

研究 成 果 報 告 書

(国立情報学研究所の民間助成研究成果概要データベース・登録原稿)

研究テーマ (和文) AB		鳥類の受精成立に必要な精子因子の網羅的解析			
研究テーマ (欧文) AZ		Comprehensive analysis of sperm factors related to fertilization in birds			
研究氏 代 表 名 者	カナ CC	姓) ミズシマ	名) シュウセイ	研究期間 B	2011 ~ 2012 年
	漢字 CB	水島	秀成	報告年度 YR	2013 年
	ローマ字 CZ	Mizushima	Shusei	研究機関名	静岡大学
研究代表者 CD 所属機関・職名		水島秀成 静岡大学大学院農学研究科・日本学術振興会特別研究員 (PD)			
<p>概要 EA (600 字~800 字程度にまとめてください。)</p> <p>動物卵は、精子侵入後、細胞質内の Ca^{2+} 濃度が上昇することで、卵子活性化と胚発生を開始する。卵細胞質内 Ca^{2+} を上昇させる精子由来卵子活性化因子 (sperm-borne oocyte-activating factor: SOAF) として、哺乳類では phospholipase Cζ (PLCZ) が、イモリでは citrate synthase がそれぞれ単離されている。一方、ウズラ卵では、精子抽出物 (sperm extracts: SE) の投与によって、一過性の Ca^{2+} 上昇とその後の Ca^{2+} オシレーションが誘起されることが分かった。さらに顕微授精法を駆使し、一過性の Ca^{2+} 上昇反応とスパイラルオシレーションの惹起を人為的に組み合わせることで、顕微授精ウズラ胚の孵化に世界で始めて成功している。この卵細胞質内 Ca^{2+} 濃度上昇を誘起する SOAF の一つとして PLCZ が同定されたが、これは一過性の Ca^{2+} 上昇にのみ関与することが分かった。本研究は、Ca^{2+} オシレーションを誘起する新規 SOAF を同定することを目的として遂行したものである。Superdex 200 pg を用いたカラムクロマトグラフィーにより分離した SE の画分を排卵直後のウズラ卵に投与し、卵細胞質内 Ca^{2+} 濃度上昇を観察するとともに、Ca^{2+} オシレーションを誘起した画分から、SDS-PAGE および LC-MS/MS 解析によって候補タンパク質の同定を試みた。また同定されたタンパク質もしくはその cRNA をウズラ卵に投与し、ウズラの新規 SOAF を同定した。カラムクロマトグラフィーにより分離した画分のうち、分子量 30-90 kDa を含んだ画分にのみ卵子活性化を誘起する成分が含まれていることが分かった。さらに LC-MS/MS 解析から 7 個の候補遺伝子が同定され、その中でも 2 つの遺伝子が Ca^{2+} オシレーションの誘起に関与することが分かった。</p>					
キーワード FA	卵子活性化	精子由来卵子活性化因子	スパイラルオシレーション	phospholipase C ζ	

(以下は記入しないでください。)

助成財団コード TA					研究課題番号 AA								
研究機関番号 AC					シート番号								

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。）									
雑誌	論文標題 ^{GB}	Culture system for bobwhite quail embryos from blastoderm stage to hatching							
	著者名 ^{GA}	Kato, A. et al.	雑誌名 ^{GC}	The Journal of Poultry Science					
	ページ ^{GF}	155 ~ 158	発行年 ^{GE}	2	0	1	3	巻号 ^{GD}	50 (2)
雑誌	論文標題 ^{GB}	Establishment of intracytoplasmic sperm injection technique in Japanese quail and its possible application for poultry resources and transgenic birds							
	著者名 ^{GA}	Mizushima, S.	雑誌名 ^{GC}	The Journal of Poultry Science					
	ページ ^{GF}	225 ~ 230	発行年 ^{GE}	2	0	1	2	巻号 ^{GD}	49 (4)
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	~	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
図書	著者名 ^{HA}								
	書名 ^{HC}								
	出版者 ^{HB}		発行年 ^{HD}					総ページ ^{HE}	
図書	著者名 ^{HA}								
	書名 ^{HC}								
	出版者 ^{HB}		発行年 ^{HD}					総ページ ^{HE}	

欧文概要^{EZ}

Increase in intracellular Ca^{2+} in vertebrate eggs plays pivotal roles in the meiotic resumption, which is known as egg activation leading to embryo development. Recent work has identified phospholipase Czeta (PLCZ) as a novel sperm-borne oocyte-activating factor (SOAF) in mammals that stimulates a series of intracellular Ca^{2+} oscillations in their eggs. We also found that microinjection of PLCZ cRNA into quail egg induced a single Ca^{2+} rise and egg activation when cRNA was translated to protein. These results indicate that PLCZ is a functional SOAF for meiotic resumption in quail. However, all of the quail embryos that generated by intracytoplasmic sperm injection (ICSI) with PLCZ cRNA died before embryo stage 6. On the other hand, microinjection of sperm extract (SE) into quail egg induced a single Ca^{2+} rise and subsequent multiple spiral-like Ca^{2+} oscillations. More importantly, microinjection of SE into an ICSI-quail egg induced development of the eggs beyond embryo stage 6. It should be noted that one of the SE-generated ICSI-quail embryo reached to hatching. These results suggest that SE contains a novel SOAF that evokes spiral-like Ca^{2+} oscillations, which enhances quail embryo development. To identify the active components that evoke spiral-like Ca^{2+} oscillations, SE fractions were separated by a Superdex 200 column, and we found that microinjection of the fractions No. 21– 30. only induced the oscillations in the quail cytoplasm. Further analysis of SDS-PAGE and LC-MS/MS identified 7 candidate proteins. Eventually the 2 proteins out of them were identified as a novel SOAF for triggering spiral-like Ca^{2+} oscillations in quail.