



Header image: Still images from timelapse video showing the mitotic spindle in the very first cell division of a medaka embryo. Timelapse video: Ai Kiyomitsu (OIST).

Header image：メダカ胚の最初の細胞分裂における有糸分裂紡錘体を示すタイムラプス動画の静止画像。タイムラプス動画提供：清光愛（OIST）。

Unveiling the mysteries of cell division in embryos with timelapse photography

タイムラプス撮影で胚の細胞分裂の謎を解明

With the help of medaka fish, CRISPR and new imaging techniques, researchers have set a new standard for studying cell division at the very earliest stages of life.

メダカ、CRISPR、最新のイメージング技術を用い、生命の初期段階における細胞分裂の研究で新たな基準を打ち立てました。

The beginning of life is shrouded in mystery. While the intricate dynamics of mitosis is well-studied in the so-called somatic cells – the cells that have a specialized function, like skin and muscle cells – they remain elusive in the first cells of our bodies, the embryonic cells. Embryonic mitosis is notoriously difficult to study in vertebrates, as live functional analyses and -imaging of experimental embryos are technically limited, which makes it hard to track cells during embryogenesis.

生命の誕生は謎に包まれています。有糸分裂の複雑な動態は、いわゆる体細胞（皮膚細胞や筋肉細胞のような特殊な機能を持つ細胞）ではよく研究されていますが、私たちの体の最初の細胞である胚細胞に関しては、いまだ解明されていません。脊椎動物における胚性有糸分裂の研究は困難であることが知られています。というのも、ライブイメージングでの機能解析が技術的に限られており、胚形成中の細胞を追跡することが難しいからです。

However, researchers from the [Cell Division Dynamics Unit](#) at the Okinawa Institute of Science and Technology (OIST) have recently published [a paper in Nature Communications](#), together with Professors Toshiya Nishimura from [Hokkaido University](#) (previously at Nagoya University), Minoru Tanaka from [Nagoya University](#), Satoshi Ansai from Tohoku University (currently at [Kyoto University](#)), and Masato T. Kanemaki from the [National Institute of Genetics](#). The study takes the first major steps towards answering questions about embryonic mitosis, thanks to a combination of novel imaging techniques, CRISPR/Cas9 genome editing technology, a modern protein-knockdown system, and medaka, or Japanese rice fish (*Oryzias latipes*). The timelapses that they have produced help answer fundamental questions about the intricate process of equally dividing chromosomes during embryonic mitosis, and simultaneously chart the next frontier of scientific exploration. As Professor Tomomi Kiyomitsu, senior author of the study, describes the timelapses: “they are beautiful, both on their own and because they lay a new foundation for elucidating embryonic mitosis.”

このほど、沖縄科学技術大学院大学（OIST）の[細胞分裂動態ユニット](#)の研究チームは、名古屋大学（現[北海道大学](#)）の西村俊哉助教、[名古屋大学](#)の田中実教授、東北大学（現[京都大学](#)）の安齋賢特定准教授、[国立遺伝学研究所](#)の鐘巻将人教授らと共に、学術誌『[ネイチャーコミュニケーションズ](#)』に論文を発表しました。本研究は、新しいイメージング技術、CRISPR/Cas9 ゲノム編集技術、最新のタンパク質ノックダウンシステム、そしてモデル生物としてミナミメダカ（*Oryzias latipes*）を用いることによって、胚性有糸分裂の解明のための、最初の大きな一歩となりました。研究チームが作成したタイムラプスは、胚で染色体が均等に分かれる複雑なプロセスについての根本的な理解に役立つとともに科学的探求の次のフロンティアにつながります。本研究の責任著者である清光智美准教授は、タイムラプスについて次のように語っています。「タイムラプスの画像自体も美しいのですが、胚の有糸分裂の解明につながる新たな基礎を築いた点も評価できます。」

EN_Title: Mitosis in early embryos

<https://youtu.be/HeEp1pmgWgk>

EN_Desc: Studying cell division in early embryos is notoriously difficult, but thanks to CRISPR/Cas-9 mediated genome editing, Japanese rice fish, and new imaging techniques, these timelapses have now become possible. Professor Tomomi Kiyomitsu from the Cell Division Dynamics Unit at the Okinawa Institute of Science and Technology explains the new techniques and how they help us understand cell division at the earliest stages of life.

JA_Title: タイムラプス撮影で胚の細胞分裂の謎を解明

<https://youtu.be/yS5fZl6js0U>

JA_Desc: 初期胚の細胞分裂を研究することの難しさはよく知られている。しかし、CRISPR/Cas-9 を用いたゲノム編集、メダカ、そして新しいイメージング技術のおかげで、タイムラプス撮影が可能にな

った。OIST 細胞分裂動態ユニットの清光智美准教授が、この新しい技術と、それが生命の初期段階における細胞分裂の理解にどのように役立つかを解説する。

Central to the mystery of embryonic mitosis is the crucial step when the chromosomes, which contain all the genetic information of the cell, are aligned and segregated equally into daughter cells. [A key player in this process is the mitotic spindle, which is made of microtubules](#) – long protein fibers used for intra-cellular structure and transport – that radiates from opposite poles of the spindle and attaches to the chromosomes in the middle. The spindle captures duplicated chromosomes properly and segregates them equally into the daughter cells during division. There are many factors determining spindle formation, and one of these is the protein Ran-GTP, which plays an essential role in cell division of female reproductive cells, which lack centrosomes – cell organelles responsible for assembling microtubules – but not in small somatic cells, which do have centrosomes. However, it has long been unclear whether Ran-GTP is required for spindle assembly in vertebrate early embryos, which contain centrosomes but have unique features, like a larger cell size.

胚性有糸分裂の主な謎は、細胞のすべての遺伝情報を保持する染色体が整列し、娘細胞に均等分配されるという重要なステップにあります。このプロセスの鍵を握るのが[有糸分裂の紡錘体](#)です。紡錘体は微小管（細胞内の構造形成と輸送に使われる長いタンパク質繊維）でできており、紡錘体の両極から放射状に伸び、中央で染色体に接着します。紡錘体は複製された染色体を適切に捕らえ、分裂の際に娘細胞に均等に分配します。紡錘体の形成を決定する因子は数多くありますが、その一つに Ran-GTP というタンパク質があります。Ran-GTP は、中心体（微小管を組み立てる役割を担う細胞小器官）を持たない女性の生殖細胞の分裂では必須の役割を果たしますが、中心体を持つ小さな体細胞では必須ではありません。しかし、Ran-GTP が脊椎動物の初期胚の紡錘体形成に必要であるかどうかは長い間不明でした。脊椎動物の初期胚には中心体がありますが、細胞サイズが大きいなどの特徴があります。

In contrast to mammalian early embryos, embryonic cells in fish are transparent and develop synchronously in a uniform, single-cell layer sheet, which makes them significantly easier to track. The medaka turned out to be particularly well-suited for the researchers, as these fish tolerate a wide range of temperatures, produce eggs daily, and have a relatively small genome. Being temperature-tolerant means that the medaka embryonic cells could survive at room temperature , making them particularly suited for long, live timelapse photography.

哺乳類の初期胚とは対照的に、魚類の胚細胞は透明で、均一な単細胞層で同時に分裂し、発生を進行するため、観察が極めて容易です。ミナメダカは適応できる温度範囲が広く、毎日卵を産み、比較的小さなゲノムを持つため、研究に特に適した魚であることが分かりました。温度耐性があるということは、ミナメダカの胚細胞は室温でも生存できるということであり、長時間生きたままでのタイムラプス撮影に特に適しています。

<<< Video 3 >>>

The fact that medaka produce eggs frequently and have a relatively small genome size makes them good candidates for CRISPR/Cas9-mediated genome editing. With this technology, the researchers

have created genetically modified, or transgenic, medaka whose embryonic cells literally highlight the dynamics of certain proteins involved in mitosis.

メダカは頻繁に卵を産み、ゲノムサイズが比較的小さいことから、CRISPR/Cas9 を用いたゲノム編集に適しています。このゲノム編集の技術を用いて、実際に胚の有糸分裂に関与する特定のタンパク質の動態を可視化する遺伝子組み換えメダカを作り出しました。



Caption: Left: Egg-carrying medaka fish, used in the study. Right: Dr. Ai Kiyomitsu from the Cell Division Dynamics Unit, first author of the paper, injecting RNA into a medaka embryo as part of the CRISPR/Cas9-mediated genome editing process. Photos: Tomomi Kiyomitsu (OIST).

Caption: (左) 卵を抱えたメダカ。(右) 論文の筆頭著者である細胞分裂動態ユニットの清光愛博士が、CRISPR/Cas9 を用いたゲノム編集プロセスの一環として、メダカ胚に RNA を注入する様子。写真提供：清光智美 (OIST)

In studying the timelapses of the developing mitotic spindle in live, transgenic medaka embryos, the researchers discovered that large early embryos assemble unique spindles different from somatic spindles. In addition, Ran-GTP plays a decisive role in spindle formation in early embryonic divisions, but the importance diminishes in later stage embryos. This is possibly because the spindle structure is remodeled as cells get smaller during development, though the exact reason is a subject for future research.

遺伝子組み換えメダカの胚で、分裂中の有糸分裂紡錘体をタイムラプス観察したところ、大きな初期胚は体細胞紡錘体とは異なる独自の紡錘体を組み立てていることを発見しました。また、初期胚の分裂では Ran-GTP が紡錘体形成に決定的な役割を果たしますが、後期胚ではあまり重要ではありません。これは、発生の過程で細胞が小さくなるにつれ、紡錘体構造がリモデリングされるためと考えられますが、正確な理由については、さらなる研究が必要です。

The researchers also discovered that the early embryonic cells do not have a dedicated spindle assembly checkpoint, which characterizes most somatic cells, and which serves to ensure that the chromosomes are properly aligned before segregation. As Professor Kiyomitsu surmises, “the checkpoint is not active, and yet the chromosome segregations are still very accurate. This could be

explained by the fact that embryonic cells need to divide very quickly, but it is something that we want to study further.”

研究チームはまた、ほとんどの体細胞に特徴的な、染色体が分離前に正しく整列するときの紡錘体チェックポイントが、初期胚細胞には存在しないことも発見しました。清光准教授は「チェックポイントが活性化していないにもかかわらず、染色体の分離は非常に正確なのです。これは、胚細胞が非常に速く分裂する必要があることで説明できるかもしれませんが、さらに研究を進める必要があります」と話します。

<<< Video 2 with annotations >>>

While genetically modifying the medaka fish and studying the early embryos have led to new key insights into embryonic mitosis, this is just the beginning for Professor Kiyomitsu and the team. In addition to questions related to the diminishing role of Ran-GTP in later stages and the missing spindle assembly checkpoint, he points to the satisfying symmetry of cell divisions in the timelapses: “The spindle formation is characterized by a high degree of symmetry, as the cells appear to be dividing in the sizes and defined directions, and the spindle is consistently in the center of the cells. How can the spindle orient itself so regularly across the cells, and how is it able to find the center every time?”

メダカの遺伝子組み換えと初期胚の研究は、胚性有糸分裂に関する新たな知見につながりましたが、清光准教授と研究チームにとって、これはほんの始まりに過ぎません。後期段階におけるRan-GTPの役割の減少や、紡錘体形成チェックポイントの欠落に関する疑問に加えて、清光准教授はタイムラプスにおける細胞分裂の対称性の面白さを指摘します。「紡錘体の形成は高度な対称性を特徴としています。細胞は等しい大きさになるように、かつ規則的な方向に分裂しているように見え、紡錘体は一貫して細胞の中心にあります。紡錘体はどのようにして規則正しく配向し、どのようにして毎回、細胞の中心を見つけることができるのでしょうか？」

Moving beyond the timelapses, the team also hopes to further solidify this new foundation with additional medaka gene-lines to serve as models for research in embryonic cells, and at the same time optimize the genome editing process. Eventually, the team wants to test for generalizability of their findings by studying embryonic mitosis in other organisms, and at a later stage, they want to explore the evolution of spindle assembly and embryonic divisions, which would also contribute to a better understanding of human embryogenesis and to developing diagnosis and treatment of human infertility.

タイムラプスだけでなく、研究チームは、胚細胞研究のモデルとなる遺伝子組み換えメダカの種類を増やし、この新しい基盤をさらに強固なものにすると同時に、ゲノム編集プロセスを最適化したいと考えています。最終的には、他の生物においても胚性有糸分裂を研究することで、今回の発見が一般化可能かどうかを検証し、次の段階では、紡錘体形成と胚分裂の進化を探求することで、ヒトの胚発生をより深く理解し、ヒト不妊症の診断・治療法の開発にも貢献したいと考えています。

“With this paper, we have created a solid foundation,” summarizes Professor Kiyomitsu, “but we have also opened a new frontier. Embryonic mitosis is beautiful, mysterious, and challenging to study, and we hope that with our work, we can eventually get a little closer to understanding the intricate processes at the beginning of life.”

「この論文で、確かな基礎が築けました」と清光准教授は総括します。「と同時に、新たなフロンティアも開かれました。胚性有糸分裂は美しく、神秘的で、研究しがいのあるものです。私たちの研究によって、生命の始まりの複雑なプロセスの理解に少しでも近づけることを願っています。」

Additional media:



Caption: Three of the researchers involved in the study, in front of fish-tanks of the transgenic medaka fish used in the study. From left to right: Dr. Ai Kiyomitsu from OIST, Professor Satoshi Ansai from Kyoto University (previously Tohoku University), and Professor Tomomi Kiyomitsu from OIST. Photo: Tomomi Kiyomitsu.

Caption: 本研究に携わった 3 人。遺伝子組み換えメダカの入った水槽の前で。(左から右へ) OIST の清光愛博士、京都大学 (元東北大学) の安齋賢特定准教授、OIST の清光智美准教授。写真提供：清光智美 (OIST)