

令和 4 年 6 月 14 日現在

機関番号：17401

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2020～2021

課題番号：20K22638

研究課題名(和文) マウス減数分裂におけるメス特異的な転写制御機構の解明

研究課題名(英文) The female specific transcriptional regulation in murine meiosis

研究代表者

島田 龍輝 (SHIMADA, Ryuki)

熊本大学・発生医学研究所・特定事業研究員

研究者番号：10882798

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,200,000円

研究成果の概要(和文)：減数分裂は常に細胞周期のS期から始まるが、なぜ減数分裂の開始とS期が同調できるのかその分子機構は全く解析が進んでいなかった。申請者達は減数分裂誘導因子であるSTRA8が細胞周期をG1期で停止させるRBと結合することで、細胞周期のG1期からS期への移行と減数分裂の開始を適切なタイミングに活性化させていることを明らかにした。これらの結果から、STRA8-RBの結合が、G1期からS期への移行を促進し、適切な時期に減数分裂を開始させるために重要であり、これらの緻密な制御がメス生殖能の維持を可能にしていることが明らかになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

減数分裂開始の制御と卵細胞の分化は遺伝的に独立した機構で制御されていると考えられてきた。しかし、我々の研究成果はメス生殖細胞においてSTRA8とRBが結合することでpre-meiotic S phaseと減数分裂の開始が適切な時期に起こることが、卵細胞を性成熟期まで維持するために必要であることが明らかとなった。これはこれまでの常識を覆す重要な発見である。さらにこのSTRA8-RBによる制御はメス特異的に機能しており、減数分裂の開始機構に雌雄差があることを明確に示す結果であり、今後の研究の方向性を変え得る重要な成果である。

研究成果の概要(英文)：The meiosis always start from S phase (called pre-meiotic S phase). However, we still don't know the mechanism how meiotic initiation coincide with S phase. We revealed that the key factor of meiotic initiation, STRA8 interact with RB, which is the key suppressor of G1-S transition in canonical cell cycle, to induce pre-meiotic S phase. The regulation of pre-meiotic entry by STRA8-RB is critical for coordinated meiotic entry in female. Our study showed that STRA8-RB functions to ensure long term reproductive ability in mammalian female.

研究分野：生殖細胞発生学

キーワード：生殖細胞 減数分裂 細胞周期 マウス STRA8 Rb pre-meiotic S phase

1. 研究開始当初の背景

減数分裂は、体細胞分裂によって増殖していた生殖細胞が半数体になるための特別な細胞周期である。減数分裂は細胞周期の S 期から始まるとされていたが、減数分裂の開始と S 期を同調させる機構はこれまで知られてこなかった。

申請者たちは以前、減数分裂の開始には、STRA8 と MEIOSIN が転写因子として働き、減数分裂関連遺伝子の転写を活性化することが重要であることを報告している。これらの知見から、STRA8-MEIOSIN による転写活性化が S 期と同調させる機構があることが予想された。

そこで、STRA8 に結合する因子を網羅的に解析したところ、細胞周期の G1 期から S 期への転換を抑制する因子である Retinoblastoma protein である、RB1 や p107 を STRA8 と結合する因子として同定した。このことから、STRA8 と RB の結合の生物学的な意義を明らかにすることで、減数分裂を S 期で開始させる分子機構の解明につながることを期待された。

2. 研究の目的

STRA8 と RB の結合の生物学的な意義を解析することで、哺乳類において減数分裂の開始を S 期で同調させる分子機構を解明する。さらに、STRA8 と RB の結合を阻害して S 期と減数分裂の同調機構を攪乱した細胞で、減数分裂の進行にどのような変化するかを理解し、その重要性を明らかにする。

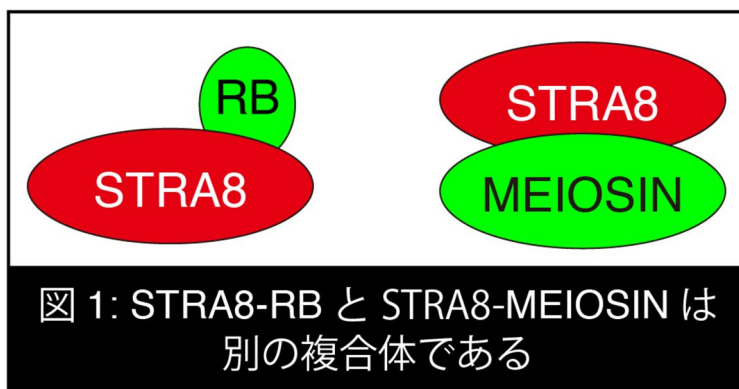
3. 研究の方法

RB と結合する因子には、Viral onco-protein の SV40 LT や HPV E7 などがある。これらのタンパクは LXCXE というアミノ酸配列(LXCXE motif)で RB に結合している。STRA8 も C 末端に LXCXE motif を持つ。そこで、STRA8 の LXCXE motif にアラニン置換変異を導入し、RB と結合できない STRA8 変異体マウスを作成する (Δ RB STRA8 変異体)。このマウスにおいて表現系の解析を行うことで、STRA8 と RB の結合の機能を明らかにする。RB は通常の細胞周期において G1 期で細胞周期をとめる機能を持っていることから、減数分裂に入る直前においても細胞周期に変化が起きていることが予想された。細胞周期の変化や個々の細胞における遺伝子発現変化を捉えるため、single cell RNA-seq(scRNA-seq)を行い、STRA8-RB が生殖細胞で果たす機能を解明する。

4. 研究成果

(1) STRA8 は RB と MEIOSIN とそれぞれ別個の複合体を構成する

STRA8 と RB の結合様式について解析するため、STRA8 を免疫沈降した。その結果 STRA8 は、RB と MEIOSIN それぞれと別の複合体を作っていることがわかった(図 1)。



(2) STRA8-RB はメス特異的な機能を持つ

STRA8 の LXCXE motif をアラニン置換し、RB と結合できなくなった Δ RB STRA8 変異体マウスを用いて、性成熟した 8 週齢における生殖能の解析を行った。この結果、オスは機能的な精子を作り出し、子供を作ることができた。一方で、メスでは卵巣が退縮

し不妊であった。このような結果から STRA8-RB の結合はメス特異的な機能を有していることが明らかとなった。

(3) STRA8-RB の結合はメス生殖細胞における減数分裂の開始に重要である

STRA8 はメス生殖細胞では、胎生期の 14 日目頃に一過的に発現している。すなわち、STRA8 と RB の結合による機能もこの時期に細胞に作用していると予想された。そこで胎生期 14 日目に野生型コントロール、 Δ RB STRA8 の卵巣から STRA8 を発現している細胞を分取し、scRNA-seq を行った。この結果、メス生殖細胞における減数分裂の開始に異常をきたし、最終的に卵細胞が分化異常を呈することが明らかになった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計8件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 3件）

1. 発表者名 島田龍輝、荒木喜美、石黒啓一郎
2. 発表標題 減数分裂への移行を制御するSTRA8の多面的機能
3. 学会等名 先端モデル動物支援プラットフォーム 若手支援技術講習会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Ryuki Shimada and Kei-ichiro Ishiguro
2. 発表標題 The coordination of meiotic gene activation and pre-meiotic S phase entry ensure the reproductive life span in murine female
3. 学会等名 54th Annual Meeting of the Japanese Society of Developmental Biologists
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Ryuki Shimada, Yuzuru Kato, Naoki Takeda, Sayoko Fujimura, Kei-ichiro Yasunaga, Shingo Usuki, Hitoshi Niwa, Kimi Araki, and Kei-ichiro Ishiguro
2. 発表標題 STRA8-Rb interaction coordinates S phase entry and meiotic initiation in female germ cells
3. 学会等名 55th Annual Meeting of the Japanese Society of Developmental Biologists
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Ryuki Shimada
2. 発表標題 RB-STRA8 interaction coordinates the S phase entry and meiotic initiation in mouse female germ cells
3. 学会等名 PDSM2021 (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Ryuki Shimada
2. 発表標題 STRA8 plays multiple roles in gonadal germ cell development and meiotic cell cycle in mouse female
3. 学会等名 International Symposium on the Biology of Vertebrate Sex determinaiton (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 島田龍輝
2. 発表標題 減数分裂誘導因子STRA8と細胞制御因子RBの結合による減数分裂の開始と卵母細胞の維持
3. 学会等名 新学術領域 全能性エピゲノム&非ゲノム複製 合同若手勉強会
4. 発表年 2021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
---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------