

研究報告書

「母性因子依存的初期胚分裂の特異性と個体発生の保証機構の解明」

研究期間：平成20年10月～平成24年3月

研究者：大杉 美穂

1. 研究のねらい

動物が生まれ、育ち、命を次世代へとつなぐ過程において、個体内では二つの様式の細胞分裂、体細胞分裂(mitosis)と減数分裂(meiosis)によって染色体分配による遺伝情報の伝達と細胞の増殖が行われている。多くの動物では、次世代の生命は減数分裂を経てつくられた卵と精子の受精により始まる。従来の研究から、哺乳動物におけるこの生命の始まりの時期、すなわち減数分裂から体細胞分裂への転換期には、そのどちらとも異なる性質を示す“母性因子依存的分裂”と呼ぶべき染色体分配・核形成機構が存在することが示唆された。

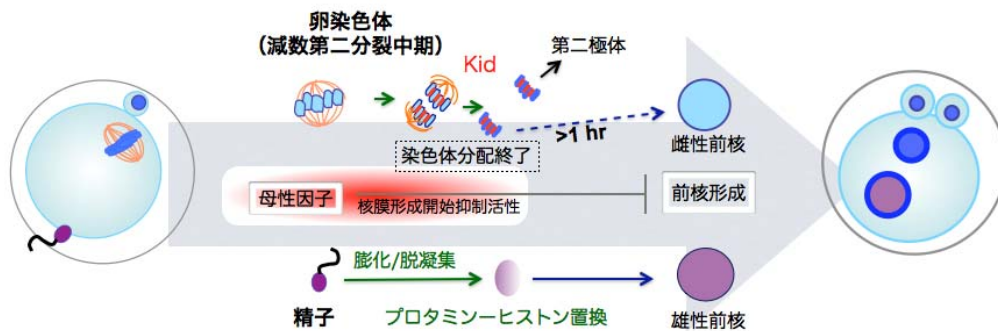
本研究のねらいの1つは、この哺乳動物の母性因子依存的分裂期の特異性の詳細とその分子基盤を紡錘体形成、染色体運動、核形成という各ステップに着目して明らかにし、更にもその特異性が、胚ゲノムからの遺伝子発現に依存した体細胞分裂への転換とその後の正常な個体発身に果たす生物学的意義を明らかにすることである。また、母性因子依存的分裂期は哺乳類以外の動物にも存在するが、脊椎動物の中でも母親の胎内で発生が起こる哺乳動物と受精後の発生が体外で急速に進むカエルなどではその回数も特徴も大きく異なる。しかし、特に哺乳動物に関する知見は乏しく、相違に関する具体的な知見はごく限られた観察結果に基づいたものしかない。本研究の第2のねらいは哺乳動物についての知見を深めることにより、母性因子依存的分裂の種を超えた普遍性と哺乳動物の特異性を明らかにし、その成果を第1のねらいに還元することにある。

2. 研究成果

<母性因子依存的分裂期の核膜形成保証の意義の解明>

本研究では、微小管や染色体などの分裂装置や核膜を可視化したマウス卵、初期胚のライブイメージング観察を中心とした手法により、主に分裂後期／終期の分裂期進行を解析した。母性因子の影響をもっとも強く受ける受精直後の前核形成期に着目した研究から、マウス卵には母性因子として、染色体分配後におこる核膜再形成の開始タイミングを遅延させる活性が存在し、これが母性因子依存的分裂期の特性のひとつであることを明らかにした。さらに、母性因子として核膜形成遅延活性をもつ生理的意義は、受精後の精子核に起こる大規模な変化(染色体の膨化、プロタミン放出、ヒストン取り込み等)が終了するまで核膜形成が開始しないことを保証する点にあることを示す知見を得た。

核膜形成遅延活性は精子核からの雄性前核形成には重要なものであるが、卵染色体からの雌性前核形成過程においては、不都合なものであると考えられる。実際、卵の染色体は減数第二分裂後期における分配運動終了後約1時間ものあいだ、核膜に覆われることなく細胞質に存在しつづけていた。マウス初期胚における核形成に関して、私たちは以前にKid/kinesin-10による分裂後期染色体の一塊化(分裂後期染色体コンパクション)活性が重要であることを見出ししていた。すなわち、Kid欠損マウスの初期胚は、受精後数回の分裂後の核



形成時にのみ、染色体のまとまりが悪く多核を生じるが、雌性前核は特に多核化度合いが高く、ひとつにまとまるべき雌性前核が5個以上に分割される例が頻発する。このことは、Kid による染色体コンパクション活性の重要性が雌性前核期形成には特に高いことを意味する。その理由は不明なままであったが、本研究により、雌性前核形成前の分裂後期／終期は他の分裂期に比較して格別に長いため、分配後の染色体が散逸しないようにする Kid の活性がより重要であることが明らかになった。実際、雌性前核形成時の核膜形成開始タイミングを早めた場合、Kid 欠損時に雌性前核が多核になる頻度や多核度合いは顕著に低下した。

<考察>

前核形成時の核膜形成開始が非常に遅いという現象は、カエルなど体外で胚発生する生物では報告されておらず、哺乳動物特有のものであると考えられる。逆に、両生類や魚類の卵割分裂時には核膜形成開始は体細胞分裂時に比べ早いことが知られている。このことは、分裂後の核がどのような性質をもつか、ということと密接に関連していると考えられる。両生類や魚類の卵割分裂は、間期が存在しない非常に早い細胞周期中にある。早期の核膜形成開始は早期のDNA複製開始のためと考えられており、つくられた核では転写は起こらず、DNA複製のみが起こっている。一方、哺乳動物、特にマウスの場合、前核期から転写が起こることが知られており、前核はDNA複製のみならず転写／翻訳が可能な状況でなくてはならない。更に受精は細胞周期上異なる相にある2つの細胞(減数分裂中期の卵と減数分裂完了後の精子)が融合する事で始まる。そのような特殊な細胞内状況下で異なるプロセスを経る必要のある雌雄の染色体が機能的な前核を形成するために、マウス卵は母性因子として分裂期を特殊制御する機構をもっているのではないだろうか。

3. 今後の展開

前核形成時期特異的な核膜形成タイミングの遅延がどのような分子機構によって成されているのか、母性因子としての核膜形成遅延活性の本体の解明に取り組む。また、細胞種、動物種によって分裂期にどのような多様性があり、その多様性はどのような分子機構によってなされているのかなど、本研究の最終目的であった、「染色体分配システムの共通基盤」の解明に向けた取り組みを続ける。

4. 自己評価

本研究により、受精後最初の核形成である前核形成期に特徴的な現象および、その生理的意義が明らかにできた点、また、これがマウスでは見られるがカエル等では見られないことの意義も考察できる現象であったことから、当初の目標の6割は達成できたと考えている。しかし、染色体運動、紡錘体形成に着目した研究については、公開できるまでの成果を出すには至らず、核形成に関して見出した上述の現象の分子メカニズム解明とともに今後の課題として残された。また、研究当初は母性因子依存的分裂期として受精後におこる卵減数第二分裂後期から第2卵割期のあたりまで共通に見出される特徴、現象が存在することを仮定していたが、今のところ前核形成とそれ以降の卵割分裂期における核形成には共通の特徴は見出せていない。しかし、このことは同じ大きさの細胞(卵と一細胞期胚)の中で、核内ゲノムからの転写が限定的にしか起きていない状況下にあるにも関わらず、大きく異なる特徴を示す分裂期が進行することを意味しており、このことを可能にする分子基盤の解明も今後の課題としたい。

5. 研究総括の見解

分裂終期の核膜再形成のタイミングに着目して、卵には母性因子として核膜形成タイミングを遅延させる因子が個々の卵に異なる活性量で存在し、これが Kid 欠損時に高頻度に多核化するという母性因子依存的分裂期の特性の基盤のひとつであることを示す大きな成果を見出した。このように、独自の着眼点から、哺乳動物の母性因子依存的分裂期の特異性を、生物学的に、丁寧の一つ一つ明らかにしていくことを期待します。

6. 主な研究成果リスト

(1)論文(原著論文)発表

投稿準備中

(2)特許出願

なし

(3)その他の成果(主要な学会発表、受賞、著作物等)

<学会発表(招待講演)>

*“受精直後のマウス卵における染色体動態と核膜形成の特殊性” 第84回日本生化学会大会 (2011.9)

*“Regulation of multifunctional mitotic motor Kid/Kinesin-10” 第63回日本細胞生物学会大会 (2011.6)

*“核膜再形成タイミングの可視化でわかったマウス初期胚の特性” 平成23年度生化学会関東支部例会 企画講演 (2011.6)

*“マウス卵における減数第二分裂後期の染色体分配と前核形成の特性” 第32回に本分子生物学会年会 (2009.12)

*“Female pronuclear formation in mouse oocytes requires Kid-mediated telophase chromosome clustering” International Symposium on Chromosome Cycle and Genome Dynamics (2009.10)

* “マウス初期胚における染色体分配と核形成の特性” 第82回日本生化学会大会
(2009.10)

* “哺乳動物初期胚分裂期の特性” 第21回高遠シンポジウム(2009.8)

* “マウス初期胚における染色体分配と核形成の特性” 第82回日本生化学会大会
(2009.10)

<受賞>

* 平成20年度文部科学大臣表彰若手科学者賞「哺乳動物初期胚分裂期における染色体動態制御の研究」(2010.4)