

研究

受精時における亜鉛シグナルの役割 ～Ca²⁺ オシレーション vs Zn²⁺ スパーク～

麻布大学獣医学部准教授 伊藤潤哉

要約

ほとんどの哺乳動物において『受精』は、排卵された卵と精子とが出会う最初のステップであり、生命誕生の最も初期に起こるイベントとして考えられている。現在では多くの哺乳動物で、この『受精』現象を体外で起こす『体外受精』が技術として開発され、実験動物においては遺伝子改変動物等の効率の保存・復元技術、家畜においては有用動物の効率的生産に応用されている。一方、ヒトにおいても体外受精技術は高度生殖補助医療技術 (Assisted Reproductive Technology, ART) の一つとして、生殖医療 (不妊治療) の臨床現場で用いられている。哺乳動物において精子が卵と出会い、どのようなメカニズムを経て受精が完了し、初期胚発生さらには個体発生していくのかについて多くの研究が行われてきた。多くの動物の受精時において、卵内カルシウム (Ca²⁺) イオンの上昇が認められることから、受精はこのカルシウムシグナルを中心に論じられてきた。しかしこの2005年、マウスおよびヒトの受精時において亜鉛 (Zn²⁺) イオンの卵外への一過性放出、いわゆる『亜鉛スパーク』が報告され、カルシウムシグナルのみならず亜鉛シグナルも重要な役割を持つことが示されつつある。

本総説では、哺乳動物受精メカニズムに焦点を当て、これまで考えられてきた受精時のカルシウムシグナルを概説するとともに、著者らのグループで主に遺伝子改変マウスを用いることで明らかになりつつある、受精時の亜鉛シグナルの役割について議論したい。

KEY WORDS 受精, カルシウム, 亜鉛

1. 現在考えられている受精メカニズム

ほとんどの哺乳動物では、卵巣から排卵された卵は卵管へと移行し、第二減数分裂中期 (Metaphase-II, MII) で減数分裂を停止している¹⁾。精子と卵の融合に伴い、精子は表層顆粒の放出、細胞分裂抑制因子 (Cytostatic factor, CSF) の不活性化、第二極体放出、さらには前核形成といった一連の「卵活性化」のイベントを引き起こす¹⁻³⁾。この卵活性化が起こることで、精

子および卵は受精卵 (胚) となり、初期胚発生へと続く。

現在までに報告されたすべての種において、卵活性化には細胞内カルシウムイオン濃度の上昇を必要とすることが知られている⁴⁾。哺乳動物の受精時においては、特にカルシウムイオンの反復的な上昇が起こり、この現象は「カルシウムオシレーション」として知られている⁵⁾。現在では、精子由来の因子である phospholipase C zeta (PLCζ) が、phosphatidylinositol (4,5)-bisphosphate (PIP₂) を diacyl glycerol (DG) と inositol 1, 4,

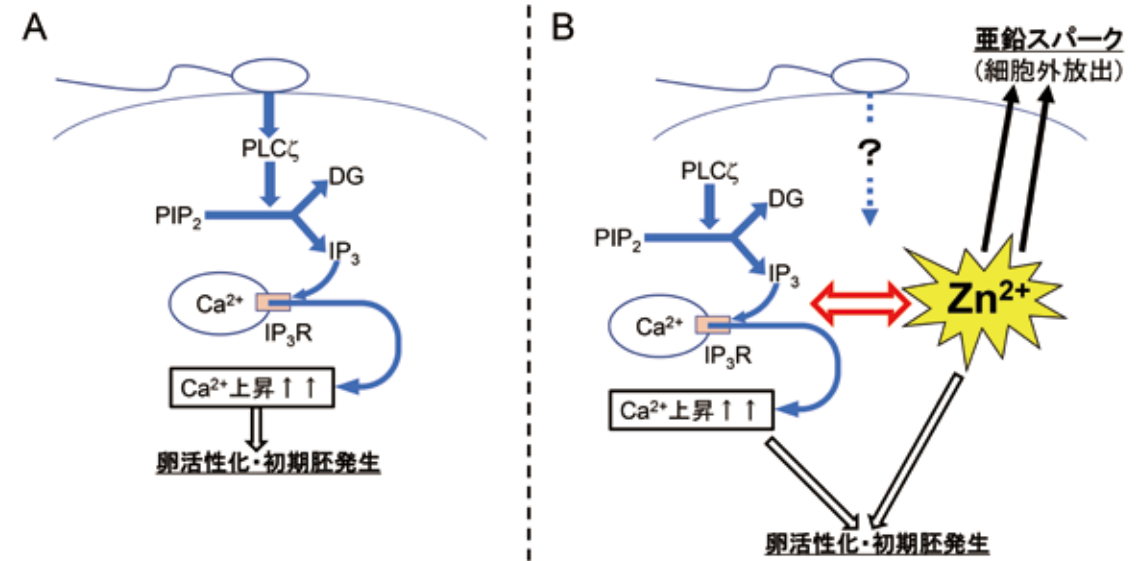


図1 哺乳類における卵活性化機構 (仮説)

A) カルシウムイオン依存的機構

B) カルシウムイオンおよび亜鉛イオン依存的機構

5-trisphosphate (IP₃) に加水分解し^{6,7)}、IP₃が小胞体上に存在する IP₃ 受容体 (IP₃ receptor, IP₃R) に結合し、小胞体内に蓄えられたカルシウムイオンを卵細胞質内に放出することで、受精時の卵細胞内カルシウムイオンの上昇に関与していると考えられている (図1 A)。

これまでに多くの哺乳動物において、卵細胞質内精子注入 (Intracytoplasmic sperm injection, ICSI) や体細胞核移植 (Somatic cell nuclear transfer, SCNT) といった生殖工学技術が開発されてきた。特に ICSI は、実験動物や家畜のみならず現在ヒト ART の一つとして重要な技術となっている。また SCNT は、「卵子若返り法」などに応用され、今後ますます重要な技術になると考えられる。SCNT あるいは円形精子細胞注入 (Round spermatid sperm injection, ROSI) は、前者は精子を用いないこと、後者は円形精子細胞に卵活性化能がないことから、それらの卵の発生には「人為的活性化処置」が必要となる⁸⁻¹⁰⁾。しかし、現在用いられている活性化処置 (電気パルス、カルシウムイオンフォア等) の多くは、一過

性のカルシウムイオン上昇を引き起こすのみで、受精時に起こるカルシウムオシレーションとは異なる。多くの無脊椎動物と哺乳類以外の脊椎動物では、卵活性化は一過性のカルシウムイオンによって引き起こされるが¹¹⁾、哺乳動物においてはカルシウムオシレーションとして知られている反復的なカルシウムイオンの上昇が起こり^{5,12-15)}、表層顆粒の放出、第二減数分裂の完了といった卵活性化のイベントを引き起こすことから、これら受精時と異なるカルシウムイオンの動態が、SCNT および ROSI 等を用いた際の産仔作出効率の低さの一因となっている可能性があり、その解決には受精機構を分子レベルで明らかにする必要があると考えられている。

2. 受精時における卵内カルシウムイオン上昇に関する3つの仮説

受精時にカルシウムイオンの上昇が起こることは古くより知られていたものの、精子がどのように卵内のカルシウムイオン上昇を引き起こすのか

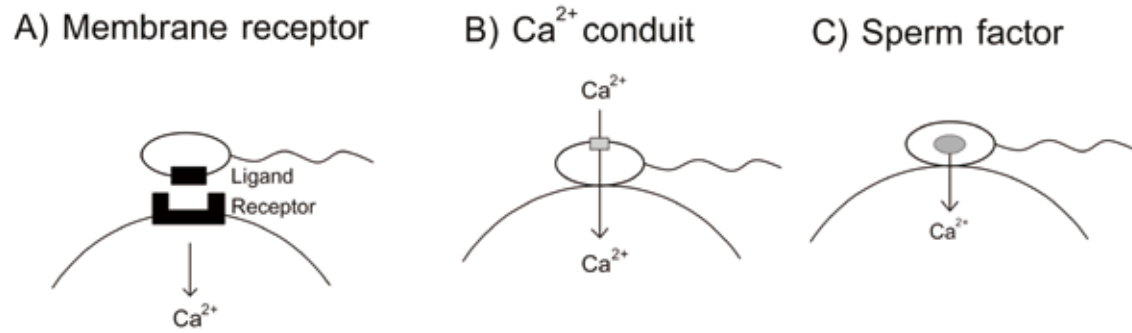


図2 哺乳類の受精時における卵内カルシウムイオンの上昇機構

- A) 受容体説 (Membrane receptor theory)
 B) 精子仲介説 (Ca²⁺ conduit theory)
 C) 精子内因子説 (Sperm factor theory)

については、いくつかの仮説が考えられてきた。脊椎動物の受精時においてカルシウムイオンの上昇は、IP₃を仲介することにより起こっていることは示されていたが¹⁶⁻¹⁷⁾、精子と卵がカルシウムイオン上昇の機構にどのように関わっているかについては不明であった。受精時のカルシウムイオン上昇に精子がどのように関与しているかについては主に3つの仮説が考えられてきた^{3, 11, 18-20)}。

1つ目の仮説は「受容体説 (Membrane receptor theory)」と呼ばれるもので、精子上に存在するリガンドが卵細胞膜上に存在する受容体 (レセプター) に結合し、卵内の PLC を介してカルシウムイオンの上昇を引き起こすという説である¹⁴⁾ (図2 A)。次の仮説は「精子仲介説 (Ca²⁺ conduit theory)」であり、精子膜が卵細胞膜と融合することで細胞外に存在するカルシウムイオンが精子を介して卵細胞質内に流入し、卵細胞質内のカルシウムイオンが上昇するという説である (図2 B)。ただしこれら2つの仮説は、いずれも精子と卵の膜融合を必要としており、一方 ICSI においても卵内カルシウムイオンの上昇が確認されていることから、現在では否定されつつある。それら2つに代わり、現在考えられている3番目の仮説は「精子内因子説 (Sperm factor theory)」である。精子内因子説とは、精子内に存在する因子 (Sperm factor, SF) が卵細胞質内に放出され、

カルシウムイオン上昇を引き起こすというものであり (図2 C)、実際に精子抽出物と卵に注入することで受精時と同様なカルシウムオシレーションが引き起こされることから、現在では精子内因子説が広く支持されている。

3. 哺乳類における SF とは何か？ ～ PLC ζ の発見～

精子抽出物中に SF が存在することから、それまでの PLC と比較して高いカルシウム感度をもつ精子特異的な PLC が存在すると考えられた²¹⁻²⁴⁾。いくつかの分子が、SF の候補者として報告されたが、そのほとんどはその後の研究により否定されつつある²⁵⁻²⁹⁾。2002年に Saunders らはマウス精巣に発現する精子特有の PLC が存在することを明らかにし、PLC ζ (遺伝子名 *Plcz1*) と名付けた⁷⁾。PLC ζ はそれまで報告されていた PLC よりも短いアミノ酸配列をもち、PH ドメインが存在しない⁷⁾。その後多くの哺乳類 (ラット³⁰⁾、ブタ³¹⁾、サル³²⁾、ヒト³²⁾、ウシ³³⁾ および哺乳類以外の動物種 (ニワトリ³⁴⁾、ウズラ³⁵⁾、メダカ³⁰⁾、フグ³⁶⁾) においても PLC ζ の存在が報告された。これらの種では、マウス成熟卵に PLC ζ cRNA あるいはタンパク質を注入することでカルシウムオシレーションを引き起こすことが報告

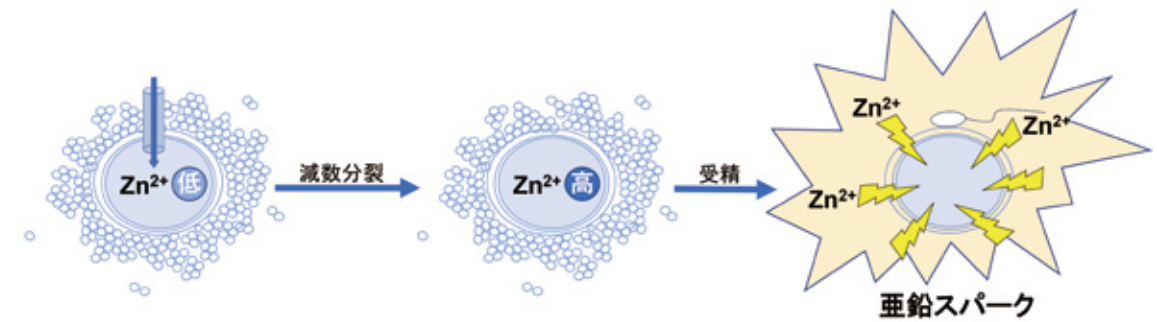


図3 哺乳類受精時における亜鉛スパーク

されている。PLC ζ の局在についてはマウスにおいては精子の先体および先体後部に存在する³⁷⁾。我々のブタ精子を用いた研究においては、PLC ζ は先体および先体後部だけでなく、尾部にも存在していることを報告しており³⁸⁾、動物種により PLC ζ の精子内での局在が異なる可能性が考えられる。また、ブタにおいても *Plcz* cRNA をブタ卵に注入するとカルシウムオシレーションを引き起こす³¹⁾。これらの結果は、哺乳類に共通して精子内に PLC ζ が発現しており、カルシウムオシレーションの誘起や卵活性化に働くことを示唆している。

4. 受精機構に関する亜鉛シグナルの役割～亜鉛スパークの発見～

これまで述べてきたように哺乳動物における受精メカニズムはカルシウムイオンを中心に考えられてきた。

しかし2010年 Perry らは亜鉛イオンのキレート剤を用い、マウス卵の亜鉛イオンを除去することで、カルシウム上昇が起こらなくても受精が起こり個体まで発生しうることを報告した³⁹⁾。即ち、卵内の亜鉛イオンを除去することでこれまで必須と考えられてきたカルシウムイオンの上昇を介さない受精メカニズムの存在を示したのである。し

かしこの「亜鉛イオンの除去」は、通常の受精時におこる生理現象なのかは不明のままであった。その後マウスの受精時に亜鉛イオンの卵外への一過性の放出が起こることを発見し、「亜鉛スパーク」と名付けた (図3)^{40, 41)}。さらに同様の現象がヒトやウシの受精時や卵活性化時にも起こること^{42, 43)}が報告され、この亜鉛スパークが哺乳類に共通な生物現象だと考えられるようになった。

この亜鉛スパークは受精時にどのような役割をもっているのだろうか？ Woodruff らのグループは、亜鉛イオンが卵の減数分裂を制御する因子と密接に関係することを報告し^{44, 45)}、特に MII 期では CSF を構成するタンパク質の一つである Emi2 に結合・活性化し、哺乳動物卵を MII 期で停止させており、亜鉛スパークによって Emi2 が不活性化されることにより卵活性化がおこる、というメカニズムを提唱している⁴⁶⁾。一方で Emi2 の不活性化はカルシウムイオン依存的に起こること⁴⁷⁾、カルシウムイオンをキレートすると亜鉛スパークは生じないこと⁴²⁾から、亜鉛スパークの意義はまだ明らかにされていないと考えられる。亜鉛スパークが起こるためには卵細胞質内に亜鉛イオンが蓄積されなければならない。これまでの報告で、マウス卵巣内に存在するステージである未成熟卵 (Germinal Vesicle, GV) では亜鉛スパークを誘起できなかったことが示されており、亜鉛イオン

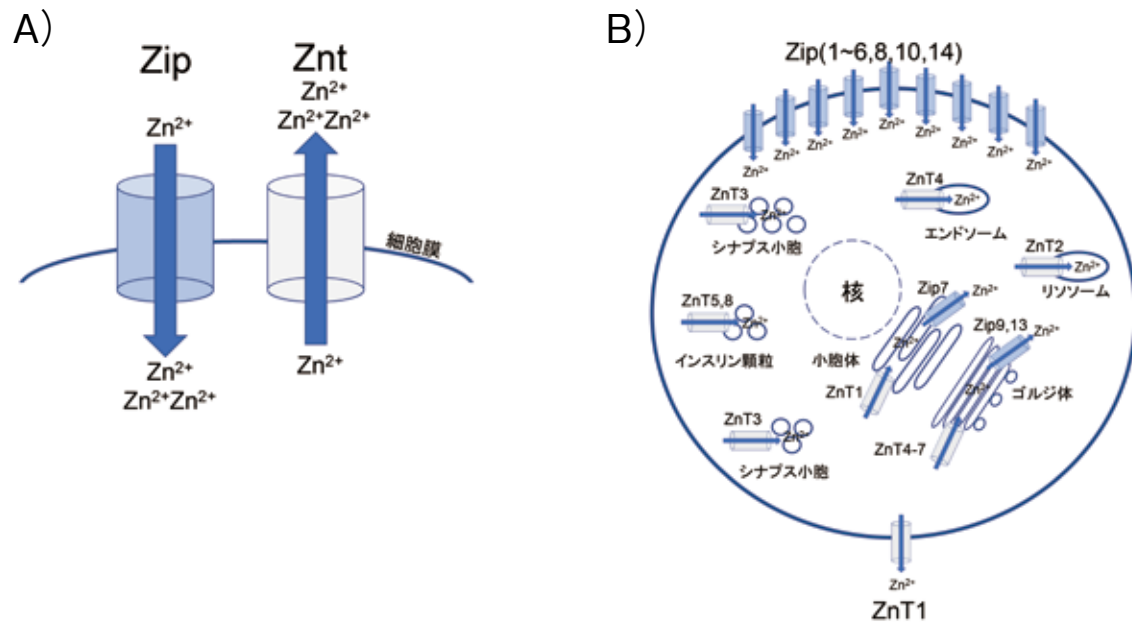


図4 哺乳類における亜鉛トランスポーターの種類と (A) および局在 (B)

は卵の減数分裂中に蓄えられると考えられている⁴⁸⁾。また亜鉛スパーク時に亜鉛イオンを多量に放出した卵は、胚盤胞への発生率や胚盤胞での細胞数が多いことから、亜鉛スパークにおける亜鉛の放出量は卵のクオリティを調べる指標の1つになる可能性が示唆されている⁴⁹⁾。

5. 哺乳動物卵における亜鉛トランスポーターの発現と機能

卵の減数分裂中での取り込みには亜鉛トランスポーター (ZIP) が関与していると考えられる (図4 A)。これまでの研究で ZIP のうち、マウス卵では ZIP6 および ZIP10 が発現していることが知られている⁵⁰⁾ (図4 B)。我々のグループでも RT-PCR および免疫蛍光染色の結果から、少なくとも mRNA およびタンパク質レベルで ZIP10 の発現を確認している (影山ら, 未発表データ)。これらのことから、マウス卵での ZIP6 および Zip10 の機能を明らかにすることで、亜鉛スパークを含めた亜鉛シグナルのメカニズムが明らかに

なるのではないかと考えた。

マウスにおいては、目的の遺伝子を欠損させたマウス (Knockout マウス, KO マウス) を作製、解析することにより、目的の遺伝子の機能を明らかにすることが可能となる。ZIP 遺伝子の全身 KO マウスのいくつかは胚性致死になることが知られている。そこで Cre/loxP システムを用いて卵特異的 Zip10 遺伝子欠損マウス ($Zp3^{Cre/+} Zip^{10lox/flox}$: $Zip^{10d/d}$) を作製した。 $Zip^{10d/d}$ 雌マウスを雄マウスと交配させ、妊孕性の確認を行った。対照区マウスは $Zip^{10f/f}$ ($Zp^{3+/+} Zip^{10lox/flox}$) とした。その結果、平均産子数は $Zip^{10d/d}$ マウスで 3.0 ± 0.9 匹 ($Zip^{10f/f}$: 7.2 ± 1.8 匹) であり、妊孕性の著しい低下が認められた (影山ら, 未発表データ)。即ちマウス卵における Zip10 が受精あるいは胚発生に関わっている可能性が示唆された。そこで、その理由を明らかにするため、過剰排卵により $Zip^{10d/d}$ から排卵卵子を採取し体外受精をすることで、受精率を確認した。その結果、 $Zip^{10d/d}$ マウスの受精率は約 35% であり、 $Zip^{10f/f}$ マウスの 85% と比べて著しく低下していた (影山ら, 未発表データ)。

残念ながら $Zip^{10d/d}$ における亜鉛スパークの有無は現在のところ測定できていない。しかし、KO マウスを用いることで哺乳動物卵における ZIP の重要性を初めて示した。

おわりに

多くの哺乳動物において ICSI, ROSI および SCNT といった生殖工学技術が確立されており、特に ICSI や ROSI は ART としても用いられている。ROSI などの技術を用いる際、円形精子細胞は低い卵活性化能を有することから、人為的活性化処置が必要となる。現在、カルシウムイオンフォア処理^{51,52)}、 IP_3 の注入⁵³⁾、電気パルス処理⁵⁴⁾、エタノール⁵⁵⁾ などの方法が、人為的活性化処理法として報告されている (図4)。しかし、これらの処理法は一過性のカルシウムイオン上昇が誘起されるのみである。マウスおよびラットにおける MII 卵の活性化においては、 $SrCl_2$ を用いた活性化法が有効であり、 $SrCl_2$ で処理した卵では反復的なカルシウムイオンの上昇が認められる^{8~10,56)}。

しかし少なくともマウス胚の発生においては、オシレーション回数の減少は胚盤胞における異常

な遺伝子発現を引き起こすこと、またそれらの胚を移植した場合、出生後の成長に異常が起こることが報告されている⁵⁷⁾。哺乳類の受精において、一過性のカルシウムイオン上昇ではなく、カルシウムオシレーションが必要不可欠か否かについては、いまだ十分には明らかになっていない。これに加えて受精時における亜鉛スパークが報告され、受精時における亜鉛シグナルの重要性も明らかとなってきた (図1 B)。

これらのことからカルシウムオシレーションおよび亜鉛スパークの両方の受精メカニズムを明らかにすることで、生物学的意義のみならず、生殖医療技術への応用などが期待できると考えられる。

謝辞

本論文における研究の一部は、文部科学省科学研究費補助金 (15H04584) によって行われた。また、本論文の作成および研究の遂行に関しては、麻布大学獣医学部柏崎直巳教授、影山敦子博士、並木貴文氏にご協力いただいた。この場を借りて感謝する。

◆伊藤潤哉略歴



1999年	広島大学生物生産学部卒業
2001年	広島大学大学院生物研科学研究科博士課程前期修了
2004年	広島大学大学院生物研科学研究科博士課程後期修了 (博士 (農学) 取得) 日本学術振興会特別研究員 (DC2)
2007年	University of Massachusetts, Research Scholar 日本学術振興会特別研究員 (PD)
2009年	麻布大学獣医学部 准教授
2015年	Cincinnati Children's Hospital Medical Center, Visiting Researcher

◆文 献

- 1) Ducibella T, Fissore R : The roles of Ca^{2+} , downstream protein kinases, and oscillatory signaling in regulating fertilization and the activation of development. *Dev Biol* 315 : 257-279, 2008
- 2) Schultz RM, Kopf GS : Molecular basis of mammalian egg activation. *Curr Top Dev Biol* 30 : 21-62, 1995
- 3) Ito J, Parrington J, Fissore RA : PLCzeta and its role as a trigger of development in vertebrates. *Mol Reprod Dev* 78 : 846-853, 2011
- 4) Stricker SA : Comparative biology of calcium signaling during fertilization and egg activation in animals. *Dev Biol* 211 : 157-176, 1999
- 5) Miyazaki S, Shirakawa H, Nakada K, et al : Essential role of the inositol 1,4,5-trisphosphate receptor/ Ca^{2+} release channel in Ca^{2+} waves and Ca^{2+} oscillations at fertilization of mammalian eggs. *Dev Biol* 158 : 62-78, 1993
- 6) Rebecchi MJ, Pentylala SN : Structure, function, and control of phosphoinositide-specific phospholipase C. *Physiol Rev* 80 : 1291-1335, 2000
- 7) Saunders CM, Larman MG, Parrington J, et al : PLC zeta : a sperm-specific trigger of Ca^{2+} oscillations in eggs and embryo development. *Development* 129 : 3533-3544, 2002
- 8) Kishigami S, Wakayama T : Efficient strontium-induced activation of mouse oocytes in standard culture media by chelating calcium. *J Reprod Dev* 53 : 1207-1215, 2007
- 9) Ogura A, Suzuki O, Tanemura K, et al : Development of normal mice from metaphase I oocytes fertilized with primary spermatocytes. *Proc Natl Acad Sci USA* 95 : 5611-5615, 1998
- 10) Wakayama T, Perry AC, Zuccotti M, et al : Full-term development of mice from enucleated oocytes injected with cumulus cell nuclei. *Nature* 394 : 369-374, 1998
- 11) Whitaker M : Calcium at fertilization and in early development. *Physiol Rev* 86 : 25-88, 2006
- 12) Kline D : Attributes and dynamics of the endoplasmic reticulum in mammalian eggs. *Curr Top Dev Biol* 50 : 125-154, 2000
- 13) Jones KT : Protein kinase C action at fertilization : overstated or undervalued? *Rev Reprod* 3 : 7-12, 1998
- 14) Swann K, Parrington J : Mechanism of Ca^{2+} release at fertilization in mammals. *J Exp Zool* 285 : 267-275, 1999
- 15) Swann K, Yu Y : The dynamics of calcium oscillations that activate mammalian eggs. *Int J Dev Biol* 52 : 585-594, 2008
- 16) Parrington J : Does a soluble sperm factor trigger calcium release in the egg at fertilization? *J Androl* 22 : 1-11, 2001
- 17) Parrington J, Davis LC, Galione A, et al : Flipping the switch : how a sperm activates the egg at fertilization. *Dev Dyn* 236 : 2027-2038, 2007
- 18) Runft LL, Jaffe LA, Mehlmann LM : Egg activation at fertilization : where it all begins. *Dev Biol* 245 : 237-254, 2002
- 19) Kurokawa M, Sato K, Fissore RA : Mammalian fertilization : from sperm factor to phospholipase Czeta. *Biol Cell* 96 : 37-45, 2004
- 20) Swann K, Saunders CM, Rogers NT, et al : PLCzeta(zeta) : a sperm protein that triggers Ca^{2+} oscillations and egg activation in mammals. *Semin Cell Dev Biol* 17 : 264-273, 2006
- 21) Jones KT, Cruttwell C, Parrington J, et al : A mammalian sperm cytosolic phospholipase C activity generates inositol trisphosphate and causes Ca^{2+} release in sea urchin egg homogenates. *FEBS Lett* 437 : 297-300, 1998
- 22) Parrington J, Lai FA, Swann K : The soluble mammalian sperm factor protein that triggers Ca^{2+} oscillations in eggs : evidence for expression of mRNA(s) coding for sperm factor protein(s) in spermatogenic cells. *Biol Cell* 92 : 267-275, 2000
- 23) Rice A, Parrington J, Jones KT, et al : Mammalian sperm contain a Ca^{2+} -sensitive phospholipase C activity that can generate InsP(3) from PIP(2) associated with intracellular organelles. *Dev Biol* 228 : 125-135, 2000
- 24) Wu H, Smyth J, Luzzi V, et al : Sperm factor induces intracellular free calcium oscillations by stimulating the phosphoinositide pathway. *Biol Reprod* 64 : 1338-1349, 2001
- 25) Parrington J, Swann K, Shevchenko VI, et al : Calcium oscillations in mammalian eggs triggered by a soluble sperm protein. *Nature* 379 : 364-368, 1996
- 26) Shevchenko V, Hogben M, Ekong R, et al : The human glucosamine-6-phosphate deaminase gene : cDNA cloning and expression, genomic organization and chromosomal localization. *Gene* 216 : 31-38, 1998
- 27) Sette C, Paronetto MP, Barchi M, et al : Tr-kit-induced resumption of the cell cycle in mouse eggs requires activation of a Src-like kinase. *Embo j* 21 : 5386-5395, 2002
- 28) Kuo RC, Baxter GT, Thompson SH, et al : NO is necessary and sufficient for egg activation at fertilization. *Nature* 406 : 633-636, 2000
- 29) Hyslop LA, Carroll M, Nixon VL, et al : Simultaneous measurement of intracellular nitric oxide and free calcium levels in chordate eggs demonstrates that nitric oxide has no role at fertilization. *Dev Biol* 234 : 216-230, 2001
- 30) Ito M, Shikano T, Oda S, et al : Difference in Ca^{2+} oscillation-inducing activity and nuclear translocation ability of PLCZ1, an egg-activating sperm factor candidate, between mouse, rat, human, and medaka fish. *Biol Reprod* 78 : 1081-1090, 2008
- 31) Yoneda A, Kashima M, Yoshida S, et al : Molecular cloning, testicular postnatal expression, and oocyte-activating potential of porcine phospholipase Czeta. *Reproduction* 132 : 393-401, 2006
- 32) Cox LJ, Larman MG, Saunders CM, et al : Sperm phospholipase Czeta from humans and cynomolgus monkeys triggers Ca^{2+} oscillations, activation and development of mouse oocytes. *Reproduction* 124 : 611-623, 2002
- 33) Ross PJ, Beyhan Z, Iager AE, et al : Parthenogenetic activation of bovine oocytes using bovine and murine phospholipase C zeta. *BMC Dev Biol* 8, 2008
- 34) Coward K, Ponting CP, Chang HY, et al : Phospholipase Czeta, the trigger of egg activation in mammals, is present in a non-mammalian species. *Reproduction* 130 : 157-163, 2005
- 35) Mizushima S, Takagi S, Ono T, et al : Phospholipase Czeta mRNA expression and its potency during spermatogenesis for activation of quail oocyte as a sperm factor. *Mol Reprod Dev* 76 : 1200-1207, 2009
- 36) Coward K, Ponting CP, Zhang N, et al : Identification and functional analysis of an ovarian form of the egg activation factor phospholipase C zeta (PLCzeta) in pufferfish. *Mol Reprod Dev* 78 : 48-56, 2011
- 37) Young C, Grasa P, Coward K, et al : Phospholipase C zeta undergoes dynamic changes in its pattern of localization in sperm during capacitation and the acrosome reaction. *Fertil Steril* 91 : 2230-2242, 2009
- 38) Nakai M, Ito J, Sato K, et al : Pre-treatment of sperm reduces success of ICSI in the pig. *Reproduction* 142 : 285-293, 2011
- 39) Suzuki T, Yoshida N, Suzuki E, et al : Full-term mouse development by abolishing Zn^{2+} -dependent metaphase II arrest without Ca^{2+} release. *Development* 137 : 2659-2669, 2010
- 40) Kim AM, Bernhardt ML, Kong BY, et al : Zinc sparks are triggered by fertilization and facilitate cell cycle resumption in mammalian eggs. *ACS Chem Biol* 6 : 716-723, 2011
- 41) Que EL, Bleher R, Duncan FE, et al : Quantitative mapping of zinc fluxes in the mammalian egg reveals the origin of fertilization-induced zinc sparks. *Nat Chem* 7 : 130-139, 2015
- 42) Duncan FE, Que EL, Zhang N, et al : The zinc spark is an inorganic signature of human egg activation. *Sci Rep* 6 : 24737, 2016
- 43) Que EL, Duncan FE, Lee HC, et al : Bovine eggs release zinc in response to parthenogenetic and sperm-induced egg activation. *Theriogenology* 127 : 41-48, 2019
- 44) Bernhardt ML, Kim AM, O'Halloran TV, et al : Zinc requirement during meiosis I-meiosis II transition in mouse oocytes is independent of the MOS-MAPK pathway. *Biol Reprod* 84 : 526-536, 2011
- 45) Kong BY, Bernhardt ML, Kim AM, et al : Zinc maintains prophase I arrest in mouse oocytes through regulation of the MOS-MAPK pathway. *Biol Reprod* 87 : 1-12, 2012
- 46) Bernhardt ML, Kong BY, Kim AM, et al : A zinc-dependent mechanism regulates meiotic progression in mammalian oocytes. *Biol Reprod* 86 : 114, 2012
- 47) Hansen DV, Tung JJ, Jackson PK : CaMKII and polo-like kinase 1 sequentially phosphorylate the

- cytostatic factor Emi2/XErp1 to trigger its destruction and meiotic exit. Proc Natl Acad Sci USA 103 : 608-613, 2006
- 48) Kim AM, Vogt S, O'Halloran TV, et al : Zinc availability regulates exit from meiosis in maturing mammalian oocytes. Nat Chem Biol 6 : 674-681, 2010
- 49) Zhang N, Duncan FE, Que EL, et al : The fertilization-induced zinc spark is a novel biomarker of mouse embryo quality and early development. Sci Rep 6 : 22772, 2016
- 50) Kong BY, Duncan FE, Que EL, et al : Maternally-derived zinc transporters ZIP6 and ZIP10 drive the mammalian oocyte-to-egg transition. Mol Hum Reprod 20 : 1077-1089, 2014
- 51) Funahashi H, Cantley TC, Stumpf TT, et al : In vitro development of in vitro-matured porcine oocytes following chemical activation or in vitro fertilization. Biol Reprod 50 : 1072-1077, 1994
- 52) Ito J, Shimada M : Timing of MAP kinase inactivation effects on emission of polar body in porcine oocytes activated by Ca^{2+} ionophore. Mol Reprod Dev 70 : 64-69, 2005
- 53) Amano T, Mori T, Watanabe T : Activation and development of porcine oocytes matured in vitro following injection of inositol 1,4,5-trisphosphate. Anim Reprod Sci 80 : 101-112, 2004
- 54) Wang WH, Abeydeera LR, Prather RS, et al : Functional analysis of activation of porcine oocytes by spermatozoa, calcium ionophore, and electrical pulse. Mol Reprod Dev 51 : 346-353, 1998
- 55) Kishikawa H, Wakayama T, Yanagimachi R : Comparison of oocyte-activating agents for mouse cloning. Cloning 1 : 153-159, 1999
- 56) Sano D, Yamamoto Y, Samejima T, et al : A combined treatment with ethanol and 6-dimethylaminopurine is effective for the activation and further embryonic development of oocytes from Sprague-Dawley and Wistar rats. Zygote 17 : 29-36, 2009
- 57) Ozil JP, Banrezes B, Toth S, et al : Ca^{2+} oscillatory pattern in fertilized mouse eggs affects gene expression and development to term. Dev Biol 300 : 534-544, 2006

Molecular mechanism of fertilization in mammals ~ Ca^{2+} oscillations vs Zn^{2+} spark

Junya Ito

Laboratory of Animal Reproduction, Graduate School of Veterinary Science, Azabu University

In all species studied to date, egg activation requires a fertilization-associated increase in intracellular concentration of calcium. In mammals, the fertilizing Ca^{2+} signal consists of periodical rises, which are referred to as Ca^{2+} oscillations. The Ca^{2+} oscillations are a trigger for some initial events for oocyte activation, including cortical granules exocytosis, resumption of meiosis and exit from the MII arrest. In addition to Ca^{2+} signaling, it has been known that Zn^{2+} signaling become more important for mammalian fertilization because exocytosis of Zn^{2+} ions called as 'Zinc spark' has been reported during fertilization in several mammalian species. However molecular mechanism and biological significance of Zinc signaling during mammalian fertilization remain unknown.

In this review, I will discuss current status of molecular mechanism of mammalian fertilization. I also show some data showing importance of zinc transporter during mammalian fertilization from zinc transporter deficient mice.

Keyword : Calcium, Zinc, fertilization, Mammals

Address for correspondence

1-17-71 Fuchinobe, Chuo Sagamihara, Kanagawa 252-5201, Japan

Phone : +81-42-850-2484

Fax : +81-42-769-1762

E-mail address

itoy@azabu-u.ac.jp