

領域略称名：動植物アロ認証
領域番号：3101

平成23年度科学研究費補助金「新学術領域研究
(研究領域提案型)」に係る研究経過等の報告書

「動植物に共通するアロ認証機構の解明」

(領域設定期間)
平成21年度～平成25年度

平成23年6月

領域代表者 名古屋大学・大学院理学研究科・教授・澤田均

目次

1. 研究領域の目的及び概要	1
2. 研究の進展状況	2
3. 研究を推進する上での問題点と今後の対応策	3
4. 主な研究成果（発明および特許を含む）	3
5. 研究成果の公表の状況	10
(1) 主な論文等一覧について	10
(2) ホームページについて	18
(3) 公開発表について	18
(4) 「国民との科学・技術対話」について	24
6. 研究組織と各研究項目の連携状況	25
7. 研究費の使用状況（設備の有効活用、研究費の効果的使用を含む）	27
8. 今後の研究領域の推進方策	28
9. 総括班評価者による評価の状況	29

1. 研究領域の目的及び概要

研究領域名：動植物に共通するアロ認証機構の解明（略称：動植物アロ認証）

研究期間：平成21年度～平成25年度

領域代表者所属・職・氏名：名古屋大学・大学院理学研究科・教授・澤田 均

補助金交付額（年度別の領域全体の直接経費）：平成21年度141,800千円、平成22年度239,100千円、平成23年度232,300千円、平成24年度246,400千円（査定額）、平成25年度229,900千円（査定額）（公募研究費査定額：平成24年度：100,000千円、平成25年度：100,000千円）

有性生殖はアロ（同種異個体）の関係にある細胞（配偶子）が融合し、遺伝的に多様な子孫を残す仕組みである。これには、遺伝的に異なる配偶子を選別するアロ認識機構と、選ばれた雌雄の配偶子が膜融合する配偶子認識機構が含まれる。本領域では、この両認識機構を統合して「アロ認証」と呼んでいる。これまでアロ認証の仕組みは生物種でかなり異なると考えられ、個別に研究が進められてきた。しかし、領域代表が世界に先駆けて最近発見した原索動物のアロ認識機構（雌雄同体のホヤが自家受精しない機構）が被子植物における自家不和合性の機構（自己の花粉が雌蕊についても自家受精しない機構）に酷似し、動植物に共通の原理に基づくことが示されたこと、さらに、植物の配偶子膜融合に必須な遺伝子（*GCSI*）が動物にも広く存在することが明らかにされたことから、動植物の枠を越えたアロ認証研究領域の融合とその中核原理の解明が求められている。そこで本領域研究では、世界をリードする本邦の動植物研究者が一堂に会して、全く新しい融合研究領域を創成し、『動植物に共通するアロ認証機構』の解明を目指す。

本領域研究は、9名の計画班員（代表者7名、分担者2名）により平成21年度から開始され、平成22年度からは23名の公募班員が参画し、活発な領域内研究活動が展開されている。計画班員は、海産無脊椎動物（3名）、哺乳動物（3名）、高等植物（3名）を対象とする研究者により構成されており、公募班員は、脊椎動物（7名）、海産無脊椎動物（5名）、高等植物（5名）を対象とする研究者に加えて、計画班ではカバー出来なかった下等植物・単細胞生物を対象とする研究6名も参画し、幅広いアロ認証領域をカバーしている。研究分野は、「アロ認識機構」、「配偶子接近・相互認識機構」、「細胞接着・膜融合機構」、「新技術開発とアロ認証統合理解」に分類され、相互に連携をとりながら、共同研究や領域内の研究活動を推進する。

2. 研究の進展状況

領域内の共同研究ならびに研究の連携体制は非常に順調に進展している。本融合領域の創成により、動植物のアロ認証研究分野の研究や領域内共同研究、さらに研究連携関係は飛躍的に進展した。この融合領域を創成したことの意義は非常に大きい。

【アロ認証機構】原索動物ホヤ類は雌雄同体で、精子と卵をほぼ同時に放出するが、カタユウレイボヤ等ではアロの認識があり自家受精しない。領域代表は、カタユウレイボヤを用い、第2染色体の Locus A と第7染色体の Locus B に存在する2対の遺伝子（卵側のリガンド *v-Themis-A/B* とそれを識別する精子受容体 *s-Themis-A/B*）が、アロ認識を担うことを見出している。本領域研究では、この研究をさらに発展させた。まず、*s/v-Themis-A/B* のアレルの配列を多数決定して系統樹解析を行い、分子進化に関する知見を得た。さらに、Locus B には第3のアロ認識分子対 (*s/v-Themis-C*) が存在することを明らかにした。ホヤ精子が自己卵の卵黄膜に接着後、細胞内 Ca^{2+} 濃度が急上昇し、それがアロ認識シグナルとなっていることが、領域内共同研究により明確に示された。ケシ科植物では、細胞内の Ca^{2+} 濃度上昇が花粉細胞におけるアロ認識シグナルである。細胞内シグナルにおいても、動植物で共通であることが示された。アブラナ科植物においては、自家不和合性に改変したシロイヌナズナを用いた解析が進み、 Ca^{2+} 濃度上昇とアクチンの脱重合が自家不和合シグナルになっていることが明らかとなった。これは、アブラナ科とケシ科におけるアロ認識共通原理の発見とも言える。オオムギでは、アロ認識分子のアレル特異性測定方法の開発が進んでいる。マボヤに *s/v-Themis* が存在するか否かは不明であったが、マボヤのゲノムプロジェクトを開始し、そのドラフト配列を決定して解析を進めた。その結果、マボヤにも *v-Themis* ホモログが存在する可能性が示された。今後は、このゲノム配列を汎用性の高いデータベースとして構築し、班員に公開して共有化を図る。

【配偶子接近・相互認識機構】ホヤ精子走化性因子の精子側の受容体が同定された。精子プロテアーゼの受精における役割に関する理解が深まった。哺乳類では、ADAM3 が精子の卵透明帯への結合に重要であることが知られているが、子宮輸卵管結合部 (UTJ) への精子の結合にも重要と考えられている。最近、その ADAM3 結合パートナーも明らかになってきた。精子プロテアソームは、ホヤのみならず哺乳類や鳥類でも受精時に機能することが示唆され、共通原理の理解が深まっている。鳥類では、精子貯蔵管に精子を蓄えているが、排卵ホルモン制御下での精子の貯蔵と放出のしくみが解明されつつある。また、卵保護層タンパク質の立体構造が最近解明され、精子卵相互作用部位に関する詳細な分子レベルでの解析も進展した。

【細胞接着・膜融合機構】マウスの卵側の膜融合因子 CD9 の機能領域が解析され、C 末端の重要性が明らかになってきた。マウス精子の融合因子である IZUMO1 は、精子 ACE3 と相互作用することが明らかにされた。また ACE3 のノックアウトマウスの解析から、ACE3 は IZUMO1 の局在性の維持に関与することが示された。一方、植物の配偶子膜融合に必須の雄性配偶子膜タンパク質 GCS1 は、マラリア原虫の受精においても重要な機能を果たすが、今回その機能領域が解析され、N 末端の細胞外領域が重要であることがわかってきた。植物では、GCS1 に加えて Y47 も膜融合に関与することが示唆された。ネマトステラやゼニゴケの精子にも GCS1 が発現していることが確認され、動植物共通の膜融合機構が浮き彫りになって来た。

【新技術開発とアロ認証統合理解】ホヤ遺伝子改変方法と遺伝子破壊方法の開発に関して、進展がみられた。ライブイメージングに関する技術開発に関しても進展があった。哺乳類の受精過程に関する動画撮影に成功し、先体反応開始時期に関する従来の説を否定する新説を提唱した。受精時の卵の活性化機構に関しては、従来は動物種によってかなり異なると理解されていたが、その中核原理に関する理解が進んだ。また、受精時におけるオルガネラの構造変化と機能解析の研究が進み、動植物共通のアロ認証機構の統合理解が深まった。さらに、精子と卵という特殊な細胞に進化する以前の同形配偶子におけるアロ認識や生殖細胞の分化や進化に関しても、理解が深まって来た。

3. 研究を推進する上での問題点と今後の対応策

領域代表の研究室でホヤの受精研究を行っていた研究協力者が、急病のため平成 21 年 2 月から約 2 年間病気療養し、平成 23 年 2 月より復職した。これにより領域代表の研究計画が多少変更となった。プロテオーム解析と分子生物学を専門とする山田力志が、徳島大学から領域代表の研究室に平成 21 年 10 月から加わり、研究協力体制が整った。山田は LC/MS/MS 解析に関する経験が豊富で、領域代表の研究はもとより領域内の共同研究にも積極的に参画し、領域内の共同研究の推進にも貢献している。現在は、公募班員として独自の研究も展開しているが、各研究プロジェクトとの共同研究も順調に進んでいる。

その他の異動に関しては以下の通りである。公募班員の大和は平成 22 年 4 月に、京都大学から近畿大学に転任している。計画班員の森は、平成 23 年 4 月に、理研から早稲田大学に転任した。また、公募班員の井川は、奈良先端大研究員から理研研究員に移り、次いで平成 23 年 4 月より千葉大学園芸学研究科の助教に着任している。公募班員の平井は平成 23 年 3 月に自治医科大学から群馬大学に転任している。いずれも研究環境面での障害はなく、当初の研究計画を遂行する上で問題は生じていない。

LC/MS/MS を用いたプロテオーム解析は、領域研究全体を推進する上で非常に有用であるが、高額なため、当初は機器を購入せずに業者への依頼分析でまかなう予定であった。しかし、実際には、汎用性が極めて高い機器であることがわかり、研究の効率化のために領域代表の研究室で機器をリース契約して設置し利用することにした。この LC/MS/MS は現在も毎日稼働しており、領域内のプロテオーム解析に非常に貢献している。

研究環境面では、東日本大震災による被災の影響が多少出ている。女川湾では、カタユウレイボヤが非常に大きく育つので、毎年女川にある東北大学農学研究科附属の教育研究センター（臨海実験所）にホヤの採集と、精子・卵の大量調製のためにでかけている。しかし、昨年（平成 22 年）は、夏期海水温が非常に上昇し生存個体数が激減したため、平成 23 年春にローブを大量に女川湾に吊して、カタユウレイボヤの大量養殖と採集を行う予定であった。しかし、東日本大震災により、上記センターは壊滅的被害をうけ、澤田、稲葉、柴、吉田、山田の今年度の実験計画は変更を余儀なくされている。今後は、東京大学三崎臨海実験所や筑波大学下田臨海実験センター、さらに舞鶴にあるバイオリソースセンターでホヤを多めに飼育してもらい、不足分を補うことで対応する。しかし、女川湾での養殖条件には及ばないことは事実である。

宮城教育大の出口研究室では、刺胞動物ネマトステラを飼育して生殖実験を行っている。ネマトステラ精子における GCS1 の発現と受精における GCS1 の役割について、森、出口、澤田、山田で、共同研究を行っている。平成 23 年 3 月末に受精実験を行う予定で、それに合わせて動物の飼育と抗体の調製を進めてきたが、大地震により出口研究室が被災し、顕微鏡を含む複数の機器がダメージを受けた。また長期間の停電により、冷凍冷蔵庫やインキュベーターが使用できなくなり、貴重なサンプルや実験動物の飼育保管が不可能となった。現在、生き残ったネマトステラを飼育し直しており、ある程度の個体数が確保できた段階で、受精実験を再開する予定である。宮城教育大の出口研究室のみならず、筑波大の漆原や馬場の研究室も地震による被害を受けている。しかし、今後研究を行う上での大きな障害とはなっていない。

4. 主な研究成果（発明および特許を含む）

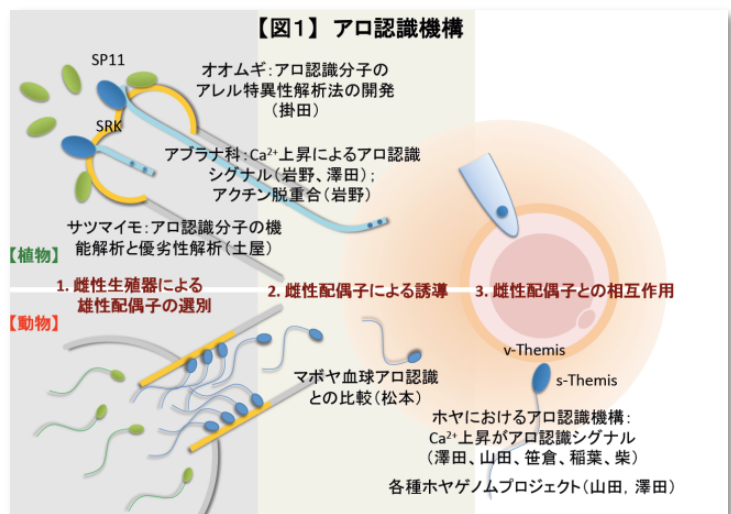
【アロ認識機構】

ホヤ類は一般に雌雄同体で、生殖時期には、精子と卵をほぼ同時に放出するが、マボヤやカタユウレイボヤを含む多くの種において、自家受精は回避されている。カタユウレイボヤでは、精子が卵黄膜に結合する段階で自己非自己識別が行われ、自己と認識されると卵黄膜から離脱するか静止

状態になり受精が阻止される。このホヤにおける自家不稔性（ここでは「アロ認識」として総称）は、Thomas Hunt Morganが前世紀初頭に発見して以来、動物学における100年の謎とされてきたが、領域代表は、順遺伝学的な手法と卵黄膜プロテオーム解析により、第2染色体と第7染色体に独立に存在する遺伝子ペア（s/v-Themis-Aとs/v-Themis-B）がアロ認識に関わることを明らかにした（澤田、山田：Science（2008））。今回、卵側のリガンド分子v-Themis-Aと-Bの両分子の複数のアレルが卵黄膜上に確かに存在していることを、詳細な卵黄膜プロテオーム解析で明確に示した（山田、澤田：JBC（2009））。また、この解析により、v-Themis-Bのアレルが1個体の卵に3種類存在することが判明し、v-Themis-B遺伝子が2種類存在する可能性が考えられた。そこで、BACライブラリーからLocus BのゲノムDNAをクローニングし、そのDNA配列を決定しなおした。その結果、Locus Bには新しいThemis-B様遺伝子（s/v-Themis-Cと命名）が存在することが判明した。しかもそのv-Themis-C特異的なアレルが卵黄膜に複数存在することが判明し、確かにv-Themis-Cもアロ認識に関与する可能性が示された。この結果は、従来2遺伝子で支配されていると考えられていたカタウレイボヤのアロ認識分子は、実はs/v-Themis-A, B, Cの3ペアであることを示唆している（澤田、山田、学会発表）。v-Themisとs-Themisとのアレル特異的相互作用を考えると、精子は自己卵に対する親和性の方が高いと予想されるが、実際には非自己卵に対する親和性の方が高く見える。従って、その結合を支える分子が存在することが予想される。今回、卵黄膜側の主要成分であるCiVC57と精子膜ラフト画分に存在するGPIアンカー型タンパク質CiUrafinが生化学的にも相互作用しうることを見出し、受精の際にも非自己卵の卵黄膜への精子の結合に関与するのではないかと考えている（澤田、山田：Mol. Reprod. Dev.（2011））。ホヤでは精子が自己卵の卵黄膜に接着後、細胞内Ca²⁺濃度の上昇が起り、それがアロ認識シグナルとなることが、Ca²⁺イメージング技術を用いた共同研究により初めて明らかにされた（澤田、稲葉、柴、山田：学会発表、論文投稿準備中）。これは、ケシ科やアブラナ科植物における自家不和合性機構と同一原理に基づいている。ケシ科植物においては、花粉が自己の雌蕊に接すると花粉細胞内でCa²⁺濃度が上昇し、カスパーゼ様酵素が活性化されてアポトーシスを誘導する。ホヤ精子の場合、アポトーシスを起こすか否かは不明であるが、自己精子は、Ca²⁺濃度の著しい上昇の後に卵黄膜から離脱するか卵黄膜上で静止することが確認されており、細胞死を起こしている可能性も考えられる。動植物共通のアロ認識機構の存在を暗示する結果である（澤田、岩野：総説投稿中）。今後は、これらの細胞内シグナルについてアポトーシスの可能性を含めて詳細に検討する。

ホヤにおけるアロ認識機構を、トランスジェニック技術やノックダウンの技術を用いて証明する試みも進行中である（笹倉、山田、澤田）。これらの手法は、笹倉が開発した手法であるが、本領域では、その技術をホヤのアロ認識機構の研究に活用することを目指している。まず、Themis-AとThemis-Bのアレル既知の系統を飼育維持し、それに非自己のアロ認識遺伝子を導入する実験と、自己のアロ認識遺伝子を破壊する実験を計画している。しかし、自家受精により近交系を作出する計画では、近交弱勢が著しく、4世代で死滅する場合が多い。従って、ホヤの系統作製・維持に関する実験計画は難航している。一方、最近特定遺伝子を破壊する新しい方法が開発されつつあるので、本プロジェクトにおいても、その手法の活用を検討している。それが成功すれば、遺伝子改変ホヤの作出も特異的で容易であると思われる（山田、笹倉）。

原素動物ホヤ類は、雌雄同体であるが、多くの種は自家不稔性を示す。しかし、



自家受精可能な種も存在する。様々なホヤにおけるアロ認識分子を同定し、その進化機構を探る研究も進められている（山田）。マボヤでは、EGF リピートからなる卵黄膜タンパク質 HrVC70 がアロ認識分子であると考えられているが、カタユウレイボヤのアロ認識分子である s/v-Themis 遺伝子が存在するか否かは不明であった。今回、マボヤのゲノム DNA 配列が決定されたことから、Themis 遺伝子の探索を行ったところ、そのホモログが存在することが明らかになった。しかし、カタユウレイボヤの遺伝子とはかなり異なっていることも示された。他の自家和合性のホヤのゲノム構造の解読も進んでおり、アロ認識分子の進化についても解析可能な段階になってきた（山田）。

アブラナ科植物に関しては、今までアブラナを用いた解析がなされてきたが、遺伝子改変等の手法が活用出来ない点に問題があった。そこで、今回シロイヌナズナを用いた分子細胞生物学的研究に着手した（岩野）。シロイヌナズナは自家和合種であるが、それに自家不和合性遺伝子を導入した自家不和合モデル植物を作出し、自家・他家受粉時の Ca^{2+} イメージングを行った。その結果、乳頭細胞における自家受粉時特異的 Ca^{2+} 上昇を見出し、さらに乳頭細胞プロトプラストを用いた *in vitro* アッセイ系により、この上昇が花粉側不和合因子 SP11 単独で誘起されることを明らかにした（岩野：一部学会発表）。今後、上記アッセイ系を用いた薬理的解析と乳頭細胞特異的発現遺伝子群のマイクロアレイ解析を行うことにより、 Ca^{2+} を介したシグナル伝達系の解明を目指す。また、他の被子植物やホヤのアロ認識反応との共通性についても解析を進める予定である（岩野、澤田：総説投稿中）。

オオムギ野生種 (*Hordeum bulbosum*) は、独立二遺伝子座 (SおよびZ) 支配の自家不和合性を示す点で、カタユウレイボヤのアロ認識機構と類似している。本研究では、このアロ認識特異性決定因子の一つで、雌ずい側S遺伝子の有力候補であるHPS10 (*Hordeum Pistil S-specific 10*) が真のアロ認識分子であることを証明する実験系の開発を行っている。平成22年度は、*in vitro* 花粉培養系を用いて解析を行い、S₃-HPS10-GST融合タンパク質は、S₃花粉に対するハプロタイプ特異的な発芽阻害効果を示すことを明らかにした。しかし、ハプロタイプによっては必ずしも明瞭な特異性が見られないものもあり、アッセイ系の更なる改良が今後の課題である。一方、今回、HPS10遺伝子を一過性に発現抑制する新しい方法を考案し、その予備実験を行ったところ、非常に良好な結果を得た。今後オオムギ野生種の開花前後の雌ずいに、この新手法を適用し、HPS10遺伝子の発現抑制とそれに続く受粉反応を解析することにより、S決定因子の機能証明を行う予定である（掛田）。

サツマイモ野生種 (*Ipomoea trifida*) は、アブラナ科植物 (*Brassica*) と同様の胞子体型自家不和合性 (SSI) を示すが、その反応は迅速かつ厳密である。昨年度は、*I.trifida* のSSIが単一の複対立遺伝子座 (S遺伝子座) により制御されていること、更に、当該遺伝子座上に生殖器官特異的に発現し多型性のあるS候補遺伝子AB2 (雄側)、SE2, SEA (雌側) が存在することを見出している。これらの遺伝子がサツマイモにおける真のアロ認識分子であるか否かに関して、現在詳細な解析を進めている（土屋）。

マボヤでは、精子卵相互作用に加えて、血球間においても自己と非自己の認識反応 (contact reaction; 接触反応) がある。この接触反応と受精におけるアロ認識機構が同一原理に基づくかは不明である。今回、接触反応を特異的に阻害する単クローン抗体の作製に成功し、そのエピトープ解析が行われた。その結果、この抗体は、ある糖タンパク質の糖鎖部分を認識することが示された（松本）。今後はマボヤのゲノム情報も利用しながら、アロ認識機構の多様性と共通性について共同研究を展開する（松本、澤田、山田）。

【配偶子接近・相互認識機構】

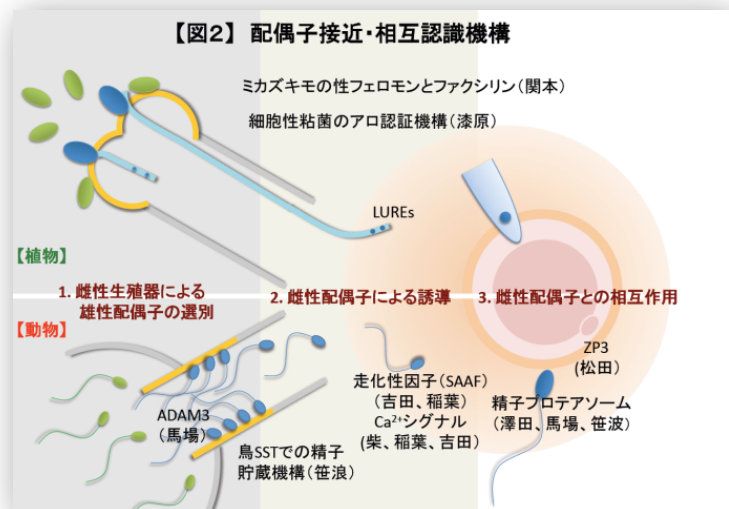
配偶子の接近は、受精を成立させる上で極めて重要なプロセスである。特に海産無脊椎動物においては、海水に放出された精子と卵とが出会うためには、卵からの精子走化性因子が不可欠である。カタユウレイボヤでは、硫酸化ステロイド (3,4,7,26-tetrahydroxycholestane-3,26-disulfate) が精子走化性因子 (Sperm activating and attracting substance; SAAF) であることが報告されている（吉田）。平成 22 年度の本領域内共同研究により、精子原形質膜に存在する Ca^{2+} /ATPase(PMCA3) が SAAF

受容体であることが明らかになってきた（吉田、稲葉：学会発表）。この遺伝子 *CiPMCA* は、哺乳類 *PMCA* と相同性が高く、少なくとも2つの *splicing variants* がある。そのうちの精子で高発現している *variant* を同定した。*CiPMCA* が *SAAF* と相互作用することや、*PMCA* 阻害剤がカタユレイボヤ精子走化性を顕著に阻害することから、*PMCA* が実際に精子走化性現象で働く *SAAF* 受容体であると考えられる（吉田、稲葉：未発表）。

哺乳類においては、ノックアウトマウスを用いた機能解析から、精子 *ADAM3*（シリテスティン）が精子の卵外被（透明帯）への結合に必須であると考えられている。一方、この *ADAM3* 遺伝子を破壊したマウスでは、精子運動性は正常であるにもかかわらず、精子が子宮から輸卵管に進入することができず、子宮輸卵管結合部（*Uterotubal junction*; *UTJ*）に留まることが判明し、注目されている。すなわち、受精する場である輸卵管膨大部に精子が到達するのは、精子の運動性や卵からの走化性因子によるものではなく、雌性生殖器（*UTJ*）側の精子認証システムが重要なのではないかと考えられるようになってきた。*UTJ* で、どのような分子が精子認証を行っているのであろうか。これは、哺乳類の生殖生物学における重要課題の一つであるが、最近、馬場はその分子を同定することに成功した（馬場：未発表）。この発見は、不妊診断や不妊治療に活かせる可能性のある重要な発見である。

精子プロテアーゼが精子の卵外被通過に関与することは、種々の新口動物で知られている。哺乳類では、精子トリプシン様酵素アクロシンが、精子の卵透明帯通過に関わると長年考えられてきたが、馬場はアクロシンノックアウトマウスを作出し、精子の卵透明帯通過にアクロシンが必須ではないことを証明している。その後、アクロシンは先体内容物の分散に関与することを報告したが、詳細な機能解析は進んでいなかった。今回、アクロシンとそれ以外の精子トリプシン様酵素（*PRSS21*）のダブルノックアウトマウスが作出され、機能解析が進んだ。このマウスでは、*in vitro* の受精は阻害されるが、*in vivo* の受精では補償効果が働き不妊にはならないことが判明した。したがって、これらの酵素は受精に関与するが必須ではないと結論した（馬場、宮戸ほか：*Biol. Reprod.* (2010)）。

一方、精子プロテアソームの受精における機能解析についても進展が見られた。領域代表は、精子の卵外被通過に、精子プロテアソームがライシン（卵外被溶解物質）として機能することを、マボヤを用いて世界に先駆けて報告している。その後、ホヤのみならず哺乳類や鳥類でも受精時に精子プロテアソームが機能することが報告され、共通機構としての理解が深まりつつある（澤田、馬場、笹浪）。今回、マウス精子プロテアソームでは、*PSMA7* サブユニットが *PSMA8* サブユニット（精子特異的なプロテアソーム α サブユニット）に置き換わっていることを見出した。また、その局在性や生理機能に関する解析を進めている（馬場、澤田：学会発表）。マボヤでは、精子プロテアソームが精子細胞外に輸送されると考えられるが、その細胞外輸送シグナルは不明である。そこで、精子プロテアソームに特異的なサブユニットがあるのではないかと考え、マボヤ精子からプロテアソームを精製し、そのサブユニット構造を、卵や筋肉由来のプロテアソームと比較検討した。その結果、*PSMA1/α6* サブユニットの2D-PAGE パターンが異なっていること、また *LC/MS/MS* 解析により、そのC末端16残基が、精子特異的に切断されていることを見出した（澤田：*BBRC* (2011)）。今後は、その生理的意義について解析する予定である。



一方、精子ユビキチン化酵素は精子形成や受精時に機能する可能性が考えられる。今回、カタユウレイボヤ精子に特異的に発現するユビキチン結合酵素 E2 を同定し、性状解析を行った（澤田：Mol. Reprod. Dev. (2010)）。

ニワトリやウズラなどの鳥類では、雌性生殖器内に侵入した精子を長期間生存させるための精子貯蔵管(SST)が、卵管の子宮腔移行部および漏斗部に存在する。このため、一度交尾や人工授精を行うと、その後交尾や人工授精を繰り返さなくても受精卵を産み続けることができる。この現象は古くから知られているが、その分子機構は不明である。本研究では、SSTにおける貯精の分子機構についても研究が行われた。ウズラを交尾させると、精子は交尾後1時間以内にSSTに侵入するが、死滅精子を人工授精してもSST内に精子は観察されない。このことは、SSTに生存精子を選択的に受入れる機構が存在することを示唆している。また、生体内ではSSTが積極的に精子の運動性を低下させることも示唆された。交尾後1時間に排卵ホルモンであるプロゲステロン(P₄)をウズラの静脈内に投与すると、SSTからの精子の放出が観察された。さらに、SSTからの精子の放出は排卵周期と同調していることも判明した。P₄の膜受容体(mPR)が子宮腔移行部および精子に発現していることから、P₄がmPRを介して精子の放出シグナルとして働いていると考えられる（笹浪：国際学会発表）。哺乳類および鳥類の卵は透明帯と呼ばれる卵外被で被われている。それは精子受容体活性を有するZP3等の糖タンパク質から構成されている。今回、N結合型糖鎖の少ない鳥類ZP3のX線結晶構造解析が行われ、その立体構造が解明された。この研究成果は、精子卵相互認識に関する分子レベルでの理解を深める上で重要な成果であり、高く評価される（松田：Cell (2010)）。

細胞性粘菌 *Dictyostelium discoideum* の有性生殖様式は主として他家接合で、*matI*, *matII*, *matIII* の3種類の交配型が知られている。それぞれ自分とは異なる交配型の配偶子とのみ融合して接合子を形成し、マクロシスト形成に至る。これまでに有性生殖関連遺伝子として細胞融合能を失った変異体の原因遺伝子 *macA* と交配型特異的な配列 *matA* が同定されているが、いずれの産物も細胞の識別には関わっていないと推測されている。現在、これらの2遺伝子を手掛かりとして *D. discoideum* の自己認識分子の探索が、プロテオーム解析を駆使した領域内共同研究で進められている（漆原、山田）。GCS1等の細胞膜融合に関わるタンパク質の発現も最近確認され、その遺伝子破壊株を用いた機能解析も進行中である（漆原、森）。

下等植物における配偶子認識機構の研究は、アロ認証を統合的に理解する上で重要である。関本は、単細胞接合藻類ヒメミカズキモの性特異的遺伝子に関する研究を進めている。性フェロモンとその結合パートナー候補分子ファクシリン1 (FAS1) に焦点を絞り、有性生殖過程における機能解析を行っている。FAS1ドメインを有する遺伝子群の発現を解析したところ、*CpFAS1* と *CpFAS3* が有性生殖特異的に発現することが確認された。また、性フェロモンとの結合も、酵母での発現系で確認された。本FASファミリーの分子系統樹を作成して解析したところ、発現解析の結果と一致して、有性生殖時期に発現するFAS1とFAS3は同一クレードに分類されることが示された（関本、野崎）。ファクシリンの更なる機能解析と種を越えた普遍性について現在検討が進められている（関本、野崎）。

【細胞接着・膜融合機構】

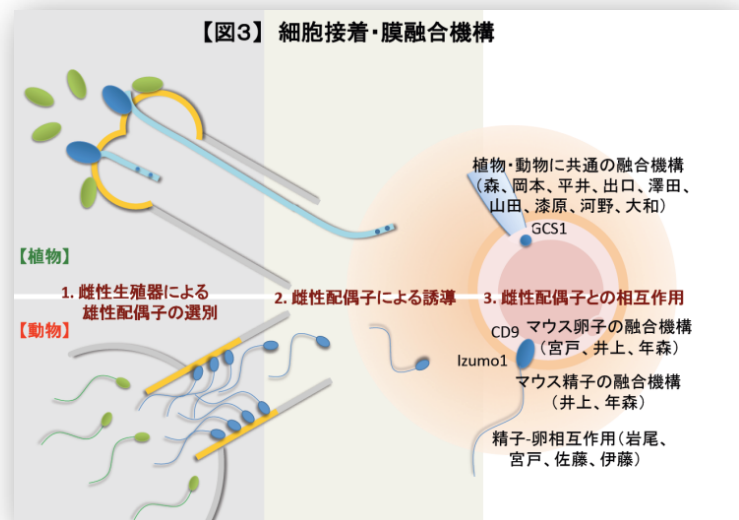
マウスにおける精子と卵の細胞膜融合の研究に関しては、宮戸と井上の研究が世界を凌駕している。卵側の因子に関しては、4回膜貫通型タンパク質であるCD9が膜融合に必須であることが、宮戸によって証明されたが、その詳細な作用機構は解明されていない。受精時に卵細胞からCD9を含むエキソゾームと呼ばれる小胞が囲卵腔に放出され、それが精子側に移行することが、受精時の配偶子膜融合に重要であることを突き止めた（宮戸：PNAS (2008)）。この発見は、従来の考え方からは想像できないパラダイムシフトともいえるべき重要な発見である（この研究内容の一部は、国内特許（4448172; 2010年1月29日）および国際特許（No. 2006242041, Nov. 11, 2010）が登録されている（詳細は24頁参照））。今回、CD9変異体を用いた機能領域の解析が進み、CD9のC末端が膜融合機能に必須であることが分かってきた（宮戸：学会発表）。C末端にEGFPを結合させた融

合タンパク質を卵特異的に発現させたところ、CD9 の膜融合における機能が消失することが示された (宮戸)。一方、N 末端に EGFP を融合させた場合は、CD9 の機能に影響を及ぼさなかった (宮戸)。また、CD9 の C 末端は、チューブリン β 2A (Tubb2A) と相互作用することも新たに明らかになった (宮戸)。IZUMO1 に関しては、その精子上での相互作用タンパク質の解析が進んだ。免疫沈降法により IZUMO1 と相互作用する精子膜タンパク質が同定された。このタンパク質は血圧調節に関わる ACE (Angiotensin-Converting Enzyme) に類似する精巣特異的な ACE3 として既に同定されていた分子であったが、機能に関しては不明な点が多い。そこで、ACE3 ノックアウトマウスを製作して機能解析を行ったところ、IZUMO1 の局在に影響を及ぼす因子であることが分かってきた (井上: PLoS ONE (2010))。また、精子と卵子の細胞接着に E-カドヘリン/ β -カテニン複合体が関わっており、膜融合への移行には β -カテニンの速やかな分解が必須であること、更に、細胞接着と細胞融合はそれぞれ独立した分子メカニズムによって制御されていることが分かってきた (宮戸: 論文投稿中)。

精子と卵の相互作用や膜融合機構の解析は、ライブイメージング技術を用いた解析が最近盛んに行われるようになってきた。例えば、先体反応と配偶子膜融合段階における膜分子の迅速な移動を解析する実験においては、精子先体膜分子 1 型シアロ糖タンパク質 Equatorin (EQT, MN9) 遺伝子に EGFP をつないだ遺伝子改変マウス (EQT-GFP-TG マウス) を作出して、ライブイメージングを行う実験が行われている。体内受精条件下で、EQT-GFP-TG マウス精子を用いた受精卵内の挙動と運動を可視化した結果、EQT の一部は先体反応過程で先体膜から離れるが、多くは残存して卵形質内に移動することがわかってきた (年森、宮戸)。電顕等では固定した状態でしか観察できないのに対して、生細胞で解析出来る点が重要な実験である。先体反応の起こる時期に関しても、トランスジェニックマウス精子を用いた解析が行われた (広橋)。この実験においては、*ACR-EGFP* と *CAG-mtDsRed2* を導入したマウスを用い、先体反応前の先体胞を緑色蛍光で、ミトコンドリアを赤色蛍光で検出している。マウスにおいては、精子は卵透明帯に結合後に先体反応を起こすと今まで信じられてきた。しかし、今回の広橋の実験により、卵丘細胞層を通過する際に先体反応を起こした精子のみが透明帯を通過でき、卵透明帯に結合後に先体反応を起こす精子は、受精できないことを示した。これは従来の定説を覆す重要な発見である (広橋: PNAS (2011))。今後もこうしたイメージング技術が解析に活用されることが期待される。

被子植物の膜融合に関しては、岡本と森が中心となって解析している。岡本は、被子植物の配偶子膜融合に関する広範な解析を行っている。イネ単離配偶子を材料として、*in vitro* 受精系、1 細胞分子生物学、高感度オーム解析、レーザーマイクロインジェクションによる配偶子操作などの手法を駆使し、植物における配偶子認識および膜融合過程の分子基盤を明らかにするとともに、動植物の配偶子融合機構を統合的に理解することを目的として研究を進めている。平成 22 年度は、顕微鏡下で単離したイネ精細胞、卵細胞、受精卵それぞれ 3,000 細胞、30 細胞、30 細胞と、密度勾配遠心法による大量調製法を確立して単離した精細胞 30,000-60,000 細胞を用いたトランスクリプトーム解析を行った (岡本)。それに加えて、精細胞 120,000 細胞と卵細胞 300 細胞を用いたプロテオーム解析も行った (岡本)。

動植物に共通な精子 (精細胞) の膜融合タンパク質として GCS1 が挙げられる。今回、その機能ドメイン



の解析が進んだ。シロイヌナズナGCS1の部分配列をGFPの挿入によって分断・置換して、GCS1破壊株に導入することで、その受精機能変化を解析した。その結果、GCS1のC末側（細胞内領域）を破壊しても機能阻害は起こらないが、N末側（細胞外領域）をGFPで修飾したコンストラクトはGCS1の機能を著しく阻害することが判明した。同様の傾向はマラリア原虫GCS1においても認められた。このことからGCS1の機能ドメインはN末側にのみ存在すること結論づけた（森、平井：PLoS ONE（2010））。一方、精細胞が正常に融合できない受精異常株のスクリーニングを行い、GCS1とは異なる膜融合因子として、新規遺伝子Y47を検出することに成功した（森）。Y47変異株における受精異常は雄特異的に起こる。また、Y47変異株の精細胞の動態は特徴的で、二つの精細胞のうち片側だけが卵もしくは中央細胞と融合する片側受精がしばしば観察された。この結果は、配偶子融合における新規の調節機構を暗示する結果であり、興味深い（森）。

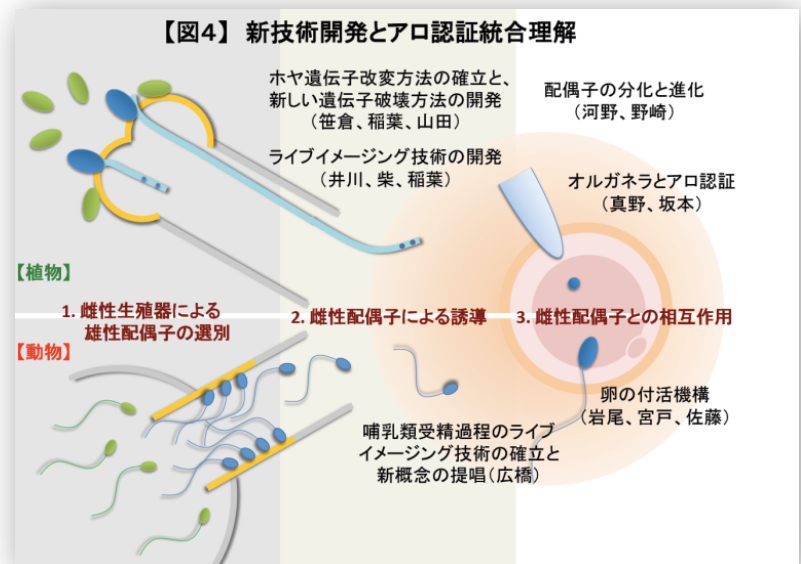
下等植物の配偶子膜融合にもGCS1が関与しているのだろうか。今回、ゼニゴケ精子のEST解析を行い、発現を確認したところ、確かにGCS1がゼニゴケの造精器で発現してくることが確認された（大和）。その受精における機能解析が今後の課題である。

刺胞動物の卵は、多精を防止しつつ受精率を高めるための戦略として、精子の付着・融合部位（精子認証部位）を時間的・空間的に限定して形成すると考えられている。本領域研究では、このような精子認証部位の形成と消失の制御機構について解析を進めている。一方、刺胞動物であるネマトステラやタマクラゲでは、ゲノム上はGCS1の存在が確認されているが、実際に精子に存在するかは明らかになっていない。そこで今回、ネマトステラGCS1のクローニングと発現解析を行った（出口、澤田、山田、森）。その結果、ネマトステラでは精巣特異的にGCS1が発現していること、また精子細胞膜のプロテオーム解析により、GCS1が精子細胞膜に確かに存在することが確認された（山田）。従って、GCS1が遺伝子上だけではなく、実際に動物精子にも発現していることが今回初めて確認されたことになる。これは、動植物研究者の共同研究なしには行えない研究成果である。

卵細胞膜マイクロドメインは配偶子認識に重要であることが知られている。このマイクロドメインに局在する膜貫通型タンパク質ウロプラキンIII（以下、UPIII）は、両生類における精子受容体候補分子である。今回、その遺伝子発現時期と卵細胞膜での発現時期に差がみられることが分かってきた。卵形成期のどの時点で精子を受容することが可能になるかという解析も行い、UPIIIの発現時期と局在性調節機構について解析を行う（佐藤）。また領域内共同研究により、細胞膜マイクロドメインのプロテオーム解析も進行している（山田、佐藤）。アフリカツメガエル精子の卵への結合に、精子糖タンパク質SGPが関与することが明らかにされているが、その相互作用タンパク質として今回マトリクスメタロプロテアーゼ（MMP-2）が同定された。MMP-2がUPIIIと相互作用する可能性も示唆された（岩尾、佐藤）。

【新技術開発とアロ認証統合理解】

稲葉は、ホヤ精子の活性化や走化性に関わる分子をMALDI-TOF-MS分析により解析している。特に鞭毛タンパク質の解析を中心に共同研究も行っている。一方、笹倉は、遺伝子改変ホヤの作出技術の開発を行っている。カタユレイボヤにおいては、*Minos* トランスポゾンを用いたトランスジェニック技術を改良し、アロ認証機構の解明に有用な系統の作製を目指している。カタユ



ウレイボヤでは、卵で *Minos* トランスポゾンの転移酵素を発現させる系統を作製し、その系統を用いてゲノム中のトランスポゾンを転移させ、新しい系統を作製する技術を確立した。この系によりエンハンサートラップ系統並びに挿入変異体を単離することが可能となる。この系は特に精子で機能する遺伝子の挿入変異体の単離に効果的であり、現在そのスクリーニングを開始している。ホヤ以外では、棘皮動物バフンウニでのトランスポゾン技術の確立を目指し、ウニで活性を有するトランスポゾンの探索を進めた。*Minos* トランスポゾンが切り出し及び転移の活性を示すことも突き止めた。最近、まったく新しい遺伝子改変技術も開発されつつあり、それが成功すれば、遺伝子のノックダウン実験も容易に行うことができる。この技術開発についても、現在検討している（笹倉、山田、澤田）。

細胞内のカルシウムイメージング技術に関しても開発が進められている（柴）。この技術は、ホヤのアロ認識シグナルの解析に活用されている（澤田、山田、柴、稲葉）。また、ライブイメージングの技術は、様々な分野に活用されるが、花粉管伸長やガイダンス機構の解析（井川）や、精子先体反応の解析（広橋、年森、井上）、さらに受精時の膜の動態解析（宮戸、年森）にも活用される。視覚に訴えるので非常に説得力があり、今後ますます利用されることが期待される。領域内での共同研究や研究連携をとりながら、日常的にこれらの技術が活用されるように総括班としても研究環境整備と研究支援に努める。

新技術開発に加えて、アロ認証統合理解という項目を設けた。それは、生殖細胞の分化や進化（野崎）、さらに同形配偶子から異系配偶子への進化（河野）などの研究も、アロ認証の基本原理を統合的に理解する上で重要であると考えからである。また、受精時における雄と雌の核の認証機構（伊藤）やオルガネラの異常と生殖異常との関わり（真野、坂本）、さらに受精卵では雄性配偶子のミトコンドリアが排除されて母性遺伝になる点など、未だに謎が多い（坂本）。こうした分野の研究もアロ認証機構を統合理解する上で意義深い。また、卵の付活に関しては、主に動物で研究が進んでいるが、植物では全く解析が進んでいない。動物学においては、精子ファクター（SF）の卵内注入によって卵が活性化される現象が一つのトピックになっている。哺乳類では、精子の PLCzeta がその化学的本体であると理解されているが、種によってはクエン酸合成酵素等の場合もある。これらの相違は動物種間での多様性によるものと理解されてきたが、そうでなくて、より一般的な共通原理が底流として流れている可能性が指摘されつつある。このように、動物で注目されているテーマを植物でも解析することの意義は大きい。動植物研究者の融合と総合討論がヒントとなって新しい研究テーマが進展することが期待される。

以上のように、計画班員で平成 21 年秋から始められた研究、ならびに公募班員が加わって行われた平成 22 年度の研究により、動植物融合領域の研究が真に稔りある形で進展している。今後もこの融合領域研究を継続発展させる必要性を改めて強く実感している。

5. 研究成果の公表の状況（主な論文一覧、ホームページ、公開発表等）

（1） 主な論文等一覧について（発表論文数：合計 153 報）

（計画研究代表者・分担者 2009 年度以降；公募研究代表者 2010 年度以降）

計画研究代表者 澤田 均（名古屋大学・大学院理学研究科・教授）

1. *Sawada, H., Saito, T., Yamaguchi, A., Harada, Y., and Yamada, L. (2011). Allrecognition mechanisms in ascidian fertilization: A reproduction strategy shared with flowering plants. In *"Sperm Cell Research in the 21st Century: Historical Discoveries to New Horizons"* M. Morisawa (ed.), Adthree Publishing Co, in press.
2. Yokota, H., Kataoka, Y., Hashii, N., Kawasaki, N., and *Sawada, H. (2011). Sperm-specific C-terminal processing of the proteasome PSMA1/ $\alpha 6$ subunit. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, doi:10.1016/j.bbrc.2011.06.069.
3. Yamaguchi, A., Saito, T., Yamada, L., Taniguchi, H., Harada, Y., and *Sawada, H. (2011). Identification and localization of sperm CRISP family protein CiUrafin involved in gamete interaction in the ascidian *Ciona intestinalis*. *Mol. Reprod. Dev.*, doi:10.1002/mrd.21329.

4. Yokota, N., Harada, Y., and *Sawada, H. (2010). Identification of testis-specific ubiquitin-conjugating enzyme in the ascidian *Ciona intestinalis*. *Mol. Reprod. Dev.* 77 (7), 640-647.
5. Akasaka, M., Harada, Y., and *Sawada, H., (2010). Vitellogenin C-terminal fragments participate in fertilization as egg-coat binding partners of sperm trypsin-like proteases in the ascidian *Halocynthia roretzi* *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 392 (4), 479-484.
6. Yamada, L., Saito, T., Taniguchi, H., *Sawada, H., and *Harada, Y. (2009). Comprehensive egg coat proteome of the ascidian *Ciona intestinalis* reveals gamete recognition molecules involved in self-sterility. *J. Biol. Chem.* 284 (14), 9402-9410.

計画研究代表者 岩野 恵 (奈良先端科学技術大学院大学・バイオサイエンス研究科・助教)

1. Hirai, H., Takai, R., Iwano, M., Nakai, M., Kondo, M., Takayama, S., Isogai, A., and *Che, F. S. (2011). Glycosylation regulates the specific induction of rice immune responses by *Acidovorax avenae* flagellin. *J. Biol. Chem.*, doi:10.1074/jbc.M111.254029.
2. Tarutani, Y., Shiba, H., Iwano, M., Kakizaki, T., Suzuki, G., Watanabe, M., Isogai, A., and *Takayama, S. (2010). Trans-acting small RNA determines dominance relationships in *Brassica* self-incompatibility. *Nature* 19 (466), 983-986.
3. *岩野 恵, 永井 里奈, 高山 誠司 (2010). アブラナ科植物の他家・自家受粉過程における乳頭細胞液胞の超高压電顕トモグラフィー解析, *超高压電子顕微鏡センター年報* 38, 44-47.
4. *Iwano, M., Entani, T., Shiba, H., Kakita, M., Nagai, T., Mizuno, H., Miyawaki, A., Shoji, T., Kubo, K., Isogai, A., and Takayama, S. (2009). Fine-tuning of the cytoplasmic Ca²⁺ concentration is essential for pollen tube growth. *Plant Physiol.* 150 (3), 1322-1334.
5. Kaneda, T., Taga, Y., Takai, R., Iwano, M., Matsui, H., Takayama, S., Isogai, A., and *Che, F.S. (2009). The transcription factor OsNAC4 is a key positive regulator of plant hypersensitive cell death. *EMBO J.* 28(7), 926-936.

計画研究代表者 稲葉 一男 (筑波大学・下田臨海実験センター・教授)

(分担者: 笹倉 靖徳 (筑波大学・下田臨海実験センター・准教授))

1. Shiba, K., Mizuno, K., and *Inaba, K. (2011). Molecular comparison of the axonemal components between sperm flagella and Chlamydomonas flagella. In *"Sperm Cell Research in the 21st Century: Historical Discoveries to New Horizons"* M. Morisawa (ed.), Adthree Publishing Co, in press.
2. *Inaba, K. (2011). Sperm flagella: Comparative and phylogenetic perspectives of protein components. *Mol. Hum. Reprod.*, doi: 10.1093/molehr/gar034
3. Ogura, Y., Sakaue-Sawano, A., Nakagawa, M., Satoh, N., Miyawaki, A., and *Sasakura, Y. (2011). Coordination of mitosis and morphogenesis: role of a prolonged G2 phase during chordate neurulation. *Development* 138 (3), 577-587.
4. *Hamada, M., Shimozone, N., Ohta, N., Satou, Y., Horie, T., Kawada, T., Satake, H., Sasakura, Y., and Satoh, N. (2011). Expression of neuropeptide- and hormone-encoding genes in the *Ciona intestinalis* Larval Brain. *Dev. Biol.* 352 (2), 202-214.
5. *Horie, T., Shinki, R., Ogura, Y., Kusakabe, T.G., Satoh, N., and Sasakura, Y. (2011). Ependymal cells of chordate larvae are stem-like cells from the adult nervous system. *Nature* 469 (7331), 525-528.
6. *Endo, T., Ueno, K., Yonezawa, K., Mineta, K., Hotta, K., Satou, Y., Yamada, L., Ogasawara, M., Takahashi, H., Nakajima, A., Nakachi, M., Nomura, M., Yaguchi, J., Sasakura, Y., Yamasaki, C., Sera, M., Yoshizawa, A.C., Imanishi, T., Taniguchi, H., and Inaba, K. (2011). CIPRO 2.5: *Ciona intestinalis* protein database, a unique integrated repository of large-scale omics data, bioinformatic analyses and curated annotation, with user rating and reviewing functionalit. *Nucleic Acids Res.* 39 (Suppl. 1), 807-814.
7. Terakubo, H. Q., Nakajima, Y., Sasakura, Y., Horie, T., Konno, A., Takahashi, H., Inaba, K., *Hotta, K., and Oka, K. (2010). Network structure of projections extending from peripheral neurons in the tunic of ascidian larva. *Dev. Dyn.* 239 (8), 2278-2287.
8. *Yaguchi, S., Yaguchi, J., Wei, Z., Shiba, K., Angerer, L.M., and Inaba, K. (2010), ankAT-1 is a novel gene mediating the apical tuft formation in the sea urchin embryo. *Dev. Biol.* 348 (1), 67-75.
9. Ohta, N., Horie, T., Satoh, N., and *Sasakura, Y. (2010). Transposon-Mediated Enhancer Detection Reveals the Location, Morphology and Development of the Cupular Organs, which are Putative Hydrodynamic Sensors, in the Ascidian *Ciona intestinalis*. *Zoolog. Sci.* 27 (11), 842-850.
10. Hozumi, A., Kawai, N., Yoshida, R., Ogura, Y., Ohta, N., Satake, H., Satoh, N., and *Sasakura, Y. (2010). Efficient transposition of a single transposon copy in the genome of the ascidian *Ciona intestinalis* with a transgenic line expressing transposase in eggs. *Dev. Dyn.* 239 (4), 1076-1088.
11. Konno, A., Padma, P., Ushimaru, Y., and *Inaba, K. (2010). Multidimensional analysis of uncharacterized sperm proteins in *Ciona intestinalis*: EST-based analysis and functional immunoscreening of testis-expressed genes. *Zoolog. Sci.* 27 (2), 204-215.
12. *Sasakura, Y., Yaguchi, J., Yaguchi, S., and Yajima, M. (2010). Excision and transposition activity of Tc1/mariner superfamily transposons in sea urchin embryos. *Zoolog. Sci.* 27 (3), 256-262.
13. Konno, A., Kaizu, M., Hotta, K., Horie, T., Sasakura, Y., Ikeo, K., and *Inaba, K. (2010). Distribution and structural diversity of cilia in tadpole larvae of the ascidian *Ciona intestinalis*. *Dev. Biol.* 337 (1), 42-62.
14. *Sasakura, Y., Suzuki, M. M., Hozumi, A., Inaba, K., and Satoh, N. (2010). Maternal factor-mediated epigenetic gene silencing in the ascidian *Ciona intestinalis*. *Mol. Genet. Genomics* 283 (1), 99-110.
15. *Inaba, K. and Mizuno, K. (2009). Purification of dyneins from sperm flagella. *Methods Cell Biol.* 92, 49-63.

16. *[Sasakura, Y.](#), [Inaba, K.](#), Satoh, N., Kondo, M., and Akasaka, K. (2009). *Ciona intestinalis* and *Oxycomanthus japonicus*, representatives of marine invertebrates. *Exp. Anim.* 58 (5), 459-469.
17. Satouh, Y., and *[Inaba, K.](#) (2009). Proteomic characterization of sperm radial spokes identifies a novel spoke protein with an ubiquitin domain. *FEBS Lett.* 583 (13), 2201-2007.

計画研究代表者 馬場 忠 (筑波大学・大学院生命環境科学研究科・教授)

1. Kawano, N., Kang, W., Yamashita, M., Koga, Y., Yamazaki, T., Hata, T., [Miyado, K.](#), and *[Baba, T.](#) (2010). Mice lacking two sperm serine proteases, ACR and PRSS21, are subfertile, but the mutant sperm are infertile in vitro. *Biol. Reprod.* 83 (3), 359-369.
2. *Akama, K., Horikoshi, T., Sugiyama, A., Nakahata, S., Akitsu, A., Niwa, N., Intoh, A., Kakui, Y., Sugaya, M., Takei, K., Imaizumi, N., Sato, T., Matsumoto, R., Iwahashi, H., Kashiwabara, S., [Baba, T.](#), Nakamura, M., and Toda, T. (2010). Protein disulfide isomerase-P5, down-regulated in the final stage of boar epididymal sperm maturation, catalyzes disulfide formation to inhibit protein function in oxidative refolding of reduced denatured lysozyme. *Biochim. Biophys. Acta* 1804 (6), 1272-1284.
3. Kang, W., Zhou, C., Koga, Y., and *[Baba, T.](#) (2010). Hyaluronan-degrading activity of mouse sperm hyaluronidase is not required for fertilization? *J. Reprod. Dev.* 56 (1), 140-144.
4. Kimura, M., Kim, E., Kang, W., Yamashita, M., Saigo, M., Yamazaki, T., Nakanishi, T., Kashiwabara, S., and *[Baba, T.](#) (2009). Functional roles of mouse sperm hyaluronidases, HYAL5 and SPAM1, in fertilization. *Biol. Reprod.* 81 (5), 939-947.

計画研究代表者 宮戸 健二 (国立成育医療研究センター・生殖細胞医療研究部・室長)

(分担者：井上 直和 (大阪大学・微生物病研究所・助教))

1. Nakamura, A., *[Miyado, K.](#), Takezawa, Y., Ohnami, N., Sato, M., Ono, C., Harada, Y., Yoshida, K., Kawano, N., Kanai, S., Miyado, M., and Umezawa, A. (2011). Innate immune system still works at diapause, a physiological state of dormancy in insects. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, in press.
1. Kawano, N., Yoshida, K., [Miyado, K.](#), and *[Yoshida, M.](#) (2011). Lipid rafts: Keys to sperm maturation, fertilization, and early embryogenesis. *J. Lipids*, doi:10.1155/2011/264706.
2. [Inoue, N.](#), Ikawa, M., and *Okabe, M. (2011). The mechanism of sperm-egg interaction and the involvement of IZUMO1 in fusion. *Asian J. Androl.* 13 (1), 81-87.
3. Kawano, N., Harada, Y., Yoshida, K., Miyado, M., and [Miyado, K.](#) (2011). "Chapter 7: Role of CD9 in sperm-egg fusion and its general role in fusion phenomena" In "*Cell Fusions: Regulation and Control*" Lars-Inge Larsson (Ed.), Springer, chapter 7, pp.171-184.
4. 宮戸 真美, 尾木 秀直, 織田 銑一, [宮戸 健二](#) (2011). "Chapter 7: スンクス雄の外生殖器" in "*スンクスの生物学*" 磯村 源蔵, 織田 銑一, 東家 一雄, 宮本 孝昌 (Ed.). 学会出版センター, chapter 7, pp. 323-328.
5. *Ikawa, M., Tokuhira, K., Yamaguchi, R., Benham, A. M., Tamura, T., Wada, I., Satouh, Y., [Inoue, N.](#), and Okabe, M. (2011). Calsperin is a testis-specific caperone required for sperm fertility. *J. Biol. Chem.* 286 (7), 5639-5646.
6. Sato, B., Katagiri, Y.U., [Miyado, K.](#), Okino, N., Ito, M., Akutsu, H., Okita, H., Umezawa, A., Fujimoto, J., [Toshimori, K.](#), and *Kiyokawa, N. (2011). Lipid rafts enriched in monosialylGb5Cer carrying the stage-specific embryonic antigen-4 epitope are involved in development of mouse preimplantation embryos at cleavage stage. *BMC Dev. Biol.* 11 (22), Doi:10.1186/1471-213X-11-22.
7. Ito, M., [Miyado, K.](#), Nakagawa, K., Muraki, M., Imai, M., Yamakawa, N., Qin, J., Hosoi, Y., Saito, H., and *Takahashi, Y. (2010). Age-associated changes in the subcellular localization of phosphorylated p38 MAPK in human granulosa cells. *Mol. Hum. Reprod.* 16 (12), 928-937.
8. Kawano, N., Yoshida, K., Harada, Y., Onami, N., Takezawa, Y., and *[Miyado, K.](#) (2010). Role of CD9 and CD9-containing exosomes in sperm-egg membrane fusion. *J. Mammalian Ova Res.* 27 (4), 191-197.
9. Kawano, N., Kang, W., Yamashita, M., Koga, Y., Yamazaki, T., Hata, T., [Miyado, K.](#), and *[Baba, T.](#) (2010). Mice lacking two sperm serine proteases, ACR and PRSS21, are subfertile, but the mutant sperm are infertile in vitro. *Biol. Reprod.* 83 (3), 359-369.
10. Ito, C., Yamatoya, K., Yoshida, K., Maekawa, M., [Miyado, K.](#), and *[Toshimori, K.](#) (2010). Tetraspanin family protein CD9 in the mouse sperm: unique localization, appearance, behavior and fate during fertilization. *Cell Tissue Res.* 340 (3), 583-594.
11. Tsuji, H., Miyoshi, S., Ikegami, Y., Hida, N., Asada, H., Togashi, I., Suzuki, J., Satake, M., Nakamizo, H., Tanaka, M., Mori, T., Segawa, K., Nishiyama, N., Inoue, J., Makino, H., [Miyado, K.](#), Ogawa, S., Yoshimura, Y., and Umezawa, A. (2010). Xenografted human amniotic membrane-derived mesenchymal stem cells are immunologically tolerated and transdifferentiated into cardiomyocytes. *Circ. Res.* 106 (10), 1613-1623.
12. Ikegami, Y., *Miyoshi, S., Nishiyama, N., Hida, N., Okamoto, K., [Miyado, K.](#), Segawa, K., Ogawa, S., and Umezawa, A. (2010). Serum-independent cardiomyogenic transdifferentiation in human endometrium-derived mesenchymal cells. *Artif. Organs* 34 (4), 280-288.
13. *Oshiumi, H., Miyashita, M., [Inoue, N.](#), Okabe, M., Matsumoto, M., and Seya, T. (2010). The ubiquitin ligase Riplet is essential for RIG-I-dependent innate immune responses to RNA virus infection. *Cell Host Microbe* 8 (6), 496-509.
14. Fujihara, Y., Murakami, M., [Inoue, N.](#), Satouh, Y., Kaseda, K., Ikawa, M., and *Okabe, M. (2010). Sperm equatorial segment protein 1, SPESP1, is required for fully fertile sperm in mouse. *J. Cell Sci.* 123 (9), 1531-1536.

15. Ikawa, M., Inoue, N., Benham, A. M., and *Okabe, M. (2010). Fertilization: a sperm's journey to and interaction with the oocyte. *J. Clin. Invest.* 120 (4), 984-994.
16. Inoue, N., Kasahara, T., Ikawa, M., and *Okabe, M. (2010). Identification and disruption of sperm-specific angiotensin converting enzyme-3 (ACE3) in mouse. *PLoS One* 5 (4), e10301.
17. Takahashi, H., Toyoda, M., Birumachi, J., Horie, A., Uyama, T., Miyado, K., Matsumoto, K., Saito H., and *Umezawa, A. (2010). Shortening of human cell life span by induction of p16ink4a through the platelet-derived growth factor receptor beta. *J. Cell Physiol.* 221 (2), 335-342.
18. *Akutsu, H., Miura, T., Machida, M., Birumachi, J., Hamada, A., Yamada, M., Sullivan, S., Miyado, K., and Umezawa, A. (2009). Maintenance of pluripotency and self-renewal ability of mouse embryonic stem cells in the absence of tetraspanin CD9. *Differentiation* 78 (2-3), 137-142.
19. Yamatoya, K., Yoshida, K., Ito, C., Maekawa, M., Yanagida, M., Takamori, K., Ogawa, H., Araki, Y., Miyado, K., Toyama, Y., and *Toshimori, K. (2009). Equatorin: identification and characterization of the epitope of the MN9 antibody in the mouse. *Biol. Reprod.* 81 (5), 889-897.
20. *宮戸 健二 (2009). 目で見る生殖に関連したモデル動物 —受精障害モデル動物—. *Hormone Frontier in Gynecology* 16 (3), 178-181.

計画研究代表者 岡本 龍史 (首都大学東京・大学院理工学研究所・准教授)

1. Okamoto, T. (2011). Chapter 2: In vitro fertilization with isolated rice gametes: production of zygotes and zygote and embryo culture In *"Plant Embryo Culture"* T. A. Thorpe and E. C. Yeung. (eds.), Humana Press, chapter 2, pp.17-27.
2. Ohnishi, T., Takanashi, H., Mogi, M., Takahashi, H., Kikuchi, H., Yano, K., Okamoto, T., Fujita, M., Kurata, N., and *Tsumumi N. (2011). Distinct Gene Expression Profiles in Egg and Synergid Cells of Rice as Revealed by Cell Type-specific Microarrays. *Plant Physiol.* 155 (2), 881-891.
3. *Okamoto, T. (2010). In vitro fertilization with isolated rice gametes: production of zygotes and zygote and embryo cultured rice gametes: production of zygotes and zygote and embryo culture. *Methods Mol. Biol.* 710 (1), 17-27.
4. *Okamoto, T. (2010). Gamete fusion site on the egg cell and autonomous establishment of cell polarity in the zygote. *Plant Signaling Behavior* 5 (11), 1464-1467.
5. Sato, A., Toyooka, K., and *Okamoto, T. (2010). Asymmetric cell division of rice zygotes located in embryo sac and produced by in vitro fertilization. *Sex. Plant Reprod.* 23 (3), 211-217.
6. Uchiumi, T. and *Okamoto, T. (2010). Rice fruit development is associated with an increased IAA content in pollinated ovaries. *Planta* 233 (3), 579-582.
7. Nakajima, K., Uchiumi, T., and *Okamoto, T. (2010). Positional relationship between the gamete fusion site and the first division plane in the rice zygote. *J. Exp. Bot.* 61 (11), 3101-3105.
8. Takanashi, H., Ohnishi, T., Mogi, M., Okamoto, T., Arimura, S., and *Tsumumi, N. (2010). Studies of mitochondrial morphology and DNA amount in the rice egg cell. *Curr. Genet.* 56 (1), 33-41.

計画研究代表者 森 稔幸 (早稲田大学・高等研究所・助教)

1. *Itoh, K., Izumi, A., Mori, T., Dohmae, N., Yui, R., Maeda-Sano, K., Shirai, Y., Kanaoka, M.M., Kuroiwa, T., Higashiyama, T., Sugita, M., Murakami-Murofushi, K., Kawano, S., and *Sasaki, N. (2011). DNA packaging proteins Glom and Glom2 coordinately organize the mitochondrial nucleoid of *Physarum polycephalum*. *Mitochondrion*, 11 (4), 575-586.
2. *Mori, T., Hirai, M., Kuroiwa, T., and Miyagishima, S.Y. (2010). The functional domain of GCS1-based gamete fusion resides in the amino terminus in plant and parasite species. *PLoS One* 5 (12), e15957.
3. *Hirai, M., and Mori, T. (2010). Fertilization is a novel attacking site for the transmission blocking of malaria parasites. *Acta Trop.* 114 (3), 157-161.
4. *Mori, T. (2010). Elucidating the molecular mechanics of the final stages of double fertilization. *Plant Morph.* 22 (1), 9-13.
5. Hirooka, S., Misumi, O., Yoshida, M., Mori, T., Nishida, K., Yagisawa, F., Yoshida, Y., Fujiwara, T., Kuroiwa, H., and *Kuroiwa, T. (2009). Expression of the Cyanidioschyzon merolae stromal ascorbate peroxidase in *Arabidopsis thaliana* enhances thermotolerance. *Plant Cell Rep.* 28 (12), 1881-1893.
6. Itoh, K., Izumi, A., Mori, T., Dohmae, N., Yui, R., Sano, K., Kanaoka, M.M., Kuroiwa, H., Kuroiwa, T., Higashiyama, T., Murakami-Murofushi, K., Kawano, S., and *Sasaki, N. (2009). New protein Pmn34 with an exonuclease motif localizes in the mitochondrial nucleoid periphery of *Physarum polycephalum*. *Cytologia* 74 (4), 401-407.
7. Okazaki, K., Kabeya, Y., Suzuki, K., Mori, T., Ichikawa, T., Matsui, M., Nakanishi, H., and *Miyagishima, S.Y. (2009). The PLASTID DIVISION1 and 2 components of the chloroplast division machinery determine the rate of chloroplast division in land plant cell differentiation. *Plant Cell* 21 (6), 1769-1780.

公募研究代表者 井川 智子 (千葉大学・大学院園芸学研究所・助教)

1. Igawa, T., Fujiwara, M., Tanaka, I., Fukao, Y., and *Yanagawa, Y. (2010). Characterization of bacterial-type phosphoenolpyruvate carboxylase expressed in male gametophyte of higher plants. *BMC Plant Biol.* 10, 200.

公募研究代表者 伊藤 昌彦 (浜松医科大学・医学部・助教)

1. *Mizuochi, T., Ito, M., Takai, K., and Yamaguchi, K. (2011). Peripheral blood memory B cells are resistant to apoptosis in chronic hepatitis C patients. *Virus Res.* 155 (1), 349-351.
2. Ito, M., Masumi, A., Mochida, K., Kukihara, H., Moriishi, K., Matsuura, Y., Yamaguchi, K., and *Mizuochi, T. (2010). Peripheral B cells may serve as a reservoir for persistent hepatitis C virus infection. *J. Innate Immun.* 2 (6), 607-617.

3. Ito, M., Murakami, K., Suzuki, T., Mochida, K., Suzuki, M., Ikebuchi, K., Yamaguchi, K., and *Mizuochi, T. (2010). Enhanced expression of lymphomagenesis-related genes in peripheral blood B cells of chronic hepatitis C patients. *Clin. Immunol.* 135 (3), 459-465.
4. *Mizuochi, T., Ito, M., Saito, K., Kasai, M., Kunimura, T., Morohoshi, T., Momose, H., Hamaguchi, I., Takai, K., Iino, S., Suzuki, M., Mochida, S., Ikebuchi, K., and Yamaguchi, K. (2010). Possible recruitment of peripheral blood CXCR3+ CD27+ CD19+ B cells to the liver of chronic hepatitis C patients. *J. Interferon Cytokine Res.* 30 (4), 243-252.

公募研究代表者 岩尾 康宏 (山口大学・大学院医学系研究科・教授)

1. Harada, Y., Kawazoe, M., Eto, Y., Ueno, S., and *Iwao, Y. (2011). The Ca²⁺ increase by the sperm factor in physiologically polyspermic newt fertilization: Its signaling mechanism in egg cytoplasm and the species-specificity. *Dev. Biol.* 351 (2), 266-276.
2. Kubo, H., Shiga, K., Harada, Y., and *Iwao, Y. (2010). Analysis of a sperm surface molecule that binds to a vitelline envelope component of *Xenopus laevis* eggs. *Mol. Reprod. Dev.* 77 (8), 728-735.

公募研究代表者 漆原 秀子 (筑波大学・大学院生命環境科学研究科・教授)

1. Urushihara, H. (2011). Social amoeba and the origin of multicellularity *Dev. Growth Differ.* 54 (4), 451-451.

公募研究代表者 掛田 克行 (三重大学・生物資源学研究科・准教授)

1. *Kakeda, K., Ishihara, N., Izumi, Y., Sato, K., and Taketa, S. (2011). Expression and functional analysis of the barley Nud gene using transgenic rice. *Breeding Science* 61 (1), 35-42.
2. *Kakeda, K., Tsutsumi, M., and Kowyama, Y. (2010). Deletion mutations of the self-incompatibility (*S*) locus induced by gamma irradiation in a wild diploid species of sweet potato, *Ipomoea trifida*. *Jpn. Agr. Res. Qtr.* 44 (2), 127-131.

公募研究代表者 河野 重行 (東京大学・大学院新領域創成科学研究科・教授)

1. 森山 陽介, 河野 重行 (2011), "真正粘菌におけるミトコンドリアの遺伝機構と性: *Plant Morphology* 23 巻", 日本植物形態学会, pp. 3-9.
2. Itoh, K., Izumi, A., Mori, T., Dohmae, N., Yui, R., Maeda-Sano, K., Shirai, Y., Kanaoka, M.M., Kuroiwa, T., Higashiyama, T., Sugita, M., Murakami-Murofushi, K., *Kawano, S., and Sasaki, N. (2011). DNA Packaging Proteins Glom and Glom2 Coordinately Organize the Mitochondrial Nucleoid of *Physarum polycephalum*. *Mitochondria*, in press.
3. Vítová, M., Bišová, K., Umysová, D., Hlavová, M., Kawano, S., *Zachleder, V., and Čížková, M. (2010). *Chlamydomonas reinhardtii*: Duration of its cell cycle and phases at growth rates affected by light intensity. *Planta* 233(1), 75-86.
4. Nishiyama, R., Ishii, K., Kifune, E., Kazama, Y., Nishihara, K., Matsunaga, S., Shinozaki, K., and *Kawano, S. (2010). Sex chromosome evolution revealed by physical mapping of SIAP3X/Y in the dioecious plant *Silene latifolia*. *Cytologia* 75 (3), 319-325.
5. Yoshida, Y., Kuroiwa, H., Misumi, O., Yoshida, M., Ohnuma, M., Fujiwara, T., Yagisawa, F., Hirooka, S., Imoto, Y., Matsushita, K., Kawano, S., and *Kuroiwa, T. (2010). Chloroplasts divide by contraction of a bundle of nanofilaments consisting of polyglucan. *Science* 329 (5994), 949-953.
6. Nishikawa, T., Kajitani, H., Sato, M., Mogi, Y., Moriyama, Y., and *Kawano, S. (2010). Isolation of chloroplast FtsZ and AtpC, and analysis of protein targeting into the complex chloroplast of the haptophyte *Pavlova pinguis*. *Cytologia* 75 (2), 203-210.
7. Ishii, K., Amanai, Y., Kazama, Y., Ikeda, M., Kamada, H., and *Kawano, S. (2010). Analysis of BAC clones containing homologous sequences on the end of the Xq arm and on chromosome 7 in the dioecious plant *Silene latifolia*. *Genome* 53 (4), 311-320.

公募研究代表者 坂本 亘 (岡山大学・資源植物科学研究所・教授)

1. Tang, L.Y. and *Sakamoto, W. (2011). Tissue-specific organelle DNA degradation mediated by DPD1 exonuclease. *Plant Signaling Behavior*, in press.
2. Kato, Y. and Sakamoto, W. (2011). Plastid protein degradation during leaf development and senescence: Role of protease and chaperones In "*Chloroplast Development during Leaf Growth and Senescence, Advances in Photosynthesis and Respiration Series*" Govindjee (ed.), Springer, in press.
3. Matsushima, R., Tang, L.Y., Zhang, L., Yamada, H., Twell, D., and *Sakamoto, W. (2011). A conserved, Mg²⁺-dependent exonuclease degrades organelle DNA during *Arabidopsis* pollen development. *Plant Cell* 23 (4), 1608-1624.
4. Kato, Y. and Sakamoto, W. (2010). New Insights into the Types and Function of Proteases in Plastids In "*International Review of Cell and Molecular Biology, Volume 280*" Kwang W. Jeon. (Ed.) Elsevier Inc. Academic Press, pp.185-218.
5. Zhang, D., Kato, Y., Zhang, L., Fujimoto, M., Tsutsumi, N., Sodmergen, and *Sakamoto, W. (2010). The FtsH Protease Heterocomplex in Arabidopsis: Dispensability of Type-B Protease Activity for Proper Chloroplast Development. *Plant Cell* 22 (11), 3710-3725.
6. *Matsushima, R., Maekawa, M., Fujita, N., and Sakamoto, W. (2010). A rapid, direct observation method to isolate mutants with defects in starch grain morphology in rice. *Plant Cell Physiol.* 51 (5), 728-741.
7. Miura, E., Kato, Y., and *Sakamoto, W. (2010). Comparative transcriptome analysis of green/white variegated sectors in *Arabidopsis yellow variegated2*: responses to oxidative and other stresses in white sectors. *J. Exp. Bot.* 61 (9), 2433-2445.

- Piechota, J., Kolodziejczak, M., Juszczak, I., Sakamoto, W., and *Janska, H. (2010). Identification and characterization of high molecular weight complexes formed by matrix AAA proteases and prohibitins in mitochondria of *Arabidopsis thaliana*. *J. Biol. Chem.* 285 (17), 2512-2521.

公募研究代表者 笹浪 知宏 (静岡大学・農学部・准教授)

- *Sasanami, T., Yoshizaki, N., Dohra, H., and Kubo, H. (2011). Sperm acrosin is responsible for the sperm binding to the egg envelope during fertilization in Japanese quail (*Coturnix japonica*). *Reproduction*, doi:10.1530/REP-11-0120.
- Rodler, D., Sasanami, T., and *Sinowaz, F. (2011). Assembly of the inner perivitelline layer, a homologue to the mammalian zona pellucida. An immunohistochemical and electronmicroscopical study. *Cells, Tissues, Organs*, in press.
- Mizushima, S., Takagi, S., Ono, T., Atsumi, Y., Tsukada, A., Saito, N., Sasanami, T., Okabe, M., and *Shimada, K. (2010). Novel Method of Gene Transfer in Birds: Intracytoplasmic Sperm Injection for Green Fluorescent Protein Expression in Quail Blastoderms. *Biol. Reprod.* 83 (6), 965-969.

公募研究代表者 佐藤 賢一 (京都産業大学・総合生命科学部・教授)

- Kushima, S., Mammadova, G., Mahbub Hasan, A.K.M., Fukami, Y., *Sato, K. (2011). Characterization of lipovitellin 2 as a tyrosine-phosphorylated protein in oocytes, eggs and early embryos of *Xenopus laevis*. *Zoolog. Sci.*, in press.
- *Nakai, M., Ito, J., Sato, K., Noguchi, J., Kaneko, H., Kashiwazaki, N., and Kikuchi, K. (2011). Pre-treatment of sperm reduces success of intracytoplasmic sperm injection in the pig. *Reproduction*, in press.
- Mahbub Hasan AKM, Fukami Y., *Sato, K. (2011). Gamete membrane microdomains and their associated molecules in fertilization signaling. *Mol. Reprod. Dev.*, doi: 0.1002/mrd.21336.
- *Tokmakov, A. A., Iwasaki, T., Sato, K., and Fukami, Y. (2010). Analysis of signal transduction in cell-free extracts and rafts of *Xenopus* eggs. *Methods* 51 (1), 177-182.

公募研究代表者 柴 小菊 (筑波大学・下田臨海実験センター・助教)

- Shiba, K., Mizuno, K., and *Inaba, K. (2011). Molecular comparison of the axonemal components between sperm flagella and Chlamydomonas flagella. In "*Sperm Cell Research in the 21st Century: Historical Discoveries to New Horizons*" M. Morisawa (Ed.), Adthree Publishing Co, in press.
- Kambara, Y., Shiba, K., Yoshida, M., Sato, C., Kitajima, K., and *Shingyoji, C. (2011). Mechanism regulating Ca²⁺-dependent mechanosensory behaviour in sea urchin spermatozoa. *Cell Struct. Funct.* 36 (1), 69-82.

公募研究代表者 関本 弘之 (日本女子大学・理学部・教授)

- 関本弘之 (2011). "性フェロモン" in "藻類ハンドブック" 渡辺信 (Ed.). (株)エヌ・ティー・エス, 印刷中.
- Tsuchikane, Y., Tsuchiya, M., Kokubun, Y., Abe, J., and *Sekimoto, H. (2011). Conjugation processes of *Penium margaritaceum* (Zygnematophyceae, Charophyta). *Phycol. Res.*, 59 (1), 74-82
- *Tsuchikane, Y., Kokubun, Y., and *Sekimoto, H. (2010). Characterization and Molecular Cloning of Conjugation-regulating Sex Pheromones in Homothallic *Closterium*. *Plant Cell Physiol.* 51 (9), 1515-1523.
- Vannerum, K., Abe, J., Sekimoto, H., Inzé, D., and *Vyverman, W. (2010). Intracellular localization of an endogenous cellulose synthase of *Micrasterias denticulata* (Desmidiaceae, Chlorophyta) by means of transient genetic transformation. *J. Phycol.* 46 (4), 845-858.
- *Tsuchikane, Y., Sato, M., Ootaki, T., Kokubun, Y., Nozaki, H., Ito, M., and Sekimoto, H. (2010). Sexual processes and phylogenetic relationships of a homothallic strain in the *Closterium peracerosum-strigosum-littorale* complex (Zygnematales, Charophyceae). *J. Phycol.* 46 (2), 278-284.

公募研究代表者 土屋 亨 (三重大学・生命科学研究支援センター・准教授)

- *Koltunow A., Johnson S., Rodrigues J., Okada T., Yingkao H., Tsuchiya, T., Wilson S., Fletcher P., Ito K., Suzuki G., Mukai Y., Fehrer J., and Bicknell R. (2011). Sexual reproduction is the default mode in apomictic Hieracium subgenus Pilosella where two dominant loci function to enable apomixes. *Plant J.* 66 (5), 890-902.
- Araki, Y., *Karita, S., Tsuchiya, T., Kondo, M., and Goto M. (2010). Family 17 and 28 carbohydrate-binding modules discriminate different cell wall sites in sweet potato roots. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 74 (4), 802-805.

公募研究代表者 出口 竜作 (宮城教育大学・教育学部・准教授)

- Deguchi, R., Takeda, N., and *Stricker, S.A. (2011). Comparative biology of cAMP-induced germinal vesicle breakdown in marine invertebrate oocytes. *Mol. Reprod. Dev.*, in press.

公募研究代表者 年森 清隆 (千葉大学・大学院医学研究院・教授)

- *Sato, B., Katagiri, Y.U., Miyado, K., Okino, N., Ito, M., Akutsu, H., Okita, H., Umezawa, A., Fujimoto, J., Toshimori, K., and Kiyokawa, N. (2011). Lipid rafts enriched in monosialylGb5Cer carrying the stage-specific embryonic antigen-4 epitope are involved in development of mouse preimplantation embryos at cleavage stage. *BMC Dev. Biol.*, 11, 22.
- Takiguchi, H., Murayama, E., Kaneko, T., Kurio, H., Toshimori, K., and *Iida, H. (2011). Characterization and subcellular localization of Tektin 3 in rat spermatozoa. *Mol. Reprod. Dev.*, doi: 10.1002/mrd.21352.
- Yamatoya, K., Ito, C., Araki, M., Furuse, R., and *Toshimori, K. (2011). One-step collagenase method for zona pellucida removal in unfertilized egg: easy and gentle method for large-scale preparation. *Reprod. Med. Biol.*, 10, 97-103.

4. *Toshimori, K. (2011). Dynamics of the mammalian sperm membrane modification leading to fertilization: a cytological study. *J. Electron Microsc.* in press.
5. Maekawa, M., Ito, C., Toyama, Y., Suzuki-Toyotam F., Fujitani E., Momoi, T., *Toshimori, K. (2011). Localization of RA175 (Cadm1), a cell adhesion molecule of the immunoglobulin superfamily, in the mouse testis and analysis of male infertility in the RA175-deficient mouse. *Andrologia*. 43 (3), 180-188.
6. Hattori, H., Nakajo, Y., Ito, C., Toyama, Y., Toshimori, K., and *Kyono, K. (2011). Birth of a healthy infant after intracytoplasmic sperm injection using pentoxifylline-activated sperm from a patient with Kartagener's syndrome. *Fertil. Steril.* 95 (7), 2431e9-e11.
7. Katagiri, Y.U., Sato, B., Yamatoya, K., Taki, T., Goto-Inoue, N., Setou, M., Okita, H., Fujimoto, J., Ito, C., *Toshimori, K., and Kiyokawa, N. (2011). GalNAc β 1,3-linked paragloboside carries the epitope of a sperm maturation-related glycoprotein that is recognized by the monoclonal antibody MC121. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 406 (3), 326-331.
8. Ito, C., Yamatoya, K., Yoshida, K., Maekawa, M., Miyado, K., and *Toshimori, K. (2010). Tetraspanin family protein CD9 in the mouse sperm: unique localization, appearance, behavior and fate during fertilization. *Cell Tissue Res.* 340 (3), 583-594.
9. *Suzuki-Toyota, F., Ito, C., Maekawa, M., Toyama, Y., and Toshimori, K. (2010). Adhesion between plasma membrane and mitochondria with linking filaments in relation to migration of cytoplasmic droplet during epididymal maturation in guinea pig spermatozoa. *Cell Tissue Res.* 341 (3), 429-440.
10. Ito, C., Yamatoya, K., Yoshida, K., Kyono, K., Yao, R., Noda, T., and *Toshimori, K. (2010). Appearance of an oocyte activation-related substance during spermatogenesis in mice and humans. *Hum. Reprod.*, 25 (11), 2734-2744.

公募研究代表者 野崎 久義 (東京大学・大学院理学系研究科・准教授)

1. Matuzaki, R., Hara, Y. and *Nozaki, H. (2011). A taxonomic revision of *Chloromonas reticulata* (Volvocales, Chlorophyceae), the type species of the genus *Chloromonas*, based on multigene phylogeny and comparative light and electron microscopy. *Phycologia*, in press.
2. *Krienitz, L., Bock, C., Nozaki, H., and Wolf, M. (2011). SSU rRNA gene phylogeny of morphospecies affiliated to the bioassay alga "*Selenastrum capricornutum*" recovered the polyphyletic origin of crescent-shaped Chlorophyta. *J. Phycol.*, in press.
3. *Nozaki, H., and Coleman, A. W. (2011). A new species of Volvox sect. *Merrillosphaera* (Volvocaceae, Chlorophyceae) from Texas. *J. Phycol.*, in press.
4. Yokoyama, A., Takahashi, F., Kataoka, H., Hara, Y., and *Nozaki, H. (2011). Evolutionary analyses of the nuclear-encoded photosynthetic gene *psbO* from tertiary plastid-containing algae in Dinophyta. *J. Phycol.*, in press.
5. Kato, S., Misawa, K., Takahashi F., Sakayama, H., Sano, S., Kosuge, K., Kasai, F., Watanabe, M. M., Tanaka, J., and *Nozaki, H. (2011). Aquatic plant speciation affected by diversifying selection of organelle dna regions. *J. Phycol.*, in press.
6. Setohigashi, Y., Hamaji, T., Hayama, M., Matsuzaki, R., and *Nozaki, H. (2011). Uniparental Inheritance of Chloroplast DNA Is Strict in the Isogamous Volvocalean *Gonium*. *PLoS ONE* 6(4), e19545.
7. *Nakada, T., Tomita, M. and Nozaki, H. (2010). *Volvolina compacta* (Volvocaceae, Chlorophyceae), new to Japan, and its phylogenetic position. *J. Jpn. Bot.* 85 (6), 364-369.
8. *Matsuzaki, R., Nakada, T., Hara, Y., and Nozaki, H. (2010). Light and electron microscopy and molecular phylogenetic analyses of *Chloromonas pseudoplatyrhyncha* (Volvocales, Chlorophyceae) *Phycol Res.* 58 (3), 202-209.
9. Kato, S., Sakayama, H., Morishima, H., Sano, S., Oomori, Y., Kato, N. Ito, M., Kasai, F., Watanabe, M. M., and *Nozaki, H. (2010). Morphology and molecular phylogeny of *Chara altaica* (Charales, Charophyceae), a monoecious species of the section *Desvauxia*. *Cytologia* 75 (2), 221-220.
10. Yoshida, S., Maruyama, S., Nozaki, H., and *Shirasu, K. (2010). Horizontal gene transfer by the parasitic plant *Striga hermonthica*. *Science* 328 (5982), 1128.
11. *Maruyama, S., Junichi Sugahara, J., Kanai, A., and Nozaki, H. (2010). Permuted tRNA genes in the nuclear and nucleomorph genomes of photosynthetic eukaryotes. *Mol. Biol. Evol.* 27 (5), 1070-1076.
12. Hayama, M., Nakada, T., Hamaji, T., and *Nozaki, H. (2010). Morphology, molecular phylogeny and taxonomy of *Gonium maiaprilis* sp. nov. (Goniaceae, Chlorophyta) from Japan. *Phycologia* 49 (3), 221-234.
13. *Nakada, T., Nozaki, H., and Tomita, M. (2010). Another origin of coloniality in volvocales: The phylogenetic position of *Pyrobotrys Arnoldi* (Spondylomoraceae, Volvocales). *J. Eukaryot. Microbiol.* 57 (4), 379-382.
14. Ferris, P., Olson, B. J. S. C., De Hoff, P. L., Douglass, S., Casero Diaz-Cano, D., Prochnik, S., Geng, S., Rai, R., Grimwood, J., Schmutz, J., Nishii, I., Hamaji, T., Nozaki, H., Pellegrini, M., and *Umen, J. G. (2010). Evolution of an Expanded Sex-Determining Locus in *Volvox*. *Science* 328 (5976), 351-354.
15. *Tsuchikane, Y., Sato, M., Ootaki, T., Kokubun, Y., Nozaki, H., Ito, M., and Sekimoto, H. (2010). Sexual processes and phylogenetic relationships of a homothallic strain in the *Closterium peracerosum-strigosum-littorale* complex (Zygnematales, Charophyceae). *J. Phycol.* 46 (2), 278-284.

公募研究代表者 平井 誠 (群馬大学・大学院医学系研究科・講師)

1. *Mori, T., Hirai, M., Kuroiwa, T., and Miyagishima, S.Y. (2010). The functional domain of GCS1-based gamete fusion resides in the amino terminus in plant and parasite species. *PLoS One* 5 (12), e15957.
2. Ishida, H., Matsuzaki-Moriya, C., Imai, T., Yanagisawa, K., Nojima, Y., Suzue, K., Hirai, M., Iwakura, Y., Yoshimura, A., Hamano, S., Shimokawa, C., and *Hisaeda, H. (2010). Development of experimental cerebral malaria is independent of IL-23 and IL-17. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 402 (4), 790-795.

3. *Matsuoka, H., Ikezawa, T., Hirai, M. (2010). Production of a transgenic mosquito expressing circumsporozoite protein, a malarial protein, in the salivary gland of *Anopheles stephensi* (Diptera: Culicidae). *Acta Med. Okayama* 64 (4), 233-241.
4. Iseki, H., *Kawai, S., Takahashi, N., Hirai, M., Tanabe, K., Yokoyama, N., and Igarashi, I. (2010). Evaluation of a loop-mediated isothermal amplification method as a tool for diagnosis of infection by the zoonotic simian malaria parasite *Plasmodium knowlesi*. *J. Clin. Microbiol.* 48 (7), 2509-2514.
5. *Hirai, M. and Mori, T. (2010). Fertilization is a novel attacking site for the transmission blocking of malaria parasites. *Acta Trop.* 114 (3), 157-161.
6. Wang, J., *Matsuoka, H., Hirai, M., Mu, L., Yang, L., and Luo, E. (2010). The first case of a class I glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency, G6PD Santiago de Cuba (1339 G > A), in a Chinese population as found in a survey for G6PD deficiency in northeastern and central China. *Acta Med. Okayama* 64 (1), 49-54.

公募研究代表者 広橋 教貴 (お茶の水女子大学・大学院人間文化創成科学研究科・講師)

1. Jin, M., Fujiwara, E., and *Hirohashi, N. (2011). Real-time observations of the mouse sperm acrosome reaction during *in vitro* fertilization. In "*Sperm Cell Research in the 21st Century: Historical Discoveries to New Horizons*" M. Morisawa (ed.), Adthree Publishing Co, in press.
2. *Hirohashi, N., Gerton, G.L., and Buffone, M.G. (2011). Video imaging of the sperm acrosome reaction during *in vitro* fertilization. *Communicative & Integrative Biology*, 4 (4), 1-6.
3. Jin, M., Fujiwara, E., Kakiuchi, Y., Okabe, M., Satouh, Y., Baba, S.A., Chiba, K., and *Hirohashi, N. (2011). Most fertilizing mouse spermatozoa begin their acrosome reaction before contact with the zona pellucida during *in vitro* fertilization. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 108 (12), 4892-4896.
4. Harada, K., Fukuda, E., *Hirohashi, N., and Chiba, K. (2010). Regulation of intracellular pH by p90Rsk-dependent activation of an Na⁺/H⁺ exchanger in starfish oocytes. *J. Biol. Chem.* 285 (31), 24044-24054.

公募研究代表者 松田 幹 (名古屋大学・大学院生命農学研究科・教授)

1. Han, L.**, Monné, M.**, Okumura, H.**, Schwend, T., Cherry, A.L., Flot, D., Matsuda, T., and *Jovine, L. (**equally contributed) (2010). Insights into egg coat assembly and egg-sperm interaction from the X-ray structure of full-length ZP3. *Cell* 143 (3), 404-415.

公募研究代表者 松本 緑 (慶應義塾大学・理工学部・准教授)

1. Furukawa, R., Matsumoto, M., and *Kaneko, H. (2011). Characterization of a scavenger receptor cysteine-rich-domain-containing protein of the starfish, *Asterina pectinifera*: ApSRCR1 acts as an opsonin in the larval and adult innate immune systems. *Dev. Comp. Immunol.*, doi:10.1016/j.dci.2011.06.005
2. Hamanaka, G., Hosaka, E., Kuraishi, R., Hosoya, N., Matsumoto, M., and *Kaneko, H. (2011). Uneven distribution pattern and increasing numbers of mesenchyme cells during development in the starfish, *Asterina pectinifera*. *Dev. Growth Differ.* 53 (3), 440-449.
3. Miyashita, H., Nakagawa, H., Kobayashi, K., Hoshi, M., and *Matsumoto, M. (2011). Effects of 17β-estradiol and bisphenol A on the formation of reproductive organs in planarians. *Biol. Bull.* 220 (1), 47-56.
4. Naruse, M., Ishikawa, R., Sakaya, H., Moriyama, H., Hoshi, M., and *Matsumoto, M. (2011). Novel conserved structures, acrosome reaction-inducing substance (ARIS) domains, are widespread in invertebrates. *Mol. Reprod. Dev.* 78 (1), 57-66.
5. Hamanaka, G., Matsumoto, M., Imoto, M., and *Kaneko, H. (2010). Mesenchyme cells can function to induce epithelial cell proliferation in starfish embryos. *Dev. Dyn.* 239 (3), 818-827.
6. Naruse, M., Suetomo, H., Matsubara, T., Sato, T., Yanagawa, H., Hoshi, M., and *Matsumoto, M. (2010). Acrosome reaction-related steroidal saponin, Co-ARIS, from the starfish induces structural changes in microdomains. *Dev. Biol.* 347, 147-153.

公募研究代表者 真野 昌二 (基礎生物学研究所・高次細胞機構研究部門・助教)

1. Hino, T., Tanaka, Y., Kawamukai, M., Nishimura, K., Mano, S., and *Nakagawa, T. (2011). Two Sec13p Homologs, AtSec13A and AtSec13B, Redundantly Contribute to Formation of COPII Transport Vesicles in *Arabidopsis thaliana*. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* in press.
2. Goto, S., Mano, S., Nakamori, C., and *Nishimura, M. (2011). Arabidopsis ABERRANT PEROXISOME MORPHOLOGY 9 is a peroxin that recruits the PEX1-PEX6 complex to peroxisomes. *Plant Cell* 23 (4), 1573-1587.
3. Mano, S., Miwa, T., Nishikawa, S., Mimura, T., and *Nishimura, M. (2011). The Plant Organelles Database 2 (PODB2): an updated resource containing movie data of plant organelle dynamics. *Plant Cell Physiol.*, 52 (2), 244-253.
4. Nakamura, S., Mano, S., Tanaka, Y., Ohnishi, M., Nakamori, C., Araki, M., Niwa, T., Nishimura, M., Kaminaka, H., Nakagawa, T., Sato, Y., and *Ishiguro, S. (2010). Gateway binary vectors with the bialaphos resistance gene, bar, as a selection marker for plant transformation. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 74 (6), 1315-1319.

公募研究代表者 山田 力志 (名古屋大学・大学院理学研究科・特任助教)

1. *Sawada, H., Saito, T., Yamaguchi, A., Harada, Y., and Yamada, I. (2010). Allorecognition mechanisms in ascidian fertilization: A reproduction strategy shared with flowering plants. In "*Sperm Cell Research in the 21st Century: Historical Discoveries to New Horizons*" M. Morisawa (ed), Adthree Publishing Co, in press.

2. Yamaguchi, A., Saito, T., Yamada, L., Taniguchi, H., Harada, Y., and *Sawada, H. (2011). Identification and Localization of Sperm CRISP Family Protein CiUrbain Involved in Gamete Interaction in the Ascidian *Ciona intestinalis*, *Mol. Reprod. Dev.*, doi:10.1002/mrd.21329.
3. *Endo, T., Ueno, K., Yonezawa, K., Mineta, K., Hotta, K., Satou, Y., Yamada, L., Ogasawara, M., Takahashi, H., Nakajima, A., Nakachi, M., Nomura, M., Yaguchi, J., Sasakura, Y., Yamasaki, C., Sera, M., Yoshizawa, A.C., Imanishi, T., Taniguchi, H., and Inaba, K. (2011). CIPRO 2.5: *Ciona intestinalis* protein database, a unique integrated repository of large-scale omics data, bioinformatic analyses and curated annotation, with user rating and renewing functionalit. *Nucleic Acids Res.* 39 (Suppl. 1), 807-814.

公募研究代表者 吉田 学 (東京大学・大学院理学系研究科・准教授)

1. *Yoshida, M. (2011). Regulation of sperm chemotaxis in the ascidian, *Ciona intestinalis*. In *"Sperm Cell Research in the 21st Century: Historical Discoveries to New Horizons"* M. Morisawa (ed.), Adthree Publishing Co, in press.
2. Kambara, Y., Shiba, K., Yoshida, M., Sato, C., Kitajima, K., and *Shingyoji, C. (2011). Mechanism regulating Ca²⁺-dependent mechanosensory behaviour in sea urchin spermatozoa. *Cell Struct. Funct.* 36 (1), 69-82.
3. Kawano, N., Yoshida, K., Miyado, K., and *Yoshida, M. (2011). Lipid rafts: Keys to sperm maturation, fertilization, and early embryogenesis. *J. Lipids*, doi:10.1155/2011/264706.
4. *Yoshida, M. and Yoshida, K. (2011). Sperm chemotaxis and regulation of flagellar movement by Ca²⁺. *Mol. Human Reprod.*, in press.
5. *Yoshida, K., Iwamoto, T., and Yoshida, M. (2010). Chapter 6: Effects of the seminal plasma proteins semenogelin (SEMG)/seminal vesicle secretion 2 (SVS2) on sperm fertility. In *"Human Spermatozoa: Maturation, Capacitation and Abnormalities"* Lejeune, T. and Delvaux, P. (eds.). Nova Science Publishers, Inc., chapter 6, pp.205-220.
6. *Kawano, N., Ito, J., Kashiwazaki, N., and Yoshida, M. (2010). Phosphorylation of the MAPK pathway has an essential role in the acrosome reaction in miniature pig sperm. *Reprod. Domest. Anim.* 45 (2), 263-268.

(2) ホームページについて

領域ホームページの URL: <http://allo-authentication.net/>

当領域では発足当初より和英のホームページ (HP) を作成し、領域の組織・研究・活動情報等を広報してきた。また HP 内に、班員および領域関係者を中心に新着論文の紹介と評論を行う共有サイト Forum を立ち上げ、活発な議論を行ってきた。現在の総投稿数は 102 件にのぼる。この Forum を通して情報の共有化と研究交流の活性化を図っており、60 件の領域内共同研究発足に貢献している。

HP への来訪者数はカウントを始めた 2010 年 11 月 14 日から本年 6 月 15 日までの 7 ヶ月間で、合計 3759 件にのぼる。2010 年 12 月と 2011 年 5 月は突出してアクセス件数が多かったが、各々領域ニュースレター第 2 号を配布した時期、公開講演会ポスターを配布した時期と重なる。全来訪者の内、約 25%にあたる 894 件が新規ユーザーであった。海外からも 69 件のアクセスがあった。

HP の活用による広報活動に加え、当領域では、ニュースレターをこれまでに 2 回発行し、学内外関係者および各種研究教育機関へ配布し、新研究分野である領域研究を広く認知・理解してもらえるよう努めている。第 1 号 (2010 年 6 月発行) では、計画班員公募班員全員の研究概要を紹介し、初めて出会う動植物研究者が相互理解を深める配慮をした。第 2 号 (2010 年 12 月発行) では、各班員が共同研究の提案や実験技術の紹介をし、領域内の研究交流を促進する配慮をした。現在編集中の第 3 号 (2011 年 9 月発行予定) では、領域内で発足した共同研究の成果を中心に、領域内の最新研究情報を掲載し、さらなる研究の発展を鼓舞する予定である。

(3) 公開発表について

【本領域が主催したシンポジウム、ワークショップ、講演会】
(2009 年 9 月 1 日～2011 年 6 月 30 日) 国内 10 件、国際 1 件

- 1) 第 82 回日本生化学会大会 シンポジウム 3S17a 「動植物におけるアロ認証機構」

日時：平成 21 年 10 月 23 日（金）9 時 15 分-11 時 45 分、場所：神戸ポートピアホテル（神戸）、
参加者数：約 150 名、演題（口頭発表 7 件）

2) 第 32 回日本分子生物学会年会 ワークショップ 2W12「動植物の受精とアロ認証機構」
日時：平成 21 年 12 月 10 日（木）13 時 15 分～15 時 45 分、場所：パシフィコ横浜（横浜）、
参加者数：約 150 名、演題（10 件）

3) 第 1 回国際シンポジウム「Intercellular Recognition and Allogeneic Authentication: Perspectives of Reproduction Mechanisms Shared by Animals and plants」日時：平成 22 年 1 月 14 日 9 時-18 時、
場所：八事サーウィンストーンホテル（名古屋）、参加者数：77 名（内 9 名外国人）、
演題（招待講演 14 件、ポスター発表 0 件、海外招聘者 6 名、国内招聘者 8 名）

4) 第 1 回領域会、日時：平成 22 年 7 月 14 日-15 日、場所：名古屋大学野依記念学術交流館（名古屋）、参加
者数：97 名（内 1 名外国人）、演題（招待講演 1 件、口頭発表 30 件、ポスター発表 21 件）

5) 第 4 回生殖研究 ワークショップ（主催：生殖若手の会）
日程：平成 22 年 8 月 18 日-20 日、場所：筑波大学下田臨海実験センター（下田）、参加者数：約 100 名
演題（口頭発表 16 件、ポスター発表 29 件）

6) 日本動物学会 第 81 回大会 シンポジウム「植物から学ぶ動物の受精機構：動植物共通のアロ認証機構
を考える」、日時：平成 22 年 9 月 24 日（金）9 時-12 時、場所：東京大学駒場キャンパス（東京）、
参加者数：約 100 名、演題（口頭発表 8 件）

7) 第 17 回臨海若手の会、日程：平成 22 年 9 月 26 日-27 日、場所：東京大学大学院理学系研究科附属臨海実
験所（三浦）、参加者数：73 名（内 1 名外国人）、演題（招待講演 1 件、特別講演 1 件、口頭発表 15 件、ポ
スター発表 0 件）

8) 第 83 回日本生化学会大会・第 33 回日本分子生物学会年会・合同大会 ワークショップ 1W10
名称：「動植物に共通するアロ認証中核原理を探る」、日時：平成 22 年 12 月 7 日（金）9 時-11 時 30 分、
場所：神戸ポートピアホテル（神戸）、参加者数：約 150 名、演題（口頭発表 7 件）

9) 第 2 回領域会議、日時：平成 23 年 1 月 11 日-13 日、場所：下呂温泉山形屋（下呂市）、参加者数：67 名
（内 2 名外国人）、演題（招待講演 3 件、口頭発表 10 件、ポスター発表 23 件）

10) 公開講演会「動物と植物の生殖のしくみ：その不思議な世界」、日時：平成 23 年 6 月 4 日、場所：名古
屋大学理学南館大講堂（名古屋）、参加者数：約 110 名、演題（口頭発表 4 件、体験コーナー）

11) 第 3 回領域会議、日時：平成 23 年 6 月 30 日-7 月 1 日（予定）、場所：関西セミナーハウス（京都）、参
加者数：81 名（内 2 名外国人）予定、演題（招待講演 1 件、口頭発表 10 件、ポスター発表 25 件）予定

【国内外の会議等での招待講演による発表の状況】

(2009 年 9 月 1 日～2011 年 6 月 30 日) 国際会議等 29 件、国内学会等 51 件

計画研究代表者 澤田 均

1. Sawada, H. 「Self-sterile mechanisms in hermaphroditic marine primitive chordates (ascidians)」 1st Annual World Congress of Marine Biotechnology, World EXPO Center (Dalian, China), 2011 年 4 月 26 日
2. Sawada, H. 「Allorecognition systems during gamete interaction in ascidians」 JAMBIO Forum, Shimoda Marine Research Center (Shimoda), 2011 年 1 月 21 日
3. 澤田 均 「Allorecognition mechanisms during ascidian fertilization: The shared reproductive strategy with animals and plants」 日本分子生物学会年会・日本生化学会大会合同大会 (BMB2010) ワークショップ「動植物に共通するアロ認証中核原理を探る」, 神戸ポートピアホテル（神戸）, 2010 年 12 月 7 日

4. Sawada, H. 「Carbohydrate-mediated gamete interaction in ascidians」 JST Workshop on Structures and Functions in Marine Chordates, University of Lille (Lille, France), 2010年10月8日
5. Sawada, H. 「Allorecognition and lysin systems in ascidian fertilization」 France-Japan Marine Glycobiology Conference, Brest Center, National Marine Science Institute (Brest, France), 2010年10月12日
6. 澤田 均 「動植物共通のアロ認証機構とホヤのアロ認識機構」 日本動物学会シンポジウム「植物から学ぶ動物の受精機構：動植物共通のアロ認証機構を考える」, 東京大学駒場キャンパス (東京), 2010年9月24日
7. 澤田 均 「原索動物ホヤ類におけるアロ認識機構」 生殖若手の会シンポジウム, 筑波大学下田臨海実験センター (下田), 2010年8月18日
8. Sawada, H., Saito, T., Yamaguchi, A., Yamada, L., and Harada, Y. 「Allorecognition mechanisms in ascidian fertilization: A reproduction strategy shared with flowering plants」 11th International Symposium on Spermatology, Okinawa Covention Center (Okinawa, Japan), 2010年6月29日
9. Sawada, H. 「Self-incompatibility systems in fertilization of hermaphroditic protochordates: The reproduction mechanisms shared by animals and plants」 International Symposium of Cell-Cell Communication in Plant Reproduction, 奈良県新公会堂 (奈良), 2010年3月11日
10. 澤田 均 「ホヤの受精におけるアロ認識機構」 日本分子生物学会ワークショップ「動植物の受精とアロ認証機構」, パシフィコ横浜 (横浜), 2009年12月10日
11. 澤田 均 「ホヤの受精におけるアロ認識機構」, サントリー生物有機科学研究所 (大阪府三島郡島本町), 2009年11月17日
12. 澤田 均 「配偶子間相互作用の分子機構: ユビキチン-プロテアソームシステムの役割とアロ認識機構」, 愛知学院大学薬学部講義室 (名古屋), 2009年11月16日
13. 澤田 均 「原索動物ホヤ類におけるアロ認識機構」 日本生化学会シンポジウム「動植物におけるアロ認証機構」, 神戸ポートピアホテル (神戸), 2009年10月23日

計画研究代表者 岩野 恵

1. 岩野 恵 「バイオイメージングによるアブラナ科植物アロ認識機構の解析」 第32回日本分子生物学会ワークショップ「動植物の受精とアロ認証機構」, パシフィコ横浜 (横浜), 2009年12月10日
2. 岩野 恵 「アブラナ科植物におけるアロ認識機構」 日本生化学会第82回大会シンポジウム「動植物におけるアロ認証機構」, 神戸ポートピアホテル (神戸), 2009年10月23日
3. Iwano, M. 「Three dimensional analysis of the vacuolar structure in papilla cells during self- and cross-pollination in Brassicaceae」, 6th International Symposium on Electron Microscopy in Medicine and Biology (Kobe), 2009, 2009年9月16日

計画研究代表者 稲葉 一男

1. Inaba, K. 「The Functions of Ca²⁺ in the Regulation of Sperm Flagellar Motility」 The 17th International Symposium on Ca-Binding Proteins and Ca Function in Health and Disease (CaBP17). (Beijing, China), 2011年7月16-21日
2. 柴 小菊, 稲葉 一男 「海産無脊椎動物精子を用いた鞭毛運動制御機構の解析」 第63回日本細胞生物学会大会サテライトシンポジウム「繊毛研究のニューフロンティアー構造から機能そして病態へー」, 北海道大学(札幌), 2011年6月29日
3. Inaba, K. 「Proteomic Approach to Study the Functional Diversity of Cilia and Flagella in Marine Invertebrates.」 BIT's 1st Annual World Congress of Marine Biotechnology Theme: Ocean, Life and Sustainability, (Dalian, China), 2011年4月26日
4. Inaba, K. 「Proteomics, Cell Biology and Physiology for Sperm Flagellar Motility」 6th Asian-Pacific Organization for Cell Biology Congress, (Manila, Philippines), 2011年2月26日
5. Inaba, K. 「Expectations from the community II-Protein」 1st Tunicate Information System Meeting, (Nice, France), 2010年11月11日
6. 稲葉 一男 「海産生物とノーベル賞ー生命科学にみる海産生物の重要性」 下田市市民講座, 下田市民会館 (下田), 2010年10月15日
7. Inaba, K. 「Recent topics in the architecture and function of sperm flagella」 11th International Symposium on Spermatology, Okinawa Convention Center (Okinawa, Japan), 2010年6月24日

8. 稲葉 一男 「精子鞭毛の構造と運動制御機構」 新学術領域研究「配偶子幹細胞」第3回領域会議, 筑波大学 (下田), 2010年6月3日
9. Inaba, K. 「cAMP and Ca²⁺-dependent regulation of axonemal dyneins at activation of sperm motility.」 International Workshop on Dynein 2009, Kobe Fashion Museum (Kobe, Japan), 2009年11月3日
10. 稲葉 一男 「鞭毛絨毛研究の新展開:一次絨毛の発見とゲノム科学の浸透」成茂記念動物科学シンポジウム『動物学の"進化"-この10年の概念と技術の進展』,静岡グランシップ交流ホール (静岡), 2009年9月19日

計画研究代表者 馬場 忠

1. Baba, T. 「Functional Roles of Sperm Hyaluronidases, HYAL5 and SPAM1, in Mouse Fertilization」 20th International Symposium on Glycoconjugates, (Puerto Rico), 2009年11月30日

計画研究代表者 宮戸 健二 (分担者:井上 直和)

1. 宮戸 健二 「精子と卵子の融合メカニズム:感染症と生殖をつなぐ構造体」第52回日本哺乳動物卵子学会, 国際医療福祉大学本校 (大田原), 2011年5月21日
2. 宮戸 健二 「精子と卵子の融合メカニズム:基本原理と種特異性」第13回麻布大学 生殖・発生工学セミナー「受精メカニズムの比較と新しいKO動物作出法」, 麻布大学 (相模原), 2011年3月6日
3. 宮戸 健二 「哺乳動物の受精に関わる分子メカニズム」第12回山形大学 生命・環境科学交流セミナー, 山形大学 (鶴岡), 2010年11月26日
4. Miyado, K. 「CD9 action in the egg and on the sperm of mice」 Cell-Cell Fusion, Gordon Research Conferences, Colby-Sawyer College (New London, U.S.A.), 2009年7月20日
5. 井上 直和 「ほ乳類の融合関連因子 IZUMO1 の構造と局在解析」第33回日本分子生物学会年会, 神戸ポートピアホテル(神戸), 2010年12月7日
6. 井上 直和 「受精の膜融合における活性化メカニズム」大阪大学蛋白質研究所セミナー 疾患と膜動態の蛋白質科学, 大阪大学 (吹田), 2010年9月17日

計画研究代表者 岡本 龍史

1. 岡本 龍史 「被子植物における配偶子融合の分子認証機」シンポジウム「動植物におけるアロ認証機構」第82回日本生化学会大会, 神戸ポートピアホテル (神戸), 2009年10月23日

計画研究代表者 森 稔幸

1. 森 稔幸 「原生生物の生殖機構を植物に問う」第15回つくば藻類・プロテリストフォーラム, 筑波大学 (つくば), 2011年2月21日
2. 森 稔幸 「植物・動物・原生生物の共通受精機構を語る分子 GCS1」日本動物学会第81回大会シンポジウム「植物から学ぶ動物の受精機構:動植物共通のアロ認証機構を考える」, 東京大学 (東京都), 2010年9月24日
3. 森 稔幸 「植物受精の解析から配偶子融合の共通機構を探る」日本分子生物学会第32回大会ワークショップ「動植物の受精とアロ認証機構」, パシフィコ横浜 (横浜), 2009年12月10日
4. 森 稔幸 「植物受精研究の最前線」総合研究機構知識インターフェース部門講演会, 東京理科大学 (野田), 2009年11月6日
5. 森 稔幸 「植物と動物に共通な配偶子融合機構にせまる鍵分子"GCS1"」日本生化学会第82回大会シンポジウム「動植物におけるアロ認証機構」, 神戸ポートピアホテル (神戸), 2009年10月23日
6. 森 稔幸 「重複受精最終ステージを謎解く:植物受精決定因子の発見とその後」日本植物学会第73回大会シンポジウム「高等植物の生殖および初期発生研究の最前線」, 山形大学 (山形), 2009年9月19日

公募研究代表者 伊藤 昌彦

1. 伊藤 昌彦 「精子形成における phospholipase C-zeta の関与」日本アンドロロジー学会 第30回学術大会, 都市センターホテル (東京), 2011年7月22日
2. 伊藤 昌彦 「卵活性化因子の同定-PLCzeta の新機能」第52回日本哺乳動物卵子学会, 国際医療福祉大学

(大田原), 2011年5月21日

3. Masahiko, I. 「Arrest of spermatogenesis at round spermatids in PLCZ1-deficient mice」 The 11th International Symposium on Spermatology, Okinawa Convention Center (Okinawa, Japan), 2010年6月26日

公募研究代表者 掛田 克行

1. 掛田 克行 「イネ科植物の受粉過程における二遺伝子座自家不和合性システム」 日本分子生物学会第33回年会, 神戸ポートアイランド(神戸), 2010年12月7日

公募研究代表者 河野 重行

1. 河野 重行 「お母さんからしか遺伝しない～母性遺伝と雌雄性の謎を解く～」 科博講座, 国立科学博物館(上野), 2010年12月18日
2. 河野 重行 「藻類における雌雄性の起源と配偶子の非対称性」 日本動物学会第81回大会シンポジウム「植物から学ぶ動物の受精機構: 動植物共通のアロ認証機構を考える」, 東京大学(東京都), 2010年9月24日

公募研究代表者 坂本 亘

1. Sakamoto, W. 「Critical role of FtsH protease in Photosystem II repair and thylakoid development in higher plants」 Japanese-Finnish Seminar 2011: Future prospects of photosynthetic organisms, (Okayama, Japan), 2011年3月4日
2. Sakamoto, W. 「Degradation of Organelle DNAs Mediated by the DPD1 Exonuclease in Pollen Vegetative Cells」 Plant and Animal Genome IXI, (San Diego, U.S.A.), 2011年1月16日
3. Sakamoto, W. 「Potential of plant stress science for green innovation: overview」 The fifth JKUAT scientific, technological and industrialization conference, (Nairobi, Kenya), 2010年11月17日
4. Sakamoto, W. 「Dynamic behavior of organellar DNAs during pollen development」 2011Switzerland-Japan Workshop: Adaptation of the plastids to various environmental conditions, Villars-sur-Ollon (Switzerland), 2011年1月12日
5. Sakamoto, W. 「A novel link between chloroplast development and stress response lessened by the leaf-variegated mutant」 15th International Congress of Photosynthesis Research, Friendship Hotel (Beijing, China), 2010年8月26日

公募研究代表者 笹浪 知宏

1. 笹浪 知宏 「鳥類の雌性生殖器と受精戦略」 第13回麻布大学生殖・発生工学セミナー, 麻布大学(相模原), 2011年3月6日
2. 笹浪 知宏 「鳥類の受精に関する細胞生物学的研究」 第35回鳥類内分泌研究会, 三光荘(岡山), 2010年11月25日

公募研究代表者 佐藤 賢一

1. 佐藤 賢一 「膜マイクロドメインを足場とする精子受容と発生開始シグナルの分子機構」 麻布大学生殖・発生工学セミナー, 麻布大学(相模原), 2011年3月6日
2. 佐藤 賢一 「ツメガエル卵細胞膜マイクロドメインを足場とする受精成立のシグナル伝達機構」 日本動物学会第81回大会シンポジウム 植物から学ぶ動物の受精機構: 動植物共通のアロ認証機構を考える, 東京大学(東京都), 2010年9月24日
3. 佐藤 賢一 「Molecular mechanisms of Xenopus egg fertilization: Roles of egg membrane microdomains and their associated signaling molecules」 国際シンポジウム「Mechanisms of Egg Maturation and Fertilization: From Sea to Land」, Friday Harbor Laboratories (San Juan Island, U.S.A.), 2010年9月12日
4. 佐藤 賢一 「受精卵およびがん細胞におけるチロシンリン酸化シグナル伝達機構」 山口大学大学院理工学研究科セミナー, 山口大学(山口), 2010年9月3日
5. 佐藤 賢一 「受精卵およびがん細胞におけるチロシンリン酸化シグナル伝達機構」 神戸大学研究重点研究チーム学術講演会, 神戸大学(神戸), 2010年3月12日

公募研究代表者 柴 小菊

1. 柴 小菊, 稲葉 一男「海産無脊椎動物精子を用いた鞭毛運動制御機構の解析」第 63 回日本細胞生物学会大会サテライトシンポジウム「繊毛研究のニューフロンティアー構造から機能そして病態へー」, 北海道大学(札幌), 2011 年 6 月 29 日

公募研究代表者 土屋 亨

1. 土屋 亨「サツマイモ野生種 (*Ipomoea trifida*) の自家不和合性における S 遺伝子の同定に向けたアプローチ」基礎生物学研究所研究集会「アサガオ研究集会」, 基礎生物学研究所(岡崎), 2010 年 11 月 13 日

公募研究代表者 出口 竜作

1. Deguchi, R.「Regulation of oocyte meiotic maturation in jellyfish」, Mechanisms of Egg Maturation and Fertilization: From Sea to Land, Friday Harbor Laboratories (WA, U.S.A.), 2010 年 9 月 10 日

公募研究代表者 年森 清隆

1. Toshimori, K, and Ito C. 「Role of the acrosome and perinuclear theca substances for sperm head formation.」The 67th Annual Meeting of the Japanese Society of Microcopy, (Fukuoka, Japan), 2011 年 5 月 16 日
2. Toshimori, K, Ito, C, Yamatoya, K. 「Feasibility of human male germ cell induction from somatic stem cells.」Proceeding of the 88th Annual Meeting of The Physiological Society of Japan and the 116th Annual Meeting of the Japanese Association of Anatomists (The Journal of Physiological Sciences), (Yokohama, Japan), 2011 年 3 月 28 日
3. 年森 清隆 「精子の構造と機能」第 1 回生殖医療研究会, 東京医科大学病院臨床講堂(東京都), 2011 年 2 月 6 日
4. 年森 清隆 「男性不妊と体外受精: その明と暗」第 24 回東京生殖医療懇談会, ANA インターコンチネンタルホテル東京(東京都), 2010 年 12 月 2 日
5. Toshimori, K. 「Sperm CD9; tetraspanin family protein CD9 expression in the testis and its fate during fertilization」International Symposium on Morphological Sciences, (Taormina, Italy), 2010 年 9 月 20 日
6. 年森 清隆 「生殖細胞機能の可視化: 精細胞分化から受精/初期胚発生まで」第 6 回 IIRS (総合画像研究支援) セミナー, 日本女子大学百年館高層棟 5F 会議室(東京都), 2010 年 6 月 5 日

公募研究代表者 野崎 久義

1. 野崎 久義 「細胞内共生による藻類多様性の起源-色素体進化の新仮説と「超植物界」葉山セミナー先導科学考究, 総合研究大学院大学(葉山), 2010 年 11 月 16 日
2. 野崎 久義 「群体性ボルボックス目の性染色体領域の解読から雌雄の起源と進化を探る」染色体学会第 61 回大会企画シンポジウム「藻類ゲノムの最前線」, 東邦大学(船橋), 2010 年 11 月 5 日
3. 野崎 久義 「メスとオスのはじまりの謎をボルボックスの仲間で解く」公開セミナー 琉球大学理学部海洋自然科学科, 琉球大学(西原町), 2010 年 10 月 19 日
4. 野崎 久義 「群体性ボルボックス目の研究から解き明かされるメスとオスの起源」千葉県立中央博物館・自然誌シンポジウム「宮部金吾生誕 150 周年記念、日本の藻類学は今!」, 千葉県立中央博物館(千葉), 2010 年 7 月 17 日
5. 野崎 久義 「Studies of the colonial volvocalean algae unveiling the origin of male and female --- Discovery of a male-specific gene “OTOKOGI” and female-limited “HIBOTAN” genes --」The 1439th Biological Symposium (English seminar), 国立遺伝学研究所(三島), 2010 年 6 月 30 日

公募研究代表者 平井 誠

1. 平井 誠 「Allorecognition mechanisms during ascidian fertilization: The shared reproductive strategy with animals and planst」日本分子生物学会年会・日本生化学会大会合同大会 (BMB2010) ワークショップ「動物に共通するアロ認証中核原理を探る」, 神戸ポートピアホテル(神戸), 2010 年 12 月 7 日

公募研究代表者 広橋 教貴

1. Hirohashi, N. 「Real-time observation of the mouse sperm acrosome reaction during in vitro fertilization.」 11th International Symposium on Spermatology, Okinawa Convention Center (Okinawa, Japan), 2010年6月29日

公募研究代表者 松本 緑

1. 松本 緑 「プラナリアの生殖様式転換システム 無性生殖から有性生殖へ」 第29回分子病理学研究会, 筑波大学 (つくば市), 2010年7月31日
2. Matsumoto, M. 「Concerted reaction of acrosome reaction-inducing substances in starfish」 11th International Symposium on Spermatology Okinawa 2010 Jean C. Dan Memorial Symposium: Molecular Biology of the Acrosome Reaction, (Okinawa, Japan), 2010年6月28日

公募研究代表者 大和 勝幸

1. 大和 勝幸 「ゼニゴケ-アロ認証研究におけるモデル生物としての可能性」 日本動物学会第81回大会シンポジウム, 東京大学 (東京都), 2010年9月24日
2. 大和 勝幸 「モデル実験生物ゼニゴケのゲノム情報およびリソースの現状」 日本植物学会第74回大会シンポジウム, 中部大学 (春日井), 2010年9月10日

公募研究代表者 吉田 学

1. Yoshida, M. 「Role of Ca²⁺ in chemotactic behavior of ascidian sperm」 6th Asian-Pacific Organization for Cell Biology Congress, (Manila, Philippines), 2011年2月26日
2. Yoshida, M. 「Mechanism of ascidian sperm chemotaxis」 11th International Symposium on Spermatology, Okinawa Convention Center (Okinawa, Japan), 2010年6月27日

<その他の参考資料 (受賞、報道、産業財産権等)>

受賞 (2件)

柴 小菊: Best Poster Award, 11th International Symposium on Spermatology, 2010年6月28日

森 稔幸: 平成21年度基礎科学特別研究員研究成果発表会ポスター賞, 2010年1月15日

報道 (16件)

笹倉 靖徳 (4件)、野崎 久義 (8件)、広橋 教貴 (1件)、松田 幹 (1件)、真野 昌二 (2件)

産業財産権 (4件)

宮戸 健二, 梅澤 明弘, 細胞の造腫瘍性試験方法及び腫瘍マーカー, 特許出願 2010-215828, 2010年9月27日

宮戸 健二, 宮戸 真美, 阿久津 英憲, 哺乳動物卵内への細胞外物質の導入促進剤及び導入方法, 特許登録 4448172, 2010年1月29日

Akutsu Hidenori, Mami Miyado, Kenji Miyado, Promoter for introducing extracellular substance into mammalian ovum and introduction method., No. 2006242041, Nov. 11, 2010. (国外特許登録)

目加田 英輔, 宮戸 健二, 立花 功, 武田 吉人, CD9/CD81 二重欠損非ヒト動物, 特許登録 4696316, 2011年3月11日

(4) 「国民との科学・技術対話」について

国民との科学・技術対話を目指して、公開講演会や出張講義、公開実習等を行っている。領域内の計画班員および公募班員が中心となって行った公開講演会は、平成21年度9月～平成23年6月までで24件ある。その内、総括班が平成23年6月に行った公開講演会とアンケート集計結果を以下に記す。

【公開講演会】

演題: 「動物と植物の生殖のしくみ: その不思議な世界」

日時: 平成23年6月4日 (土) 13:00-16:30、場所: 名古屋大学理学南館大講堂、参加費: 無料、

演者： 東山 哲也（名古屋大学）「植物の泳げない精子：どうやって卵細胞と受精する？」
澤田 均（名古屋大学）「ホヤの受精機構：雌雄同体なのになぜ自家受精しないのか」
岩野 恵（奈良先端科学技術大学院大学）「アブラナにおける自家不和合性：なぜ自家受精しないのか」
宮戸 健二（国立成育医療研究センター）「マウスの受精機構：精子と卵の融合に秘められた謎」
参加者：約 110 名（アンケート回収：88 件）属性：性別（男 37 名、女 44 名、不明 7 名）、年齢（20 歳未満 14 名、20 代 21 名、30 代 11 名、40 代 20 名、50 歳以上 22 名）

体験実習企画：休憩時間にホヤやウニを見たり触ったりする企画を実施した。

ホヤを見る機会や触る機会はほとんどないので、学生や一般参加の皆様には大変好評であった。

アンケート結果：国民との対話を目的として、公開講演会参加者にアンケート調査を実施した。「講演内容が学生や一般人には難解である」という批判的な意見もあったが、「大学で研究されている研究成果が聞けて大変勉強になった」、「またこのような企画を行って欲しい」という前向きな意見も多かった。反省点としては、今回の企画を小中学生から一般人までを対象とした点が挙げられる。小中学生にレベルを合わせると、高校生・大学生や一般人には物足りない内容になる。次回は、対象者を絞って企画したい。

6. 研究組織と各研究項目の連携状況

計画班員（□）と公募班員（■）の名称、所属、研究課題を以下に記す。なお、赤は動物を、緑は植物・単細胞生物を対象とする研究者を示す。

【アロ認識機構】

澤田 均（名古屋大・教授）原索動物ホヤ類におけるアロ認識機構の解明（□）
岩野 恵（奈良先端大・助教）アブラナ科植物におけるアロ認識機構の解明（□）
掛田 克行（三重大・准教授）イネ科植物におけるアロ認識機構の解明（■）
土屋 亨（三重大・准教授）サツマイモ野生種の自家不和合性における自他認識分子機構の解明（■）
松本 緑（慶應大・准教授）受精と免疫におけるアロ認識機構の共通基盤の解明（■）
山田 力志（名古屋大・特任助教）原索動物ホヤ類におけるアロ認識機構とその分子進化の解明（■）

【配偶子接近・相互認識機構】

馬場 忠（筑波大・教授）哺乳類の雌性生殖器における精子認証機構の解明（□）
漆原 秀子（筑波大・教授）細胞性粘菌におけるアロ認証機構の解明（■）
笹浪 知宏（静岡大・准教授）鳥類の卵管で貯精を制御するアロ認証機構（■）
関本 弘之（日本女子大・教授）ヒメミカヅキモの性特異的ファシクリン1 遺伝子ファミリーの分子生理学的解析（■）
松田 幹（名古屋大・教授）ニワトリ卵・精子相互作用における卵Z Pタンパク質と精子CED 1 ホモログの役割（■）
吉田 学（東京大・准教授）精子活性化・走化性時における卵と精子の遠隔分子認証システムの解明（■）

【細胞接着・膜融合機構】

宮戸 健二（成育医療研究セ・室長）＜分担者＞ 井上 直和（大阪大・助教）
哺乳類における配偶子融合の分子認証機構の解明（□）
岡本 龍史（首都大・准教授）被子植物における配偶子融合の分子認証機構の解明（□）
森 稔幸（早稲田大・助教）植物と動物の配偶子融合における中核機構の解明（□）
佐藤 賢一（京産大・教授）細胞膜マイクロドメインを足場とする配偶子間認識と融合の分子機構（■）
出口 竜作（宮城教育大・准教授）刺胞動物卵における精子受容部位の形成・消失機構の解明（■）
年森 清隆（千葉大・教授）精子細胞膜ドメインに起こる配偶子認識と融合に関する超微形態・分子レベルの解明（■）
平井 誠（群馬大・講師）マラリア原虫配偶子認識・膜融合機構の解明とその普遍性の検証（■）
大和 勝幸（近畿大・准教授）比較ゲノム的アプローチによる配偶子認識因子の探索（■）

【新技術開発とアロ認証統合理解】

稲葉 一男（筑波大・教授）＜分担者＞ 笹倉 靖徳（筑波大・准教授）
アロ認証研究のための次世代技術の開発と活用（□）

井川 智子 (千葉大・助教) 重複受精ライブイメージングによる配偶子融合ダイナミクスの解明 (■)
 伊藤 昌彦 (浜松医科大・助教) 哺乳類卵子における精子核認証機構の解明 (■)
 岩尾 康宏 (山口大・教授) 両生類の受精における配偶子認識と卵付活の分子機構の解明 (■)
 河野 重行 (東京大・教授) ヒラアオノリに見る藻類におけるアロ認証機構と雌雄非対称性の進化 (■)
 坂本 亘 (岡山大・教授) 植物のアロ認証に伴う雄側ミトコンドリアの排除とゲノム分解システムの普遍性 (■)
 柴 小菊 (筑波大・助教) 卵因子が制御する精子細胞内シグナルの可視化 (■)
 野崎 久義 (東京大・准教授) 接合突起の比較解析に基づく同型配偶子の接着と融合の分子メカニズムの解明 (■)
 広橋 教貴 (お茶大・講師) 精子ナビゲーション戦略の解析法開発とメカニズム解明 (■)
 真野 昌二 (基生研・助教) 植物生殖機構におけるペルオキシソーム機能・形成の時空間ダイナミクス制御 (■)

【共同研究の進行状況】(共同研究：60件)

領域内の共同研究の構成、研究課題、進捗状況について下記にまとめた。赤は動物を、緑は植物・単細胞生物を対象とする研究者を示す。なお、▲＝(共同研究計画中)、○＝(共同研究遂行中)、◎＝(計画班員と公募班員の共同研究)を示す。特に計画班員と公募班員との有機的連携に力を入れて共同研究を進めている。各研究内容別に分類されている。

【アロ認識機構】

澤田、稲葉、柴、山田：カタユレイボヤ精子のアロ認識シグナル(学会発表3件、著書1件、論文投稿準備中) (◎◎)
 澤田、笹倉、山田：遺伝子改変ホヤを用いた自家不和合性因子の解析 (◎◎)
 澤田、出口、山田、森：ネマトステラ精子GCS1の発現と受精における役割(学会発表予定) (◎◎)
 澤田、出口、山田、森：タマクラゲ精子GCS1の受精における機能解析 (◎◎)
 澤田、出口：前口動物の受精における精子プロテアソームの機能解析 (◎◎)
 澤田、松田：昆虫細胞を用いたホヤ配偶子タンパク質の発現と機能解析 (◎◎)
 澤田、山田、松本：マボヤゲノム情報を利用したアロ認識機構の解析 (◎◎)
 澤田、岩野：動植物共通のアロ認識機構に関する研究(総説投稿中) (○)
 澤田、岩野、掛田、土屋、山田：動植物共通の自家不和合性機構に関する研究 (▲◎)
 岩野、掛田：植物の自家不和合性に関わる因子の解析 (▲◎)
 岩野、佐藤：アブラナ科植物乳頭細胞の生化学的解析 (▲◎)
 掛田、土屋：自家不和合性候補遺伝子を導入した形質転換植物の作出 (○)
 掛田、澤田、山田：植物の自家不和合性に関わる細胞膜タンパク質のプロテオーム解析 (▲◎)
 土屋、岩野：胞子体型自家不和合性を制御する因子の解析 (▲)
 松本、澤田：マボヤゲノム構造の解析とアロ認識研究への応用 (◎◎)
 松本、澤田：マボヤ卵・精子における自己マーカー分子の機能解析 (▲◎)
 松本、稲葉：ホヤ血球反応における自家不和合性の分子メカニズム (◎◎)
 松本、柴：ヒトデ精子運動性の解析(論文作成中) (◎◎)
 山田、澤田：マボヤゲノム構造の解析と受精研究への応用 (◎◎)

【配偶子接近・相互認識機構】

馬場、宮戸：精子セリンプロテアーゼの機能解析(*Biol. Reprod.*, 発表) (○)
 馬場、澤田：精子プロテアソームの構造と受精における役割(学会発表1件) (○)
 馬場、山田、澤田：受精に関わる因子の解析 (◎◎)
 漆原、山田、澤田：細胞性粘菌の細胞融合に関わる因子のプロテオーム解析(学会発表予定、領域会議発表1件) (◎◎)
 笹浪、稲葉、柴：ウズラ精子貯蔵管に含まれる精子の運動調節因子の解析 (◎◎)
 関本、野崎：ホモタリックなヒメミカズキモの有性生殖過程と系統解析(*J. Phycol.*, 発表) (○)
 関本、野崎：二次共生緑色真核生物(ユウグレナ、クロラクニオン藻)のphosphoriburokinase遺伝子を用いた系統解析(学会発表1件、論文投稿準備中) (○)
 関本、野崎：ホモタリックなヒメミカズキモにおける性の発見(論文投稿中) (○)
 野崎、森：ゴニウムの同型配偶子を用いた細胞接着の分子メカニズムの解析(学会発表予定) (◎◎)
 松田、広橋：ニワトリ精子の卵膜通過機構の解析 (○)

- 吉田、稲葉：ホヤ精子走化性物質受容体の単離（国際会議発表1件、著書1件）（〇◎）
 吉田、宮戸：哺乳類精嚢腺タンパク質の機能解析（学会発表2件、国際学会1件、*J. Lipids*, 発表）（〇◎）
 吉田、柴：カタユウレイボヤ精子の走化性運動機構（*Cell Struct. Funct.*, 発表）（〇）
 吉田、松本：ヒトデ精子の先体反応機構（〇）

【細胞接着・膜融合機構】

- 宮戸、伊藤：受精後のカルシウム波伝達機構の解明：PLCzeta欠損マウスの解析（国際会議発表1件、論文投稿準備中）（〇◎）
 宮戸、井上：CD9を介した融合機構の解析（論文投稿準備中）（〇）
 宮戸、井上：哺乳類精子卵融合機構の解析（〇）
 宮戸、岩尾：脊椎動物の卵付活分子の普遍性について（国際会議1件、国内学会発表2件）（〇◎）
 井上、馬場、宮戸：遺伝子欠損マウスを用いた解析（学会発表1件）（〇）
 岡本、宮戸：サンゴの受精機構の解析（▲）
 岡本、井川、森：植物受精における配偶子膜と細胞骨格の動態解析（〇◎）
 森、平井：GCS1の分子機能ドメインの同定（*PLoS ONE*, 印刷中）（〇◎）
 佐藤、澤田、山田：配偶子タンパク質のLC/MS/MS解析による同定（学会発表予定、論文投稿準備中）（〇◎）
 佐藤、岩尾：カエル卵の付活に関わる因子の解析（国際会議1件）（〇）
 出口、広橋：FRETセンサーを用いた配偶子成熟および受精機構の解析（〇）
 年森、宮戸：Equatorin-EGFPトランスジェニックマウスを用いた先体反応と配偶子膜融合の解析（〇◎）
 年森、宮戸：CD9-EGFPトランスジェニックマウスおよびノックアウトマウスを用いた先体反応と配偶子膜融合の解析（〇◎）
 平井、岡本：マラリア原虫とイネの受精に関わるメス側受精因子の解析（〇◎）
 平井、森：マラリア原虫とシロイヌナズナの受精に関わるメス側受精因子の解析（〇◎）
 平井、山田、澤田：マラリア原虫細胞膜タンパク質のプロテオーム解析（▲◎）
 大和、澤田、山田、森：ゼニゴケ精子におけるGCS1の発現と受精における役割（▲◎）
 大和、稲葉：精子鞭毛制御に関わる動植物の共通因子の探索（▲◎）
 大和、澤田、山田：ゼニゴケ精子タンパク質のプロテオーム解析（▲◎）

【新技術開発とアロ認証統合理解】

- 稲葉、澤田、山田：カタユウレイボヤ精子raftタンパク質のプロテオーム解析（〇◎）
 稲葉、馬場：ホヤから発見された走化性シグナル因子カラクシンの機構解析（〇）
 笹倉、山田、澤田：受精に影響ある遺伝子改変カタユウレイボヤの作出（〇◎）
 河野、澤田、山田、森：藻類の同形配偶子融合におけるGCS1の役割（▲◎）
 広橋、柴：生殖行動に適応したヤリイカの精子2型（学会発表済、論文投稿準備中）（〇）
 広橋、柴：ヤリイカの精子集合の運動性解析（〇）
 広橋、漆原：細胞性粘菌を用いた化学走性と化学運動性の解析（▲）
 真野、坂本：配偶子認識過程におけるペルオキシソームの可視化（〇）

7. 研究費の使用状況（設備の有効活用、研究費の効果的使用を含む）

領域内で平成21年から平成23年6月までに購入された高額備品（200万円以上）を納入日順にまとめた。また、備品以外は、ほとんど試薬等の消耗品費と学会発表・研究打合せ旅費である。これらはいずれも有効に活用されている。また、このほかに、澤田の研究費でLC/MS/MSをリースしており（毎月1,625千円（平成21年-平成23年）総計45,511千円）、領域内共同研究に有効活用されている。

班員	品名（製造会社 型番号）	金額（千円）	納品日
澤田	オールインワン蛍光顕微鏡（キーエンス BZ-9000）	9,701	2009/10
岩野	冷却EM-CCDカメラ（日本ローパー社製 Evolve:512）	5,652	2009/11
馬場	共焦点レーザー走査型顕微鏡（リパズ(株) FV10C-W-SET, MIGM/OL-2）	16,327	2009/11
森	落射蛍光微分干渉顕微鏡（オリンパス製 BX51N-34DICT）	2,953	2009/11
稲葉	倒立型リサーチ顕微鏡 蛍光イメージセット（OLYMPUS製 IX71）	3,150	2009/11
岩野	画像解析装置（米国モレキュラーデバイス社製他）	4,000	2009/12
岡本	リアルタイムPCR検出システム（ロッシュライトサイクラー480インスルメントII・96-ウェルTL）	4,991	2009/12

澤田	蛍光実態顕微鏡 (ライカマイクロシステムズ社製 M165 FC)	2,934	2010/03
笹倉	蛍光実態顕微鏡 (ライカマイクロシステムズ製 M165FC)	2,949	2010/07
馬場	高感度レーザー分子定量システム (GEヘルスケア Typhoon FLAb 9000 BCR)	11,151	2010/09
岩野	ハイエンド電動倒立顕微鏡 (Zeiss, AxioObserver.Z1)	5,985	2010/09
稲葉	マルチモードプレートリーダー (ベルトールド製 TriStar LB941-T)	4,819	2010/09
森	倒立型顕微鏡 (オリンパス製 IX81)	2,995	2010/10
岩尾	画像解析システム (モレキュラーデバイスジャパン・メタモルフシステム)	3,364	2010/10
掛田	リアルタイムPCRシステム (アプライドバイオシステムズ製 StepOne)	2,646	2010/10
佐藤	動き解析マイクロスコープ (キーエンス VW-6000)	3,423	2010/10
年森	顕微鏡CCDカメラセット (浜松フォトニクス (株) 製 EM-CCDカメラ)	4,475	2010/11
岡本	バイオイメージングシステム (Lumina Vision, Nearest Neighborアプリケーション)		
	電動シャッター+コントローラー (Mac6000システム)	2,730	2010/12
井上	ルミノ・イメージアナライザー (ImageQuant LAS4000mini)	4,063	2010/12
関本	DNA/RNA分析用マイクロチップ電気泳動装置 (島津製 MCE-202型)	2,499	2011/02
吉田	生体分子間相互作用測定装置 (日本電波工業・NAPiCOSシステム PSA10A)	4,998	2011/05

8. 今後の研究領域の推進方策

今後は、新学術領域内での研究交流の促進、情報と機器の共有化、さらに共同研究の推進を柱に、今までの活動を発展させる予定である。具体的には年に2回の領域会議を行うとともに、ニュースレターを年1～2回発刊する。また、ホームページ内の新着論文紹介評論サイト (Forum) を活用し、情報の共有化と意見交換を行う。領域会議は宿泊施設に泊まり込みで行い、班員1人当りの発表時間を、討論を含めて1時間を目安とし、質疑応答は出尽くすまで行う。これは国内の公開シンポジウムや学会では出来ない企画であり、班員および評価委員からも高く評価されている。また、本領域の研究に直接関係する研究内容ばかりでなく、関連する異分野の研究に関する講演も企画し、新知見や新技術に関する情報収集の場として活用する。情報と機器の共有化に関しては、今後マボヤゲノムのデータベースを構築し、班員に公開して情報の共有化を図る。また、澤田の研究室に設置したLC/MS/MSを領域共有機器として、共同研究によるプロテオーム解析を推進する。そのほか各班員の研究の活性化や研究環境の整備に力をいれる。その一環として、総括班から公募班員に対して適切な指導助言を行う場合もある。

現在予定されている国内の講演会や実習、国際会議、出版物等の予定は次の通りである。

1) 公開実習 ひらめきときめきサイエンス～ようこそ大学の研究室へ～

タイトル「海の生物を採集し受精発生のしくみを調べてみよう」

担当者：澤田 均 (名古屋大学)、開催日：平成23年8月28日 (日)、開催場所：名古屋大学大学院理学研究科附属臨海実験所、対象者と募集人数：小学5・6年生、中学・高校生 (20名)

実習内容：磯のある海岸に出かけ、動植物の生態を観察し、生物の多様性や生態分類学について学習する。

また、ウニを用いて受精や卵割の様子を顕微鏡観察し、生殖機構や受精発生機構について学ぶ。

ホームページ：http://www.jsps.go.jp/hirameki/ht23000/ht23106.pdf

2) 公開実習 ひらめきときめきサイエンス～ようこそ大学の研究室へ～

タイトル「ジェリーフィッシュの命のはじまり～クラゲの有性生殖の観察～」

担当者：出口竜作 (宮城教育大学)、開催日：平成23年10月22日 (土)、10月29日 (土)、

開催場所：宮城教育大学、対象者と募集人数：中学生 (20名)

実習内容：クラゲが卵や精子を産むところ、卵と精子が受精するところ、受精卵が成長していくところを顕微鏡でくわしく観察する。クラゲがどのような生活をしているかを分かりやすく紹介する。

ホームページ：http://www.jsps.go.jp/hirameki/ht23000/ht23021.pdf

3) ニュースレター第3号：領域内共同研究進捗状況はじめ、領域内注目の最新論文を紹介 (平成23年8月発刊予定)

- 4) 日本植物学会第 75 回大会：シンポジウム「有性生殖の共通メカニズムを探る：原生生物から高等動植物まで」、開催日：平成 23 年 9 月 18 日（日）、開催場所：東京大学駒場キャンパス、演題：口頭発表 6 件
- 5) 日本動物学会第 82 回大会：シンポジウム「精子の進化—卵認証を求めて多様化した形態と機能」、開催日：平成 23 年 9 月 21 日（水）、開催場所：旭川市大雪クリスタルホール、演題：口頭発表 5 件
- 6) 公開講演会「緑色蛍光タンパク質の発見とその生命科学への応用（仮題）」
 演者：下村 脩（名古屋大学 特命教授）ほか（交渉中）、開催日：平成 23 年秋または平成 24 年春を予定、開催場所：名古屋大学理学南館大講堂または豊田講堂
- 7) 領域主催の国際会議：5th International Symposium on the Molecular Cell Biology of Egg- and Embryo-Coat (MCBEEC) と合同開催になる可能性がある。本領域の研究成果の発信と国際交流を図る。
 開催日：平成 24 年秋を予定、開催場所：未定
- 8) 出版物：「生物の受精：単細胞生物から動物・植物まで（仮）」（化学同人）（B5 版 250 頁）執筆担当者と章構成（案）：受精の基礎（星）、自家不和合性（岩野、原田、澤田）、配偶子融合（森、平井）、細胞性粘菌の有性生殖（漆原）、藻類の有性生殖（野崎）、コケ植物の受精（大和）、被子植物の受精 I（岩野、掛田、土屋）、被子植物の受精 II（東山、井川、岡本）、線虫の受精（西村）、刺胞動物の受精（出口）、原索動物の受精（山田、澤田）、軟体動物の受精（広橋）、両生類の受精（岩尾、佐藤）、鳥類の受精（笹浪、松田）、哺乳類の受精 I（馬場、井上、年森）、哺乳類の受精 II（宮戸、井上、伊藤）、受精研究における最近のトピックス（河野、稲葉、柴、吉田、松本、広橋、真野、坂本）（平成 24 年 10 月発刊予定）

9. 総括班評価者による評価の状況

当領域では研究協力者（評価委員）の星元紀（放送大、東工大・名誉教授）、磯貝彰（奈良先端大・学長）、岡部勝（大阪大・教授）、東山哲也（名古屋大・教授）、班友の毛利秀雄（東京大・名誉教授）、また文部科学省学術審査官の鈴木石根（筑波大・教授）の各先生からも、領域会議開催の折に、領域の研究活動や運営面等に関する指導助言を仰いでいる。主なコメントとそれに対する領域のその後の取組みは以下の通りである。

放送大学・名誉教授、東京工業大学・名誉教授： 星 元紀 先生

文字通りの異分野交流、ここから生まれるものを期待している。領域会議は初回なので無理もないが、もう少し若い方による討論がほしい。今後の領域研究活動に関しては、一様生と多様性の基盤を総体として明らかにして頂きたい。

【上記コメントに対する領域の取組み】

・第 2 回領域会議では、主に若手研究者によるポスター発表を充実させ、活発な議論を行った。また、領域会議の座長には若手を起用し、質疑応答は無制限で行なうことにした。

奈良先端科学技術大学院大学・学長： 磯貝 彰 先生

発表時間、質問時間も十分とられており、また、質問も活発ですぐれた会議である。若い人の参加も多く、ポスターを併設したのも良かった。会議そのものではないが、夜の時間の討論・懇談も若い人を育てるためには重要な機能を持っている。是非こうした形を継続してほしい。材料（動物/植物など）によって、受精のプロセスに違いがあり、その部分について、参加者のかなりの部分が共通認識を持てる仕組みがあると、相互理解がより進むであろう。会議に来る途中にニュースレターを読んだが、色々な企画がもりこまれており、領域の発展に向けて努力されていることが良く分かる。

今後は、色々な共同研究を進める事も重要だが、情報交換、研究方法の交流などを活用して、それぞれの研究が優れた成果を出してほしい。

【上記コメントに対する領域の取組み】

- ・領域会議では情報交換の時間を十分にとるように努めた。「生殖若手の会」では実験方法に関する情報交換もできるようにした。ニュースレターでは、新技術の紹介も行き、研究を支援した。

大阪大学・教授： 岡部 勝 先生

この新学術領域は植物から動物までという非常に広い範囲に共通に存在する生命システムである「受精」を扱っている。「受精」の研究はいろいろな分野でこれまでも盛んにおこなわれてきたが、これほど広範な分野が集まって議論することは、これまでになかったのではないかと感じる。

私個人の経験でも植物の受精研究者と議論をしたのは初めてである。驚くべきことは「受精」という概念はこれほど異なった生物間でも共通の認識を元に議論ができるという点である。「動物」「植物」というこれまでの縦のくくりではなく、「受精」という横のくくりで集まっているので、これまでの学際領域とはやや異なった趣があり、参加している多くの研究者に新たな概念を提供する可能性があるかと期待される。

しかしながら、これまでになく程の広い範囲で活動してきた研究者が参加しているので、通常学会で発表しているような形式ではなくて、バックグラウンドの説明部分を義務付けるなどをして、お互いの研究が根本的に理解できるような仕組みを設けることが望ましいのではないかと感じる。また発表後の議論の時間について、異領域ともいえる研究者が集まってお互いの研究を理解し、新たな概念を芽生えさせるためには、質問時間は無制限などの、思いきった運営があるといいのではないかと感じた。

まずは徹底した議論を行いそれぞれの研究に対する根本的な理解を深めることが大切である。領域内で植物グループと動物グループなどが生じないように、「相互認識」「融合」などの横のくくりからみたグループ化を積極的に促進するのが良いのではないかと考える。新学術領域として共同研究の機会が増えることが期待される。

【上記コメントに対する領域の取組み】

- ・第2回領域会議から、一人の発表時間を1時間に設定し、質疑応答の時間を十分に設けた。この時間内に解決しなかった議論に関しては、宿泊形式の会議である利点を生かし、プログラム終了後に議論を深められるように配慮した。また、宿泊の部屋割りに際し、動植物研究者が同室になるように配慮した。
- ・横のくくりからみたグループ化の見直しを行い、領域会議や学会内のシンポジウムにおけるプログラム構成を考慮した。
- ・HPのForum投稿を輪番制にして、全職員による議論の場を確立。また、テーマを絞ったニュースレター(第1号：班員の研究紹介、第2号：共同研究提案・実験技術の紹介、第3号：共同研究の進捗状況(予定))を発行することにより、共同研究発足を促進した。

【領域対応後の岡部先生のコメント】

領域会議ですぐれた内容の発表が多く、植物と動物という普段は出会わない研究者が、お互いの領域を知り、なおかつそれが各自の研究に直ちにヒントを与える可能性があるという点が非常に良く、そのための討論時間も十分にあり、非常な成功を収めたといえる。発表者については、全員がよく認識し得たが、植物系・動物系の参加者同士をよりミックスさせるためには、(部屋割りなどの努力はあり、それなりに良かったが)食事の折にでも、チームリーダーの自己紹介などの場を設けると良いかもしれない。

ニュースレターは、パラパラと読むというより、じっくり読まなければならないほど充実している。今後は単なる優れた論文と言うだけでなく、この領域があったために成立した事が分かるような研究であることが、良く分かるような形をとるのがよいと思われる。

名古屋大学・教授： 東山 哲也 先生

宿泊形式のおかげで、十分な時間をかけて議論ができた。また、一つ一つの講演の持ち時間が長く、十分な質疑が行えたことも、とてもいい形式であると評価できる。夕食(懇親会)について、立食形式などにして、幅広く皆さんと言葉を交わす機会があれば、更に良かったかもしれない。皆さん活発に研究を進められていて、概ね順調と思われる。共同研究について、無理に動植物間で行う必要もないと思うが、直接的に様々な生物での研究に触れると、何かブレイクスルーが生まれることがあるかもしれない。

これだけ様々な生物の受精を研究する研究者が一堂に会しているので、受精過程の進行をイラスト(細胞膜や核、細胞壁が示されているもの)でまとめたようなアトラスが準備できると大いに役立つと思う。ただし、研究を圧迫するほど力を入れて進める必要はないと考える。

【上記コメントに対する領域の取組み】

- ・8-(8)でも触れたように、「生物の受精」をテーマにした大学院生・研究者向けの本を化学同人から出版す

る予定である。ほぼ全班員が執筆を担当し、粘菌から植物、動物までの受精に関して体系的に網羅できる新しい教本ができ、若手研究者の育成にも貢献できると考えている。イラストもできるだけ多く盛り込みたい。

東京大学・名誉教授： 毛利 秀雄 先生

なんと言っても動物や植物といった枠にとどまらず、共通の、しかも、ある限られた話題に絞って領域を構築したことが評価できる。互いに目新しい話であることもあり、会議における質問・議論が活発なものも良い。若手や女性の参加が多いのも評価できる。新しい考えや技術を持った外国人を招き、話を聞く形式の会議を名古屋周辺で企画してはどうか。領域会議以外に、2～3名の班員によるシンポを何回か実施し、全班員に口頭発表の機会を与えたほうがよい。ポスター発表ではすぐれた者を表彰すると刺激になる。

アロと言えば、ほ乳類の着床も含まれよう、また、膜融合の現状など人を招いて話を聞くのが良いのではないか。共同研究を進めようとされているが、是非新しい発展をしてもらいたい。「アロ認証」という概念を班員の研究を通してハッキリさせていってほしい。「アロ認証」という言葉の宣伝が大切。公開講演会、新聞への班員の業績の露出などを行う必要有り日本科学未来館など公の施設でのイベントも効果的では？

【上記コメントに対する領域の取組み】

- 全班員に口頭発表の機会があるように、領域会議や学会シンポジウムを含め配慮した。
- 毎回の領域会議で1～3名の招待講演者を招き、議論の活性化を図った。
- 名大祭後援の公開講演会の実施（2011年6月4日）、日本学術振興会主催「ひらめきときめきサイエンス」への参加（2011年8月28日、10月22日、10月29日予定）を通して、一般市民にもひろく「アロ認証」という言葉や研究を伝えるように努めた。
- 領域ホームページ更新、ニュースレター発行、教程出版などを通して、広く当領域の研究分野を紹介していく。
- 国民向けイベントでアンケートを実施した際の謝礼として、領域デザインのクリアファイルとポストイットを作成し、「アロ認証」の宣伝を図った。

筑波大学・教授： 鈴木 石根 先生（文部科学省学術調査官）

領域会議は、口頭発表を1時間としたため、詳しい話を聞いて異分野の者にとっても理解がしやすかった。それ以外の発表はポスター発表となっていて、個別の研究の理解のために十分配慮がなされていると感じた。全員が短時間の発表という形式よりずっといい。普段の学会などで会わない研究者同士が一同に会する機会となったこと、温泉で班会議を行ったのは良かったが、名古屋からもう少し近いと良かった。

専門外なのでよく分かりかねるが、動物＝動物、植物＝植物の共同研究ではなく、動物＝植物、動物＝原索生物、植物＝原索生物といった共同研究がアピールになると思われる。内容はともかく、異分野間の交流と言うことが、評価の場で重要視される傾向にある。トップジャーナルへの投稿と同じく、内容は理解されなくても、そのこと自体で評価されている気がする。

【上記コメントに対する領域の取組み】

- 異分野間の共同研究を促進するために、領域会議や学会内のシンポジウムにおけるプログラム構成を考慮した。
- Forumの活性化を促進するために、自由投稿に加え、輪番投稿制も実施した。