

保地眞一

目的別テーマ：バイオテクノロジーを活用した新規繊維生物の作出

17年度研究テーマ

17-2-21：微小管繊維の伸張に関わる精子中心体と卵子細胞周期制御因子の役割

ABSTRACT

Using an interspecies microinsemination assay with bovine oocytes, it was examined whether centrosomes of Antarctic minke whale spermatozoa function as the microtubule-organizing center (MTOC). Bull and rat spermatozoa were referred as positive and negative controls, respectively. Vitrified-warmed bovine mature oocytes were subjected to immunostaining against α -tubulin 4-6 h after intracytoplasmic injection (ICSI) of 5 mM dithiothreitol-treated spermatozoa. Aster formation occurred from whale spermatozoa (33%) and bull spermatozoa (33%), but very little from rat spermatozoa (3%). Activation treatment for the microinseminated oocytes with 7% ethanol + 2 mM 6-dimethylaminopurine resulted in the similar proportion of oocytes forming whale sperm aster (35 vs. 27% in non-treated group; 4 h after ICSI) but significantly larger aster (aster diameter ratio to oocyte diameter, 0.57 vs. 0.30 in non-treated group). These results indicate that centrosome brought into bovine oocytes by whale spermatozoa contributes to the MTOC and assembly of the microtubule network is promoted by oocyte activation. In an additional experiment, the ability of centrosomes in minke whale haploid spermiogenic cells (round spermatids, early elongating spermatids, late elongating spermatids, and testicular spermatozoa) to function as MTOC was evaluated by the interspecies microinsemination assay. No aster formation was observed in the bovine oocytes microinseminated with round spermatids (0%). However, some of oocytes microinseminated with early- or late-elongating spermatids as well as testicular spermatozoa exhibited aster formation. These results indicate that centrosomes in whale spermiogenic cells at the elongating stages have a fully competent ability to function as the MTOC.

研究目的

受精直後の卵子には中心体を起点とした星状体ができ、ここから発達した微小管繊維網が雌雄両前核を卵子の中央に移動させる役割を担い、胚発生のための第一細胞周期へと誘導する。この起点を微小管形成中心 (MTOC) と呼んでおり、多くの哺乳類で精子由来の中心体はその機能を提供するという。海棲哺乳類の受精生理に関わる情報は極めて少ないので、本年度はとくに南極海棲クロミンククジラの精子ならびに精子形成途上の半数体精子細胞を用い、それらが持つ MTOC 活性について調べた。

一年間の研究内容と成果

MTOC が精子の中心体由来する場合、ウシ成熟卵子へ顕微授精することで精子星状体が観察される。異種顕微授精から4時間後に α -チューブリンの免疫染色とDAPIによる核染色を施したところ、クジラ精子の頸部から星状体ができ、微小管繊維網を卵細胞質全体に広げることがわかった。顕微授精卵子にエタノール / 6-DMAP の併用処理により活性化誘起しても MTOC 形成卵率は変わらなかったが、微小管繊維網の成長は速くなった。さらに各種クジラ半数体精子細胞を顕微授精してそれらの中心体が MTOC として機能できるようになる時期を調べたところ、初期伸張精子細胞以降で星状体形成例が得られてきた。

展望

クジラの精子形成過程において、伸張精子細胞以降の半数体生殖細胞は MTOC として機能しうる中心体を持っていることがわかった。海洋哺乳類の資源保存を目的とした胚盤胞の生産にこれらの知見が活用されると期待したい。