教授

研究者番号: 30454143

(2) 研究分担者

(3) 連携研究者