

受精時におけるカルシウムイオン制御機構

誌名	Journal of mammalian ova research = 日本哺乳動物卵子学会誌
ISSN	13417738
著者名	伊藤,潤哉
発行元	日本哺乳動物卵子学会
巻/号	29巻4号
巻号補足	
掲載ページ	p. 146-154
発行年月	2012年10月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



—総説—

特集：卵子のエネルギー代謝 —ミトコンドリア機能について—

受精時におけるカルシウムイオン制御機構 Regulation of Calcium Signaling during Fertilization

伊藤 潤哉

Junya Ito

麻布大学獣医学部動物繁殖学研究室 〒252-5201 相模原市

Laboratory of Animal Reproduction, School of Veterinary Medicine, Azabu University, 1-17-71 Fuchinobe, Chuo Sagami-hara, Kanagawa 252-5201, Japan

要旨：ほとんどすべての動物種において、受精時には卵内カルシウムイオンの上昇が認められる。このカルシウムイオンの上昇は、第二減数分裂からの減数分裂再開、表層顆粒の放出および雌雄前核の形成といった“卵の活性化”を引き起こすことが知られている。特に哺乳動物の受精においては、反復的なカルシウムイオンの上昇（カルシウムオシレーション）が起こる。近年の研究により、カルシウムオシレーションは卵の活性化だけでなく、その後の発生にも影響を及ぼすことが示唆されている。カルシウムオシレーションは精子内に存在する卵活性化因子（phospholipase C zeta, PLC ζ ）が卵細胞質内に放出されることで起こると考えられており、PLC ζ によりPIP $_2$ が加水分解され、その結果生産されたinositol 1,4,5-triphosphate (IP $_3$)が小胞体上にあるIP $_3$ 受容体に結合し、小胞体内に蓄積されたカルシウムを卵細胞質内に放出することで誘起される。我々は、実験動物（マウス）あるいは家畜（ブタ）をモデルとして用い、特にPLC ζ とIP $_3$ 受容体の機能に着目し研究を行ってきた。本稿では、これら分子に関する最近の知見を紹介したい。

キーワード：イノシトール3リン酸、卵活性化、PLC、精子

Abstract: During fertilization, the sperm triggers resumption from the arrest, extrusion of the second polar body and pronuclear formation whose events are collectively acknowledged as ‘oocyte activation’. In mammalian species up to date, oocyte activation requires fertilization-associated increases in the intracellular concentration of calcium. These periodical rises are referred to as calcium oscillations. Result studies suggest that these calcium oscillations have important role in not only oocyte activation but also development of mammals. We focus on two molecules, phospholipase C zeta (PLC ζ) and inositol 1,4,5-triphosphate receptor (IP $_3$ R) which have important role in regulation of calcium oscillations during fertilization in mammals. In this review, we will discuss present status and future perspective of molecular mechanism during fertilization in mammals.

Key words: IP $_3$, Oocyte activation, Phospholipase C, Sperm

受精機構

ほとんどの哺乳動物種において、排卵された卵子は第二減数分裂中期 (Metaphase-II, MII) で減数分裂を停止している¹⁾。精子と卵子の融合に伴い、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⁾。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⁾。哺乳類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 (PLC ζ) が、phosphatidylinositol (4,5) -bisphosphate (PIP $_2$) を diacylglycerol (DG) と inositol 1,4,5-trisphosphate (IP $_3$) に加水分解し^{6,7)}、IP $_3$ が小胞体上に存在するIP $_3$ 受容体 (IP $_3$ receptor,

(受付 2012年6月5日 / 受理 2012年6月26日)

別刷請求先：〒252-5201 神奈川県相模原市中央区淵野辺 1-17-71

麻布大学獣医学部動物繁殖学研究室

e-mail: itoj@azabu-u.ac.jp

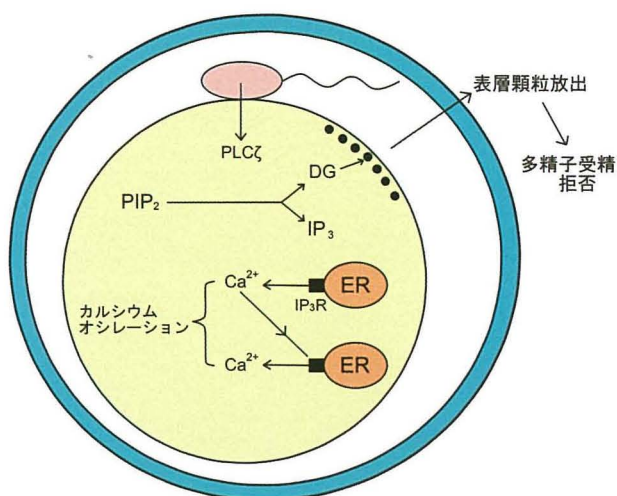


図1 哺乳類における卵活性化機構
ER：小胞体

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)。

現在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) といった様々な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生殖補助医療技術 (Assisted reproductive technology, 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、カルシウムイオノフォア等) 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。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る。

MIIでの減数分裂停止とその再開

いくつかの種を除く脊椎動物では、排卵された卵はMIIで減数分裂を停止している。このMIIでの減数分裂停止は、CSFと呼ばれるいくつかの因子によって調節されていると考えられている¹¹⁾。現在までにいくつかの因子がCSFの候補として報告されている。アフリカツメガエルでは、*c-mos* プロトオンコジーン産物であるpp39^{mos}が未受精卵に存在することが知られており、2細胞期胚の割球に*mos* cRNAをマ

イクロインジェクションしたところ、その割球はM期で分裂を停止したことから、Mosタンパク質は、CSF活性を有することを示唆している¹²⁻¹⁴⁾。一方、哺乳類においては、*mos*遺伝子を欠損させたノックアウトマウスの卵巣から回収した卵は、減数分裂が進行し、MIIにはなるものの自発的な活性化が起こり、第二極体の放出および前核形成が誘起されることが報告されている¹⁵⁻¹⁷⁾。これらの結果は、Mosが両生類だけでなく、哺乳類においてもCSF活性を有することを示唆している。

アフリカツメガエル卵においてMosタンパク質は、mitogen-activated protein kinase or extracellular signal-regulated protein kinase (MEK) kinaseとして働き、MEKはさらに下流のmitogen-activated protein kinase (MAPK) に作用する¹⁸⁻²²⁾。近年MAPKのさらに下流に存在するp90 ribosomal S6 kinase (p90^{rsk}) がEmi2をリン酸化することが報告された^{23, 24)}。これらのことから現在では、Mos/MEK/MAPK/p90^{rsk}/Emi2経路がCSFとして機能していると考えられている^{25, 26)}。CSFの主な機能の一つは、成熟促進因子 (Maturation promoting factor, MPF) の高い活性を維持することである²⁷⁾。MPFは、触媒サブユニットであるp34^{cdc2} kinase²⁸⁾と調節サブユニットのサイクリンB²⁹⁾の結合したヘテロ二量体で構成されている。CSFのもう一つの役割は、サイクリンBの分解に関わる後期分裂促進因子 (Anaphase promoting complexes/cyclosome) の活性を抑制することであり、その結果MIIからの減数分裂再開、すなわち第二減数分裂後期への進行が抑制されている³⁰⁾。哺乳類 (ブタ) の卵においてもMPFの高い活性によりMIIでの減数分裂停止が起こること³¹⁻³³⁾、また高いMAPKの活性は、サイクリンBの分解を抑制することにより高いMPF活性に寄与していることも明らかにされている³⁴⁾。また、MAPK活性の維持にphosphatidylinositol-3 kinaseが関与している可能性も近年報告されている³⁵⁾。

受精後、精子は卵活性化の重要なイベントを引き起こすことが知られており、これまで調べられてきたすべての動物種において、卵の活性化は卵細胞質内カルシウムイオンの上昇を必要とすることが明らかとなっている⁴⁾。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こと³⁶⁾、一方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, 37-40)}、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。

受精時におけるカルシウムイオン上昇の役割の一つは、CSFを不活化することである。哺乳類の卵において、精子はp34^{cdc2} kinaseの不活性化とそれに続くMAPKの不活性化を引き起こし、それらの結果、卵は前核を形成する⁴¹⁻⁴³⁾。受精時において精子由来の因子はPIP₂を加水分解し、DGとIP₃を産生する⁶⁾。IP₃は小胞体表面に存在するIP₃Rに結合し、小胞体に蓄積されたカルシウムイオンを卵細胞質内に放出させる。一方、卵細胞内カルシウムイオンの上昇とプロテ

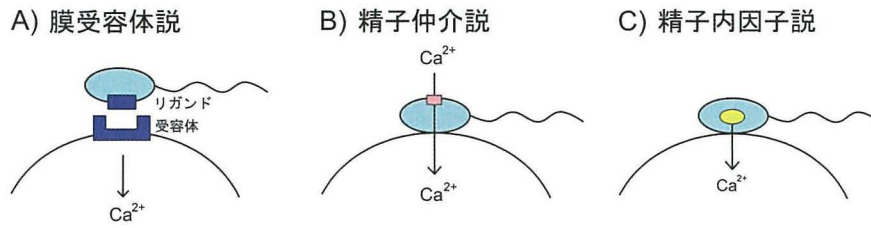


図2 哺乳類の受精時における卵内カルシウムイオンの上昇機構

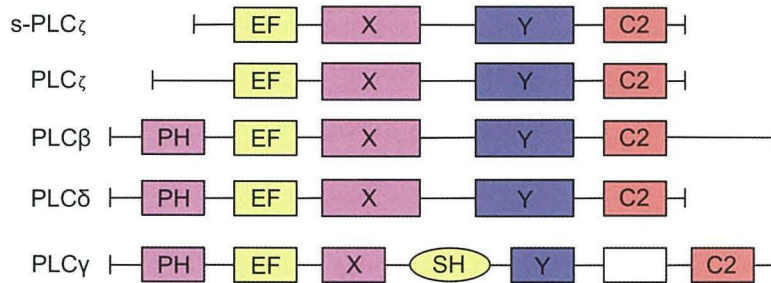


図3 PLCζの構造

PH: PHドメイン, EF: EF handドメイン, X: X領域, SH: SH2ドメイン, Y: Y領域, C2: C2ドメイン

ンキナーゼC (Protein Kinase C, PKC) の活性化は、精子が侵入したブタ卵で認められている⁴⁴⁾。我々は以前PKC活性化剤である phorbol 12-myristate 13-acetate (PMA) 処理が成熟したブタ卵のMAPKを不活性化すること⁴⁵⁾、一方PKC阻害剤である calphostin Cによる処理は、人為的活性化刺激後のMAPKの不活性化を抑制することも明らかにしている⁴⁵⁾。さらに、calcium calmodulin-dependent protein kinase II (CaMKII) の抑制剤であるKN-93で卵を前処理し、体外受精を行うとサイクリンBの分解とp34^{cdc2} kinase活性の低下が抑制されることも明らかにしている⁴⁶⁾。これらのことから、受精時におけるカルシウムイオンの上昇は、MPFおよびMAPK活性の低下を介してCSFの不活性化に関わっていると考えられる。

卵活性化機構に関する3つの仮説

現在までにすべての動物種において受精時にカルシウムイオンの上昇が起こることから、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について、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^{47, 48)}、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, 36, 49-51)}。

1つ目の仮説は「受容体説」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³⁹⁾ (図2A)。2つ目の仮説は「精子仲介説」であり、精子が卵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2B)。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」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、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。

SFとしてのPLCζ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⁵²⁻⁵⁵⁾。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⁵⁶⁻⁶⁰⁾。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、PLCζと名付けた⁷⁾。PLCζ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⁾ (図3)。その後多くの哺乳類 (ラット⁶¹⁾、ブタ⁶²⁾、サル⁶³⁾、ヒト⁶³⁾、ウシ⁶⁴⁾ および哺乳類以外の動物種 (ニワト

リ⁶⁵、ウズラ⁶⁶、メダカ⁶¹、フグ⁶⁷)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されている。一方、*Plcz*を標的とする短いヘアピンRNAを発現するトランスジェニックマウスを作製すると、その精子はPLC ζ の発現が減少しており、その結果カルシウムオシレーション活性の低下および低い卵活性化率を引き起こす⁶⁸。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⁶⁹。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⁷⁰、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⁶²。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。

また精子を注入した時、SF活性は精子侵入後90分以内に卵細胞質内に拡散するため、その精子を別のマウス卵へ再注入した場合にはカルシウムオシレーション誘起能を失う⁷¹。ブタにおいてはICSI前の精子の処理(超音波、界面活性剤および凍結融解の繰り返し処理)が、精子内のPLC ζ を減少させ、その結果ICSI卵の低い前核形成率を引き起こす⁷⁰。一方マウス卵巣において、PLC ζ の過剰発現はこれらの卵巣から回収した卵の自発的な活性化を促進する⁷²。これらの結果から、PLC ζ は哺乳類の卵活性化に必要な十分であることを示唆している。さらに少なくともマウスにおいては、PLC ζ は卵細胞質内へ拡散した後、数時間後には前核に局在しカルシウムオシレーションは収束する⁵¹。以上のことから現在の認識では、PLC ζ が卵活性化とその後の胚発生を引き起こすと考えられている^{3,48}。

卵の成熟過程におけるIP₃Rの制御

哺乳類において、IP₃Rは受精時のカルシウム放出を制御する⁷³⁻⁷⁶。IP₃Rにはタイプ1からタイプ3の3つのタイプが存在し^{77,78}、IP₃Rタイプ1 (IP₃R 1)は卵において最も発現しているIP₃Rである⁷⁹⁻⁸¹。IP₃R 1は小胞体の膜上に存在し、カルシウム貯蔵に関与する⁸¹。受精時には、IP₃R 1のリガンドであるIP₃との結合が認められること^{82,83}、IP₃はPLCを介したPIP₂の加水分解により生産されることから⁶、PLC ζ がIP₃を産生していると考えられる^{7,84}。

IP₃Rを介したカルシウムオシレーション誘起能は、卵の減数分裂に伴って増加することが報告されている⁸⁵⁻⁸⁹。例えば卵核胞期の卵は、低振幅のカルシウムイオンの上昇^{90,91}すなわちIP₃に対する低い感受性を示す^{86,87}。IP₃Rの感受性は受精までに増加し、脊椎動物ではMIIで最大となる^{86,87,92}。一方、受精後にはIP₃Rの感受性は減少し、そのことからIP₃Rの感受性は細胞周期依存的であると考えられている⁹³⁻⁹⁶。卵成熟に伴い、貯蔵するカルシウムの増加^{87,97}、IP₃R1および小胞体の卵細胞質内での局在^{92,98,99}、さらにはIP₃R1の発現

量の増加等^{79,100})により、IP₃Rの感受性は増加する。IP₃Rはいくつかのkinaseによりリン酸化されるアミノ酸配列をもち、卵成熟に伴いリン酸化を受ける^{74,101,102}。IP₃Rのリン酸化は、protein kinase A¹⁰³、protein kinase B¹⁰⁴、PKC¹⁰⁵、protein kinase G¹⁰⁶、CaMKII^{107,108}、チロシンキナーゼであるFyn¹⁰⁹およびLyn¹¹⁰、Rho kinase¹¹¹)によって起こることが報告されている。しかしこれらのkinaseの動態は、卵成熟過程における細胞周期と一致しないことから、MII卵におけるIP₃R1のリン酸化に関与する可能性は低いと考えられる。一方、近年の研究においてIP₃R1がp34^{cdc2} kinase、MAPKおよびpolo-like kinase 1によってリン酸化されることが報告され、少なくとも*in vivo*の実験においてはそれらのkinaseによりリン酸化されることが証明された^{73,74,76,112,113}。さらに我々はIP₃R1が卵成熟過程において卵核胞崩壊に伴って初めてリン酸化され、その後MIIでも高いリン酸化レベルが維持されることをマウス⁷³およびブタ卵⁷⁴)を用いて明らかにした。一方、受精後にIP₃R1のリン酸化レベルは減少し、その低下はMAPK活性の低下と同時期に起こることも明らかにしている⁷⁶。一方、ブタ卵ではp34^{cdc2} kinaseの抑制によりIP₃R1のリン酸化レベルの低下が起こることから、MAPKよりむしろMPFがIP₃R1のリン酸化に関与している可能性が考えられる⁷⁴。

いくつかの研究において、卵細胞質内のIP₃R1の局在が、IP₃Rの機能に関与することが示されている^{37,90}。これらの研究では、IP₃R1の感受性が高いマウスMII卵では、卵細胞膜付近でのIP₃R1のクラスターが形成されることが報告されている^{37,90}。我々の研究においてもMEK抑制剤U0126で処理したマウスMII卵では、細胞膜付近にクラスター形成が認められないこと、またU0126処理したMII卵ではカルシウムオシレーションが抑制されることを明らかにしている^{76,114}。今後のさらなる研究により、膜付近でのIP₃R1のクラスター形成とカルシウムオシレーション誘起能との関係が明らかにされると考えられる。

受精機構の解明がARTへの応用に果たす役割

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、カルシウムイオノフォア処理^{115,116}、IP₃の注入¹¹⁷、電気パルス処理¹¹⁸、エタノール¹¹⁹)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、SrCl₂を用いた活性化法が有効であり、SrCl₂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^{8-10,120}。

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。しかし

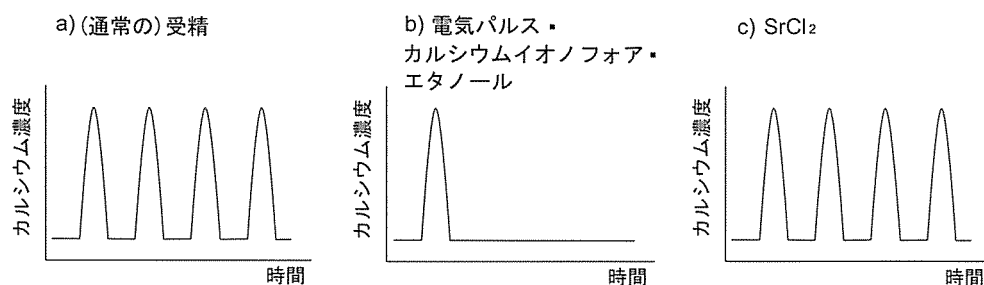


図4 人為的活性化処理による卵内カルシウムイオンの動態

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¹²¹⁾。これらのことからカルシウムオシレーションは少なくとも哺乳類の受精においては必須な現象であり、今後の研究によりその意義が明らかにされていくと考えられる。

文献

- 1) Ducibella, T. and Fissore, R. (2008): The roles of Ca²⁺, downstream protein kinases, and oscillatory signaling in regulating fertilization and the activation of development. *Dev. Biol.*, 315, 257–279.
- 2) Schultz, R.M. and Kopf, G.S. (1995): Molecular basis of mammalian egg activation. *Cur. Topics Dev. Biol.*, 30, 21–62.
- 3) Ito, J., Parrington, J. and Fissore, R.A. (2011): PLCzeta and its role as a trigger of development in vertebrates. *Mol. Reprod. Dev.*, 78, 846–853.
- 4) Stricker, S.A. (1999): Comparative biology of calcium signaling during fertilization and egg activation in animals. *Dev. Biol.*, 211, 157–176.
- 5) Miyazaki, S., Shirakawa, H., Nakada, K. and Hondam, Y. (1993): Essential role of the inositol 1,4,5-trisphosphate receptor/Ca²⁺ release channel in Ca²⁺ waves and Ca²⁺ oscillations at fertilization of mammalian eggs. *Dev. Biol.*, 158, 62–78.
- 6) Rebecchi, M.J. and Pentylala, S.N. (2000): Structure, function, and control of phosphoinositide-specific phospholipase C. *Phy. Reviews*, 80, 1291–1335.
- 7) Saunders, C.M., Larman, M.G., Parrington, J., Cox, L.J., Royse, J., Blayney, L.M., Swann, K. and Lai, F.A. (2002): PLC zeta: a sperm-specific trigger of Ca²⁺ oscillations in eggs and embryo development. *Development*, 129, 3533–3544.
- 8) Kishigami, S. and Wakayama, T. (2007): Efficient strontium-induced activation of mouse oocytes in standard culture media by chelating calcium. *The Journal of Reproduction and Development*, 53, 1207–1215.
- 9) Ogura, A., Suzuki, O., Tanemura, K., Mochida, K., Kobayashi, Y. and Matsuda, J. (1998): Development of normal mice from metaphase I oocytes fertilized with primary spermatocytes. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 95, 5611–5615.
- 10) Wakayama, T., Perry, A.C., Zuccotti, M., Johnson, K.R. and Yanagimachi, R. (1998): Full-term development of mice from enucleated oocytes injected with cumulus cell nuclei. *Nature*, 394, 369–374.
- 11) Masui, Y. and Markert, C.L. (1971): Cytoplasmic control of nuclear behavior during meiotic maturation of frog oocytes. *J. Exp. Zool.*, 177, 129–145.
- 12) Sagata, N., Daar, I., Oskarsson, M., Showalter, S.D. and Vande Woude, G.F. (1989): The product of the *mos* proto-oncogene as a candidate “initiator” for oocyte maturation. *Science*, 245, 643–646.
- 13) Sagata, N., Oskarsson, M., Copeland, T., Brumbaugh, J. and Vande Woude, G.F. (1988): Function of *c-mos* proto-oncogene product in meiotic maturation in *Xenopus* oocytes. *Nature*, 335, 519–525.
- 14) Sagata, N., Watanabe, N., Vande Woude, G.F. and Ikawa, Y. (1989): The *c-mos* proto-oncogene product is a cytostatic factor responsible for meiotic arrest in vertebrate eggs. *Nature*, 342, 512–518.
- 15) Choi, T., Fukasawa, K., Zhou, R., Tessarollo, L., Borror, K., Resau, J. and Vande Woude, G.F. (1996): The *Mos/mitogen-activated protein kinase (MAPK)* pathway regulates the size and degradation of the first polar body in maturing mouse oocytes. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 93, 7032–7035.
- 16) Colledge, W.H., Carlton, M.B., Udy, G.B. and Evans, M.J. (1994): Disruption of *c-mos* causes parthenogenetic development of unfertilized mouse eggs. *Nature*, 370, 65–68.
- 17) Hashimoto, N., Watanabe, N., Furuta, Y., Tamemoto, H., Sagata, N., Yokoyama, M., Okazaki, K., Nagayoshi, M., Takeda, N. and Ikawa, Y. (1994): Parthenogenetic activation of oocytes in *c-mos*-deficient mice. *Nature*, 370, 68–71.
- 18) Crews, C.M., Alessandrini, A. and Erikson, R.L. (1992): Erks: their fifteen minutes has arrived. *Cell Growth Differ.*, 3, 135–142.
- 19) Kosako, H., Gotoh, Y. and Nishida, E. (1994): Requirement for the MAP kinase kinase/MAP kinase cascade in *Xenopus* oocyte maturation. *EMBO J.*, 13, 2131–2138.
- 20) Nebreda, A.R., Hill, C., Gomez, N., Cohen, P. and Hunt, T. (1993): The protein kinase *mos* activates

- MAP kinase kinase in vitro and stimulates the MAP kinase pathway in mammalian somatic cells in vivo. *FEBS Lett.*, 333, 183–187.
- 21) Posada, J., Yew, N., Ahn, N.G., Vande Woude, G.F. and Cooper, J.A. (1993): Mos stimulates MAP kinase in *Xenopus* oocytes and activates a MAP kinase kinase in vitro. *Mol. Cell. Biol.*, 13, 2546–2553.
 - 22) Shibuya, E.K. and Ruderman, J.V. (1993): Mos induces the in vitro activation of mitogen-activated protein kinases in lysates of frog oocytes and mammalian somatic cells. *Mol. Biol. Cell.*, 4, 781–790.
 - 23) Inoue, D., Ohe, M., Kanemori, Y., Nobui, T. and Sagata, N. (2007): A direct link of the Mos-MAPK pathway to Erp1/Emi2 in meiotic arrest of *Xenopus laevis* eggs. *Nature*, 446, 1100–1104.
 - 24) Nishiyama, T., Ohsumi, K. and Kishimoto, T. (2007): Phosphorylation of Erp1 by p90rsk is required for cytostatic factor arrest in *Xenopus laevis* eggs. *Nature*, 446, 1096–1099.
 - 25) Wu, J.Q. and Kornbluth, S. (2008): Across the meiotic divide - CSF activity in the post-Emi2/XErp1 era. *J. Cell Sci.*, 121, 3509–3514.
 - 26) Perry, A.C. and Verlhac, M.H. (2008): Second meiotic arrest and exit in frogs and mice. *EMBO Rep.*, 9, 246–251.
 - 27) Newport, J.W. and Kirschner, M.W. (1984): Regulation of the cell cycle during early *Xenopus* development. *Cell*, 37, 731–742.
 - 28) Nurse, P. (1990): Universal control mechanism regulating onset of M-phase. *Nature*, 344, 503–508.
 - 29) Hunt, T. (1989): Embryology. Under arrest in the cell cycle. *Nature*, 342, 483–484.
 - 30) Peters, J.M. (2006): The anaphase promoting complex/cyclosome: a machine designed to destroy. *Nature Reviews Mol. Cell. Biol.*, 7, 644–656.
 - 31) Naito, K., Hawkins, C., Yamashita, M., Nagahama, Y., Aoki, F., Kohmoto, K., Toyoda, Y. and Moor, R.M. (1995): Association of p34^{cdc2} and cyclin B1 during meiotic maturation in porcine oocytes. *Dev. Biol.*, 168, 627–634.
 - 32) Kikuchi, K., Naito, K., Noguchi, J., Shimada, A., Kaneko, H., Yamashita, M., Aoki, F., Tojo, H. and Toyoda, Y. (2000): Maturation/M-phase promoting factor: a regulator of aging in porcine oocytes. *Biol. Reprod.*, 63, 715–722.
 - 33) Ito, J., Shimada, M. and Terada, T. (2001): Progression of nuclear maturation and p34^{cdc2} kinase activity in porcine oocytes during in vitro culture in different media. *J. Mamm. Ova Res.*, 18, 39–43.
 - 34) Ito, J., Shimada, M. and Terada, T. (2004): Mitogen-activated protein kinase inhibitor suppresses cyclin B1 synthesis and reactivation of p34^{cdc2} kinase, which improves pronuclear formation rate in matured porcine oocytes activated by Ca²⁺ ionophore. *Biol. Reprod.*, 70, 797–804.
 - 35) Ito, J., Shimada, M., and Kashiwazaki, N. (2010): Possible involvement of phosphatidylinositol 3-kinase in the maintenance of metaphase II arrest in porcine oocytes matured in vitro. *Anim. Sci. J.*, 81, 42–47.
 - 36) Whitaker, M. (2006): Calcium at fertilization and in early development. *Phy. Rev.*, 86, 25–88.
 - 37) Kline, D. (2000): Attributes and dynamics of the endoplasmic reticulum in mammalian eggs. *Cur. Top. Dev. Biol.*, 50, 125–154.
 - 38) Jones, K.T. (1998): Protein kinase C action at fertilization: overstated or undervalued? *Rev. Reprod.*, 3, 7–12.
 - 39) Swann, K. and Parrington, J. (1999): Mechanism of Ca²⁺ release at fertilization in mammals. *J. Exp. Zool.*, 285, 267–275.
 - 40) Swann, K., and Yu, Y. (2008): The dynamics of calcium oscillations that activate mammalian eggs. *Int. J. Dev. Biol.*, 52, 585–594.
 - 41) Moos, J., Kopf, G.S. and Schultz, R.M. (1996): Cycloheximide-induced activation of mouse eggs: effects on cdc2/cyclin B and MAP kinase activities. *J. Cell Sci.*, 109, 739–748.
 - 42) Liu, L., Ju, J.C. and Yang, X. (1998): Differential inactivation of maturation-promoting factor and mitogen-activated protein kinase following parthenogenetic activation of bovine oocytes. *Biol. Reprod.*, 59, 537–545.
 - 43) Miyano, T., Dai, Y., Lee, J., Kano, K. and Moor, R.M. (2000): Degradation of pig cyclin B1 molecules precedes MAP kinase dephosphorylation during fertilisation of the oocytes. *Zygote*, 8, 153–158.
 - 44) Fan, H.Y., Tong, C., Li, M.Y., Lian, L., Chen, D.Y., Schatten, H. and Sun, Q.Y. (2002): Translocation of the classic protein kinase C isoforms in porcine oocytes: implications of protein kinase C involvement in the regulation of nuclear activity and cortical granule exocytosis. *Exp. Cell Res.*, 277, 183–191.
 - 45) Ito, J., Shimada, M. and Terada, T. (2003): Effect of protein kinase C activator on mitogen-activated protein kinase and p34^{cdc2} kinase activity during parthenogenetic activation of porcine oocytes by calcium ionophore. *Biol. Reprod.*, 69, 1675–1682.
 - 46) Ito, J., Kawano, N., Hirabayashi, M. and Shimada, M. (2004): The role of calcium/calmodulin-dependent protein kinase II on the inactivation of MAP kinase and p34^{cdc2} kinase during fertilization and activation in pig oocytes. *Reproduction*, 128, 409–415.
 - 47) Parrington, J. (2001): Does a soluble sperm factor trigger calcium release in the egg at fertilization? *J. And.*, 22, 1–11.
 - 48) Parrington, J., Davis, L.C., Galione, A. and Wessel, G. (2007): Flipping the switch: how a sperm activates the egg at fertilization. *Dev. Dyn.*, 236, 2027–2038.
 - 49) Runft, L.L., Jaffe, L.A. and Mehlmann, L.M. (2002): Egg activation at fertilization: where it all begins. *Dev. Biol.*, 245, 237–254.
 - 50) Kurokawa, M., Sato, K. and Fissore, R.A. (2004): Mammalian fertilization: from sperm factor to phospholipase C ζ . *Biol. Cell.*, 96, 37–45.
 - 51) Swann, K., Saunders, C.M., Rogers, N.T. and Lai, F.A. (2006): PLC ζ (zeta): a sperm protein that triggers Ca²⁺ oscillations and egg activation in mammals. *Seminars in Cell & Dev. Biol.*, 17, 264–273.
 - 52) Jones, K.T., Cruttwell, C., Parrington, J. and Swann,

- K. (1998): 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.
- 53) Parrington, J., Lai, F.A. and Swann, K. (2000): 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.
- 54) Rice, A., Parrington, J., Jones, K.T. and Swann, K. (2000): 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.
- 55) Wu, H., Smyth, J., Luzzi, V., Fukami, K., Takenawa, T., Black, S.L., Allbritton, N.L. and Fissore, R.A. (2001): Sperm factor induces intracellular free calcium oscillations by stimulating the phosphoinositide pathway. *Biol. Reprod.*, 64, 1338–1349.
- 56) Parrington, J., Swann, K., Shevchenko, V.I., Sesay, A.K. and Lai, F.A. (1996): Calcium oscillations in mammalian eggs triggered by a soluble sperm protein. *Nature*, 379, 364–368.
- 57) Shevchenko, V., Hogben, M., Ekong, R., Parrington, J. and Lai, F.A. (1998): The human glucosamine-6-phosphate deaminase gene: cDNA cloning and expression, genomic organization and chromosomal localization. *Gene*, 216, 31–38.
- 58) Sette, C., Paronetto, M.P., Barchi, M., Bevilacqua, A., Geremia, R. and Rossi, P. (2002): Tr-kit-induced resumption of the cell cycle in mouse eggs requires activation of a Src-like kinase. *EMBO J.*, 21, 5386–5395.
- 59) Kuo, R.C., Baxter, G.T., Thompson, S.H., Stricker, S.A., Patton, C., Bonaventura, J. and Epel, D. (2000): NO is necessary and sufficient for egg activation at fertilization. *Nature*, 406, 633–636.
- 60) Hyslop, L.A., Carroll, M., Nixon, V.L., McDougall, A. and Jones, K.T. (2001): 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.
- 61) Ito, M., Shikano, T., Oda, S., Horiguchi, T., Tanimoto, S., Awaji, T., Mitani, H. and Miyazaki, S. (2008): 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.
- 62) Yoneda, A., Kashima, M., Yoshida, S., Terada, K., Nakagawa, S., Sakamoto, A., Hayakawa, K., Suzuki, K., Ueda, J. and Watanabe, T. (2006): Molecular cloning, testicular postnatal expression, and oocyte-activating potential of porcine phospholipase Czeta. *Reproduction*, 132, 393–401.
- 63) Cox, L.J., Larman, M.G., Saunders, C.M., Hashimoto, K., Swann, K. and Lai, F.A. (2002): Sperm phospholipase Czeta from humans and cynomolgus monkeys triggers Ca^{2+} oscillations, activation and development of mouse oocytes. *Reproduction*, 124, 611–623.
- 64) Ross, P.J., Beyhan, Z., Iager, A.E., Yoon, S.Y., Malcuit, C., Schellander, K., Fissore, R.A. and Cibelli, J.B. (2008): Parthenogenetic activation of bovine oocytes using bovine and murine phospholipase C zeta. *BMC Dev. Biol.*, 8, 16.
- 65) Coward, K., Ponting, C.P., Chang, H.Y., Hibbitt, O., Savolainen, P., Jones, K.T. and Parrington, J. (2005): Phospholipase Czeta, the trigger of egg activation in mammals, is present in a non-mammalian species. *Reproduction*, 130, 157–163.
- 66) Mizushima, S., Takagi, S., Ono, T., Atsumi, Y., Tsukada, A., Saito, N. and Shimada, K. (2009): Phospholipase Czeta mRNA expression and its potency during spermatogenesis for activation of quail oocyte as a sperm factor. *Mol. Reprod. Dev.*, 76, 1200–1207.
- 67) Coward, K., Ponting, C.P., Zhang, N., Young, C., Huang, C.J., Chou, C.M., Kashir, J., Fissore, R.A. and Parrington, J. (2011): Identification and functional analysis of an ovarian form of the egg activation factor phospholipase C zeta (PLC ζ) in pufferfish. *Mol. Reprod. Dev.*, 78, 48–56.
- 68) Knott, J.G., Kurokawa, M., Fissore, R.A., Schultz, R.M. and Williams, C.J. (2005): Transgenic RNA interference reveals role for mouse sperm phospholipase Czeta in triggering Ca^{2+} oscillations during fertilization. *Biol. Reprod.*, 72, 992–996.
- 69) Young, C., Grasa, P., Coward, K., Davis, L.C. and Parrington, J. (2009): Phospholipase C zeta undergoes dynamic changes in its pattern of localization in sperm during capacitation and the acrosome reaction. *Fertil. Steril.*, 91, 2230–2242.
- 70) Nakai, M., Ito, J., Sato, K., Noguchi, J., Kaneko, H., Kashiwazaki, N. and Kikuchi, K. (2011): Pre-treatment of sperm reduces success of ICSI in the pig. *Reproduction*, 142, 285–293.
- 71) Yoon, S.Y. and Fissore, R.A. (2007): Release of phospholipase C zeta and $[Ca^{2+}]_i$ oscillation-inducing activity during mammalian fertilization. *Reproduction*, 134, 695–704.
- 72) Yoshida, N., Amanai, M., Fukui, T., Kajikawa, E., Brahmajosyula, M., Iwahori, A., Nakano, Y., Shoji, S., Diebold, J., Hessel, H., Huss, R. and Perry, A.C. (2007): Broad, ectopic expression of the sperm protein PLCZ1 induces parthenogenesis and ovarian tumours in mice. *Development*, 134, 3941–3952.
- 73) Ito, J., Yoon, S.Y., Lee, B., Vanderheyden, V., Vermassen, E., Wojcikiewicz, R., Alfandari, D., De Smedt, H., Parys, J.B. and Fissore, R.A. (2008): Inositol 1,4,5-trisphosphate receptor 1, a widespread Ca^{2+} channel, is a novel substrate of polo-like kinase 1 in eggs. *Dev. Biol.*, 320, 402–413.
- 74) Ito, J., Yoshida, T., Kasai, Y., Wakai, T., Parys, J.B., Fissore, R.A. and Kashiwazaki, N. (2010): Phosphorylation of inositol 1,4,5-triphosphate receptor 1 during in vitro maturation of porcine oocytes. *Anim. Sci. J.*, 81, 34–41.
- 75) Miyazaki, S., Yuzaki, M., Nakada, K., Shirakawa, H., Nakanishi, S., Nakade, S. and Mikoshiba, K. (1992): Block of Ca^{2+} wave and Ca^{2+} oscillation by antibody to

- the inositol 1,4,5-trisphosphate receptor in fertilized hamster eggs. *Science*, 257, 251–255.
- 76) Lee, B., Vermassen, E., Yoon, S.Y., Vanderheyden, V., Ito, J., Alfandari, D., De Smedt, H., Parys, J.B. and Fissore, R.A. (2006): Phosphorylation of IP₃R1 and the regulation of [Ca²⁺]_i responses at fertilization: a role for the MAP kinase pathway. *Development*, 133, 4355–4365.
- 77) De Smedt, H., Missiaen, L., Parys, J.B., Bootman, M.D., Mertens, L., Van Den Bosch, L. and Casteels, R. (1994): Determination of relative amounts of inositol trisphosphate receptor mRNA isoforms by ratio polymerase chain reaction. *J. Biol. Chem.*, 269, 21691–21698.
- 78) Taylor, C.W., Genazzani, A.A. and Morris, S.A. (1999): Expression of inositol triphosphate receptors. *Cell Calcium*, 26, 237–251.
- 79) Fissore, R.A., Longo, F.J., Anderson, E., Parys, J.B. and Ducibella, T. (1999): Differential distribution of inositol trisphosphate receptor isoforms in mouse oocytes. *Biol. Reprod.*, 60, 49–57.
- 80) He, C.L., Damiani, P., Ducibella, T., Takahashi, M., Tanzawa, K., Parys, J.B. and Fissore, R.A. (1999): Isoforms of the inositol 1,4,5-trisphosphate receptor are expressed in bovine oocytes and ovaries: the type-1 isoform is down-regulated by fertilization and by injection of adenophostin A. *Biol. Reprod.*, 61, 935–943.
- 81) Parrington, J., Brind, S., De Smedt, H., Gangeswaran, R., Lai, F.A., Wojcikiewicz, R. and Carroll, J. (1998): Expression of inositol 1,4,5-trisphosphate receptors in mouse oocytes and early embryos: the type I isoform is upregulated in oocytes and downregulated after fertilization. *Dev. Biol.*, 203, 451–461.
- 82) Turner, R.S., Raynor, R.L., Mazzei, G.J., Girard, P.R. and Kuo, J.F. (1984): Developmental studies of phospholipid-sensitive Ca²⁺-dependent protein kinase and its substrates and of phosphoprotein phosphatases in rat brain. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S.A.*, 81, 3143–3147.
- 83) Stith, B.J., Goalstone, M., Silva, S. and Jaynes, C. (1993): Inositol 1,4,5-trisphosphate mass changes from fertilization through first cleavage in *Xenopus laevis*. *Mol. Biol. Cell*, 4, 435–443.
- 84) Kouchi, Z., Fukami, K., Shikano, T., Oda, S., Nakamura, Y., Takenawa, T. and Miyazaki, S. (2004): Recombinant phospholipase C ζ has high Ca²⁺ sensitivity and induces Ca²⁺ oscillations in mouse eggs. *J. Biol. Chem.*, 279, 10408–10412.
- 85) Chiba, K., Kado, R.T. and Jaffe, L.A. (1990): Development of calcium release mechanisms during starfish oocyte maturation. *Dev. Biol.*, 140, 300–306.
- 86) Fujiwara, T., Nakada, K., Shirakawa, H. and Miyazaki, S. 1993. Development of inositol trisphosphate-induced calcium release mechanism during maturation of hamster oocytes. *Dev. Biol.*, 156, 69–79.
- 87) Mehlmann, L.M. and Kline, D. (1994): Regulation of intracellular calcium in the mouse egg: calcium release in response to sperm or inositol trisphosphate is enhanced after meiotic maturation. *Biol. Reprod.*, 51, 1088–1098.
- 88) Terasaki, M., Runft, L.L. and Hand, A.R. (2001): Changes in organization of the endoplasmic reticulum during *Xenopus* oocyte maturation and activation. *Mol. Biol. Cell*, 12, 1103–1116.
- 89) Wakai, T., Vanderheyden, V., Yoon, S.Y., Cheon, B., Zhang, N., Parys, J.B. and Fissore, R.A. (2012): Regulation of inositol 1,4,5-trisphosphate receptor function during mouse oocyte maturation. *J. Cell. Physiol.*, 227, 705–717.
- 90) Carroll, J. and Swann, K. (1992): Spontaneous cytosolic calcium oscillations driven by inositol trisphosphate occur during in vitro maturation of mouse oocytes. *J. Biol. Chem.*, 267, 11196–11201.
- 91) Jones, K.T., Carroll, J., Merriman, J.A., Whittingham, D.G. and Kono, T. (1995): Repetitive sperm-induced Ca²⁺ transients in mouse oocytes are cell cycle dependent. *Development*, 121, 3259–3266.
- 92) Kume, S., Yamamoto, A., Inoue, T., Muto, A., Okano, H. and Mikoshiba, K. (1997): Developmental expression of the inositol 1,4,5-trisphosphate receptor and structural changes in the endoplasmic reticulum during oogenesis and meiotic maturation of *Xenopus laevis*. *Dev. Biol.*, 182, 228–239.
- 93) Jones, K.T., Carroll, J. and Whittingham, D.G. (1995): Ionomycin, thapsigargin, ryanodine, and sperm induced Ca²⁺ release increase during meiotic maturation of mouse oocytes. *J. Biol. Chem.*, 270, 6671–6677.
- 94) Day, M.L., McGuinness, O.M., Berridge, M.J. and Johnson, M.H. (2000): Regulation of fertilization-induced Ca²⁺ spiking in the mouse zygote. *Cell Calcium*, 28, 47–54.
- 95) Marangos, P., FitzHarris, G. and Carroll, J. (2003): Ca²⁺ oscillations at fertilization in mammals are regulated by the formation of pronuclei. *Development*, 130, 1461–1472.
- 96) Jellerette, T., Kurokawa, M., Lee, B., Malcuit, C., Yoon, S.Y., Smyth, J., Vermassen, E., De Smedt, H., Parys, J.B. and Fissore, R.A. (2004): Cell cycle-coupled [Ca²⁺]_i oscillations in mouse zygotes and function of the inositol 1,4,5-trisphosphate receptor-1. *Dev. Biol.*, 274, 94–109.
- 97) Tombes, R.M., Simerly, C., Borisy, G.G. and Schatten, G. (1992): Meiosis, egg activation, and nuclear envelope breakdown are differentially reliant on Ca²⁺, whereas germinal vesicle breakdown is Ca²⁺ independent in the mouse oocyte. *J. Cell Biol.*, 117, 799–811.
- 98) Mehlmann, L.M., Terasaki, M., Jaffe, L.A. and Kline, D. (1995): Reorganization of the endoplasmic reticulum during meiotic maturation of the mouse oocyte. *Dev. Biol.*, 170, 607–615.
- 99) Shiraiishi, K., Okada, A., Shirakawa, H., Nakanishi, S., Mikoshiba, K. and Miyazaki, S. (1995): Developmental changes in the distribution of the endoplasmic reticulum and inositol 1,4,5-trisphosphate receptors and the spatial pattern of Ca²⁺ release during maturation of hamster oocytes. *Dev. Biol.*, 170, 594–606.

- 100) Mehlmann, L.M., Mikoshiba, K. and Kline, D. (1996): Redistribution and increase in cortical inositol 1,4,5-trisphosphate receptors after meiotic maturation of the mouse oocyte. *Dev. Biol.*, 180, 489–498.
- 101) Sun, L., Haun, S., Jones, R.C., Edmondson, R.D. and Machaca, K. (2009): Kinase-dependent regulation of inositol 1,4,5-trisphosphate-dependent Ca^{2+} release during oocyte maturation. *J. Biol. Chem.*, 284, 20184–20196.
- 102) Vanderheyden, V., Wakai, T., Bultynck, G., De Smedt, H., Parys, J.B. and Fissore, R.A. (2009): Regulation of inositol 1,4,5-trisphosphate receptor type 1 function during oocyte maturation by MPM-2 phosphorylation. *Cell. Calcium*, 46, 56–64.
- 103) DeSouza, N., Reiken, S., Ondrias, K., Yang, Y.M., Matkovich, S. and Marks, A.R. (2002): Protein kinase A and two phosphatases are components of the inositol 1,4,5-trisphosphate receptor macromolecular signaling complex. *J. Biol. Chem.*, 277, 39397–39400.
- 104) Khan, M.T., Wagner, L., Yule, D.I., Bhanumathy, C. and Joseph, S.K. (2006): Akt kinase phosphorylation of inositol 1,4,5-trisphosphate receptors. *J. Biol. Chem.*, 281, 3731–3737.
- 105) Vermassen, E., Fissore, R.A., Kasri, N.N., Vanderheyden, V., Callewaert, G., Missiaen, L., Parys, J.B. and De Smedt, H. (2004): Regulation of the phosphorylation of the inositol 1,4,5-trisphosphate receptor by protein kinase C. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 319, 888–893.
- 106) Koga, T., Yoshida, Y., Cai, J.Q., Islam, M.O. and Imai, S. (1994): Purification and characterization of 240-kDa cGMP-dependent protein kinase substrate of vascular smooth muscle. Close resemblance to inositol 1,4,5-trisphosphate receptor. *J. Biol. Chem.*, 269, 11640–11647.
- 107) Ferris, C.D., Haganir, R.L., Bredt, D.S., Cameron, A.M., and Snyder, S.H. (1991): Inositol trisphosphate receptor: phosphorylation by protein kinase C and calcium calmodulin-dependent protein kinases in reconstituted lipid vesicles. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S.A.*, 88, 2232–2235.
- 108) Zhu, D.M., Tekle, E., Chock, P.B. and Huang, C.Y. (1996): Reversible phosphorylation as a controlling factor for sustaining calcium oscillations in HeLa cells: Involvement of calmodulin-dependent kinase II and a calyculin A-inhibitable phosphatase. *Biochemistry*, 35, 7214–7223.
- 109) Jayaraman, T., Ondrias, K., Ondriasova, E. and Marks, A.R. (1996): Regulation of the inositol 1,4,5-trisphosphate receptor by tyrosine phosphorylation. *Science*, 272, 1492–1494.
- 110) Yokoyama, K., Su Ih, I.H., Tezuka, T., Yasuda, T., Mikoshiba, K., Tarakhovskiy, A. and Yamamoto, T. (2002): BANK regulates BCR-induced calcium mobilization by promoting tyrosine phosphorylation of IP_3 receptor. *EMBO J.*, 21, 83–92.
- 111) Singleton, P.A. and Bourguignon, L.Y. (2002): CD44v10 interaction with Rho-kinase (ROK) activates inositol 1,4,5-trisphosphate (IP_3) receptor-mediated Ca^{2+} signaling during hyaluronan (HA)-induced endothelial cell migration. *Cell Motil. Cytoskeleton.*, 53, 293–316.
- 112) Malathi, K., Kohyama, S., Ho, M., Soghoian, D., Li, X., Silane, M., Berenstein, A. and Jayaraman, T. (2003): Inositol 1,4,5-trisphosphate receptor (type 1) phosphorylation and modulation by Cdc2. *J. Cell. Biochem.*, 90, 1186–1196.
- 113) Bai, G.R., Yang, L.H., Huang, X.Y. and Sun, F.Z. (2006): Inositol 1,4,5-trisphosphate receptor type 1 phosphorylation and regulation by extracellular signal-regulated kinase. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 348, 1319–1327.
- 114) Matson, S. and Ducibella, T. (2007): The MEK inhibitor, U0126, alters fertilization-induced $[Ca^{2+}]_i$ oscillation parameters and secretion: differential effects associated with in vivo and in vitro meiotic maturation. *Dev. Biol.*, 306, 538–548.
- 115) Funahashi, H., Cantley, T.C., Stumpf, T.T., Terlouw, S.L. and Day, B.N. (1994): In vitro development of in vitro-matured porcine oocytes following chemical activation or in vitro fertilization. *Biol. Reprod.*, 50, 1072–1077.
- 116) Ito, J. and Shimada, M. (2005): 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.
- 117) Amano, T., Mori, T. and Watanabe, T. (2004): Activation and development of porcine oocytes matured in vitro following injection of inositol 1,4,5-trisphosphate. *Anim. Reprod. Sci.*, 80, 101–112.
- 118) Wang, W.H., Abeydeera, L.R., Prather, R.S. and Day, B.N. (1998): Functional analysis of activation of porcine oocytes by spermatozoa, calcium ionophore, and electrical pulse. *Mol. Reprod. Dev.*, 51, 346–353.
- 119) Kishikawa, H., Wakayama, T. and Yanagimachi, R. (1999): Comparison of oocyte-activating agents for mouse cloning. *Cloning*, 1, 153–159.
- 120) Sano, D., Yamamoto, Y., Samejima, T., Seita, Y., Inomata, T., Ito, J. and Kashiwazaki, N. (2009): 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.
- 121) Ozil, J.P., Banrezes, B., Toth, S., Pan, H. and Schultz, R.M. (2006): Ca^{2+} oscillatory pattern in fertilized mouse eggs affects gene expression and development to term. *Dev. Biol.*, 300, 534–544.