

令和 2 年 5 月 7 日現在

機関番号：18001

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2019

課題番号：16K07992

研究課題名(和文)ブタ卵の体外成熟に伴う透明帯の硫酸化修飾に起因した多精子受精抑制技術の確立

研究課題名(英文) Study on the regulation of sulfated zona glycoproteins associated with the reduction of polyspermy during in vitro fertilization of porcine oocytes

研究代表者

建本 秀樹 (TATEMOTO, Hideki)

琉球大学・農学部・教授

研究者番号：70227114

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：透明帯構成糖タンパク質の硫酸化糖鎖を制御することで、胚発生能に悪影響を及ぼさずに多精子受精率を効果的に低下させるIVF法が利用できるか否かを検討した。

その結果、媒精前10分間の5 mU/mL sulfatase処理またはIVF時の5 ng/mL arylsulfatase A (ARSA) blocking peptide 処理によって、高い精子侵入率を維持したまま多精子受精を効果的に抑制出来ることが明らかとなった。すなわち、透明帯構成糖タンパク質の硫酸化糖鎖と精子ARSAに着目することで、胚発生に悪影響を及ぼさずに多精子受精を効果的に抑制するIVF法の確立に期待が持たれる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ブタ卵体外受精(IVF)時には他の家畜種に比べて多精子受精が高頻度に行われることが知られている。そこで、本研究では、透明帯構成糖タンパク質の硫酸化糖鎖に着目し、媒精前のブタ卵透明帯に脱硫酸化処理を行うことで、効果的に多精子受精を抑制する新しいIVF法の確立が可能か否かを検討した。

本研究結果から、精子arylsulfatase Aと透明帯の硫酸化糖鎖との結合を処理することで、透明帯への結合精子数と透明帯結合精子の先体反応誘起率を有意に減少させ、精子侵入や胚発生能に悪影響を及ぼさずに多精子受精を効果的に抑制できることが明らかになった。

研究成果の概要(英文)： This study was conducted to elucidate the reduction of polyspermy during IVF without adverse effect on embryo developmental competence through the regulation of sulfated glycoprotein of porcine zona pellucida (ZP).

Treatment of oocytes with 5 mU/mL sulfatase for 10 min before the onset of insemination or 5 ng/ml ARSA blocking peptide during IVF effectively protected polyspermic fertilization under conditions that maintained the high sperm penetration rate and developmental potency. The number of sperm bound to ZP and the incidence of inducing acrosome reaction were significantly decreased by these treatments; however, it should be noted that the treatments had no effect against the time course of changes in ZP glycoproteins with egg activation.

These findings indicate the possibility of reduction of polyspermy during porcine IVF but not the decrease of development to blastocyst stage in keeping with a role for sulfated glycoprotein of ZP and ARSA of spermatozoa.

研究分野：家畜繁殖学

キーワード：ブタ体外受精 多精子受精 透明帯 糖タンパク質 硫酸化糖鎖 arylsulfatase A 脱硫酸化処理

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

ブタへの繁殖技術の活用を妨げる様々な原因の内、体外受精(in vitro fertilization; IVF)時に高頻度(50%以上)に起こる多精子受精(異常授精)は最も大きな障害である。これまでに我々は、この原因を探り問題を解決すべく様々な研究を実施してきた。そして、正常なブタ IVF 受精卵を作出するには、新しい着眼点からブタ IVF 環境を追究する必要があるとの考えに至った。近年、我々は、ブタ卵子への精子侵入に深く関与する透明帯構成糖タンパク質の糖鎖末端について詳細に検証した。その結果、透明帯構成糖タンパク質における *N*-acetyl-glucosamine と sialic acid の糖鎖末端の存在が精子と透明帯との一次結合とその後の精子侵入に不可欠であり、この糖鎖末端への修飾変化は卵核胞崩壊(germinal vesicle breakdown; GVBD)後の透明帯で卵丘細胞の有無に関係なく起こっていると云った重要な生理学的現象をレクチン・ブロッティングや二次元電気泳動法の技術を用いて初めて証明した(Lay et al., 2011a; 2011b; Lay et al., 2013)。すなわち、これまで卵体外成熟(in vitro maturation; IVM)時には「核の成熟」と「卵細胞質の成熟」が必要であることは約 30 年前から指摘されてきたが、ブタ卵の IVM 時には「透明帯の成熟(糖鎖末端の修飾変化)」も受精時の透明帯と精子との相互作用に不可欠であると云った新事実が明らかとなった。

一方、我々は、GVBD 後の透明帯構成糖タンパク質の糖鎖の酸性化にシアル化だけでなく硫酸化修飾も関与している結果を得た(Lay et al., 2011b)。この硫酸化修飾は受精時の精子との相互作用に関与している ZP3 糖タンパク質で顕著であった。そして、非常に興味あることに透明帯構成糖タンパク質の糖鎖末端の硫酸化を 50 mM NaClO₃ で阻害すると、透明帯へ結合した精子の先体反応誘起率が有意に低下し、受精パラメーターにおいては精子侵入率よりも多精子受精率の減少効果が顕著に認められた。

2. 研究の目的

本研究では、ブタ IVF 時における透明帯構成糖タンパク質の糖鎖への精子結合に伴う精子-透明帯間の相互作用に着目し、これまで関与が全く検討されていない透明帯構成糖タンパク質の糖鎖の硫酸化修飾における多精子受精抑制作用への関係を明らかにすると共に、従来とは異なる視点から体外でのブタ正常受精卵の高率な作出方法を確立することを目的として行った。

- (1) 体外成熟(IVM)卵の脱硫酸化処理を *sulfatase* で行い、ブタ透明帯構成糖タンパク質の硫酸化残基と精子との結合が受精時の精子-透明帯間の相互作用に重要であることを *sulfatase* 処理により証明し、多精子受精を効果的に抑制する新しい IVF 法の確立が可能か否かを検討した。
- (2) そこで、透明帯硫酸化残基に結合する精子側の *arylsulfatase* A (ARSA)に着目し、*sulfatase* で透明帯構成糖タンパク質を脱硫酸化処理、または ARSA blocking peptide (ARSA-BP)を IVF 培地に添加することによって、両処理が卵活性化後の透明帯に対して如何なる変化を及ぼすか否かを検証した。
- (3) 媒精前に *sulfatase* で透明帯構成糖タンパク質を脱硫酸化処理することによって、多精子受精を抑制する新しい IVF 法の確立に繋がる可能性を見出した。そこで、*sulfatase* 処理が卵活性化後の透明帯や胚発生に対して如何なる変化を及ぼすか否かを検証した。

3. 研究の方法

- (1) ブタ IVF 時における透明帯構成糖タンパク質の糖鎖の硫酸化修飾が多精子受精に及ぼす影響を検討する上で、特に次の 2 点に着目して研究を遂行した。第 1 点は、卵成熟に伴う透明帯構成糖タンパク質の硫酸化修飾を *sulfatase* による酵素の処理条件の違いにより透明帯糖タンパク質が如何に変化するか、さらに透明帯硬化等への影響の有無を検証した。第 2 点は、IVF 時における各種パラメーターを調べ、透明帯糖タンパク質の硫酸化修飾と多精子受精との関係を明確にした。

基本的には、沖縄県食肉処理場で得たブタ卵巣の小卵胞(直径 2-6 mm)から切開法で卵子を採取し、卵丘細胞に密に覆われ形態的に正常な卵子だけを実体顕微鏡下で選別した上で IVM に供した。IVM は mNCSU37 に 10% 卵胞液、0.02 U/mL FSH および 0.02 U/mL LH を添加した成熟培地内で 44 時間行う。そして、IVM 卵に受精能を獲得させた射出凍結精子を媒精することで IVF を行った。IVF 後、胚を mPZM3 に移し、一部の卵子は様々な受精パラメーターをホールマウント法で観察し、残りの卵子には 7 日後まで発生培養を行った。

- (2) 精子-透明帯間の相互作用への脱硫酸化処理の影響を明らかにするために、透明帯硬化、透明帯反応および透明帯結合精子数等を評価した。さらには、硫酸化糖鎖は精子の透明帯への二次結合(先体反応誘起)に関与していることから(Xu et al., 2012)、透明帯結合精子の先体反応も Alexa Fluor 488 標識 PNA lectin による蛍光染色法で測定した。また、IVF 後の精子侵入率、多精子受精率、雄性前核形成率、卵割率、ならびに胚盤胞期胚への発生率と割球数を比較検討した。

- (3) 次に、透明帯硫酸化糖鎖に結合する精子側のリガンドである ARSA に着目し、透明帯硫酸化糖鎖への ARSA の結合を阻害する ARSA-BP を添加した培地で裸化卵による IVF を行い受精パラメーターへの影響を調べた。特に、多精子受精抑制効果に焦点を置いた上で、精子-透明帯間の相互作用の解明と IVF 後の受精パラメーターを詳細に検討した。そして、透明帯硫酸化糖鎖と精子 ARSA との作用機序を制御することで多精子受精が抑制できることを証明した。
- (4) 先の実験結果から、ブタ卵の IVF 時には、精子 ARSA と透明帯硫酸化糖鎖との結合が重要であり、その相互作用を人為的に制御することで多精子受精が抑制できることが明らかとなった。そこで、ARSA-BP 処理や sulfatase 処理が透明帯構成糖タンパク質の硬化現象や構造的変化を介した多精子受精抑制効果ではないことを証明するの必要に至った。すなわち、ARSA-BP 処理や sulfatase 処理が透明帯硬化に影響を及ぼしているか否かは、直流パルス刺激によって活性化させた単為発生卵を用い、1 mg/mL protease 処理の溶解反応に対する透明帯の抵抗性を無処理卵と各処理卵とで比較した。一方、透明帯への構造変化に関しては、活性化卵の透明帯を経時的に採取し、透明帯にビオチン化標識を施した後、SDS-PAGE とブロットングを行い、ECL 法で卵活性化に伴う ZP1 + ZP2 糖タンパク質の現象を測定し明らかにした(Tatemoto and Terada, 1999a; 1999b)。

4. 研究成果

- (1) 媒精前の sulfatase による脱硫酸化処理が受精パラメーターおよび精子-透明帯間の相互作用に及ぼす影響を調べた。その結果、10 分間および 20 分間の sulfatase 処理区は、無処理区と比較して、精子侵入率を低下させることなく多精子受精率を有意に抑制した(P<0.05) (表 1)。また、透明帯への精子結合数および透明帯結合精子の先体反応誘起率を調べたところ、無処理区と比較して sulfatase 処理区で有意に減少した(P<0.05) (図 1 と 2)。したがって、透明帯構成糖タンパク質糖鎖残基の脱硫酸化は、透明帯に結合した精子のプロアクロシン活性化により惹起される先体反応の誘起に伴った精子と透明帯との二次結合に影響を及ぼし、その結果として sulfatase による透明帯の脱硫酸化処理は精子侵入率を阻害することなく多精子受精を減少させたと推察された。次に、卵透明帯の protease 抵抗性を調べた結果、透明帯の溶解時間に sulfatase 処理時間は影響を及ぼさず、多精子受精率の低下が透明帯硬化によるものではないことが明らかになった。

表 1. 媒精前に 5 mU/mL sulfatase で処理したブタ卵の IVF 後の受精パラメーター。

Sulfatase 処理時間 (分)	供試卵数	卵子の核相 (%; 平均 ± 標準誤差)			卵子当たりの侵入精子数 (平均 ± 標準誤差)
		精子侵入	多精子受精 ¹	雄性前核形成 ¹	
0	127	74.8 ± 3.9 ^a	48.4 ± 5.1 ^a	92.6 ± 2.7	1.63 ± 0.09 ^a
10	104	74.0 ± 4.3 ^a	24.7 ± 4.9 ^b	97.4 ± 1.8	1.27 ± 0.06 ^b
30	108	38.9 ± 4.7 ^b	9.5 ± 4.5 ^{bc}	97.6 ± 2.4	1.13 ± 0.05 ^b
60	148	31.8 ± 3.8 ^b	6.4 ± 3.6 ^c	93.6 ± 3.6	1.06 ± 0.04 ^b

¹ 精子侵入卵当たりの比率。

^{a-b} 同一カラム内の異文字に有意差を認める(p<0.05)。

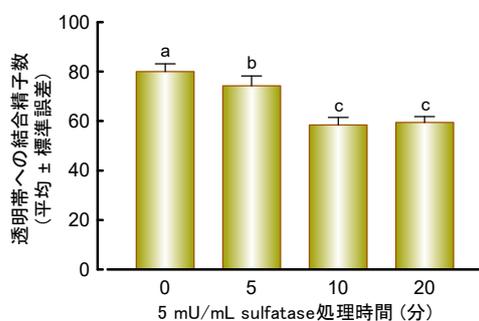


図 1. 媒精前の卵子への sulfatase 処理が透明帯への精子結合数に及ぼす影響。

^{a-c} 異文字間に有意差を認める(P<0.05)。

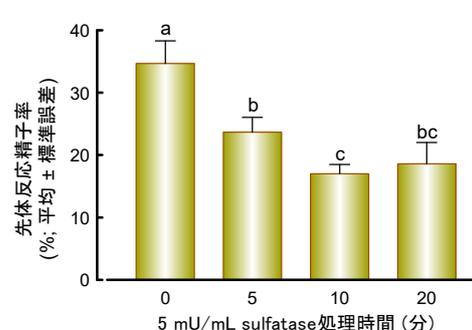


図 2. 媒精前の卵子への sulfatase 処理が透明帯に結合した精子先体反応に及ぼす影響。

^{a-c} 異文字間に有意差を認める(P<0.05)。

以上の本研究結果から、媒精前の sulfatase による脱硫酸化処理は、透明帯への精子結合数および透明帯結合精子の先体反応誘起率を低下させ、精子侵入率を阻害することなく多精子受精率を有意に抑制することが確認された。すなわち、透明帯構成糖タンパク質の硫酸化糖鎖を介した精子-透明帯間の相互作用に着目することは、多精子受精を効果的に抑制

する新しいブタ IVF 法の確立に向けて非常に有意義であると思われた。

(2) 次に、IVM 後の sulfatase 処理により脱硫酸化以外の非特異的な精子-透明帯間の相互作用に悪影響を及ぼす何等かの変化が透明帯に起こっているか否かを調べるため、卵活性化に伴う透明帯構成糖タンパク質の変化への sulfatase 処理の影響を検討した。その結果、両区ともに透明帯の protease による溶解時間は卵活性化後の時間経過に伴って延長し、卵活性化処理後 2.5-3 時間以降の卵透明帯において protease への抵抗性が有意に増加した ($P<0.05$) (図 3)。また、透明帯構成糖タンパク質のビオチン標識化 ZP1 + ZP2 バンドの検出強度は、どちらも活性化処理後の時間経過に伴って減少し、3 時間以降に顕著であった ($P<0.05$) (図 4)。したがって、sulfatase 処理卵における多精子受精率の抑制は、透明帯への精子結合数および先体反応誘起率の低下に起因していると推察される。

また、sulfatase による脱硫酸化処理が胚発生能へ及ぼす影響を調べたところ、sulfatase 処理区と無処理区の間において卵割率(62 vs. 56%)、胚盤胞期胚発生率(28 vs. 22%)、および胚盤胞期胚割球数(37.0 vs. 39.3)共に統計的な有意差は見られなかった。すなわち、sulfatase 処理は胚発生に悪影響を及ぼさないことが示された。

以上の結果から、IVM 後のブタ卵への sulfatase による脱硫酸化処理は、胚発生能に悪影響を及ぼさず、高い精子侵入率を維持したまま多精子受精を効果的に抑制できることが明らかとなった。そして、卵活性化に伴う透明帯構成糖タンパク質の protease 消化への抵抗性やビオチン標識 ZP1 + ZP2 バンドの減少時間が、sulfatase 処理により極端に早まるといった現象は認められなかった。すなわち、sulfatase 処理による多精子受精抑制効果は、精子-透明帯間の相互作用に由来していると確認された。したがって、精子-透明帯間の相互作用、特に、透明帯構成糖タンパク質の硫酸化糖鎖と精子との関係に着目することで、胚発生能に悪影響を及ぼさずに多精子受精を効果的に抑制する新たな IVF 法の確立に期待がもたれた。

(3) 近年の研究で、精子先体の細胞膜表面に存在する ARSA が、透明帯構成糖タンパク質の硫酸化糖鎖と結合し、精子-透明帯間の一次結合に密接に関係すると共に、精子先体反応誘起に関与し、二次結合にも寄与することが明らかとなった。そこで、精子-透明帯間の相互作用における精子側のリガンドである ARSA にも注目し、ARSA-BP を IVF 培地に添加することでも多精子受精を効果的に抑制できるか否かを検討した。

精子侵入率は 10 ng/mL 以上の ARSA-BP 処理区(44% vs. 対照区 82%)で、多精子受精率は 5 ng/mL 以上の ARSA-BP 処理区(12%)で無処理区(41%)と比較してそれぞれ有意に低下した ($P<0.05$)。さらに、5 ng/mL ARSA-BP 処理区の透明帯結合精子数(図 5)および透明帯結合精子の先体反応誘起率(図 6)も無処理区と比較してそれぞれ有意に低下した ($P<0.05$)。したがって、ARSA-BP による多精子受精の抑制は、透明帯結合精子数の減少および透明帯結合精子の先体反応誘起率の低下に起因するものであると推察された。

続いて、ARSA-BP 処理が卵活性化処理に伴う透明帯構成糖タンパク質の変化に与える影響を調べた。その結果、無処理区と ARSA-BP 処理区共に透明帯の protease による溶解時間は卵活性化後の時間経過に伴って顕著に延長し ($P<0.05$)、ビオチン標識化透明帯構成糖タンパク質の ZP1 と ZP2 バンド検出強度も、活性化処理後の時間経過に伴って減少した

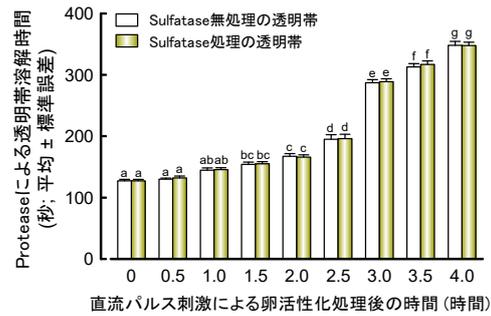


図 3. IVM 後の 10 分間の 5 mU/mL sulfatase 処理が活性化卵の protease 抵抗性に及ぼす影響。

^{a-g} 異文字間に有意差を認める ($P<0.05$).

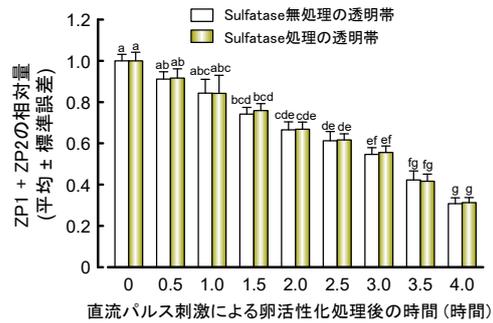


図 4. IVM 後の 10 分間の 5 mU/mL sulfatase 処理が活性化卵の ZP1 + ZP2 の相対量に及ぼす影響。

^{a-g} 異文字間に有意差を認める ($P<0.05$).

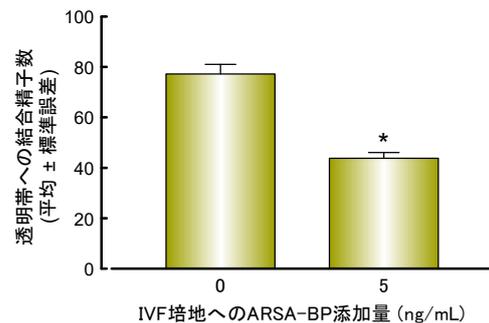


図 5. IVF 時の ARSA-BP 処理による透明帯への結合精子数の減少。

* 有意差を認める ($P<0.05$).

($P < 0.05$)。そして、両区間に有意な差は見られなかった。すなわち、ARSA-BP 処理による多精子受精抑制作用は、卵活性化処理に伴う透明帯構成糖タンパク質の経時的変化に関与しておらず、透明帯構成糖タンパク質は ARSA-BP による直接的な影響を受けていないことが明らかとなった。したがって、IVF 培地への 5 ng/mL ARSA-BP 添加は、精子 ARSA の卵透明帯構成糖タンパク質の硫酸化糖鎖への一次結合および先体反応誘起を介した二次結合を阻害し、その結果、多精子受精を抑制したと考えられた。また、sulfatase 処理卵および ARSA-BP 処理卵の IVF 後の胚盤胞期胚への発生能を調べたところ、それぞれの処理による悪影響は認められなかった。

以上の結果から、ブタ卵受精時において、透明帯構成糖タンパク質の硫酸化糖鎖と精子の相互作用が重要であり、5 ng/mL ARSA-BP を IVF 培地へ添加することで精子侵入率を維持したまま多精子受精を有意に抑制することが示された。すなわち、IVF 培地への 5 ng/mL ARSA-BP 添加は、精子の卵透明帯構成糖タンパク質の硫酸化糖鎖への一次結合および先体反応誘起を介した二次結合を阻害し、その結果、多精子受精を抑制したと考えられた。そして、精子-透明帯間の相互作用の人為的な制御は、卵透明帯側だけでなく、精子側からのアプローチも可能であることが示唆された。

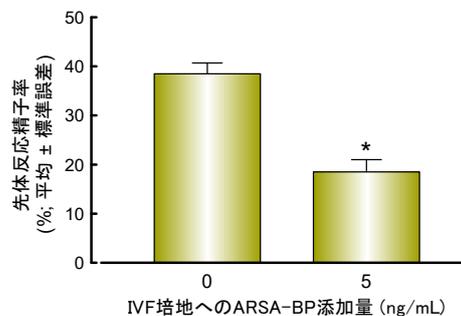


図 6. IVF 時の ARSA-BP 処理による透明帯結合精子の先体反応率の減少。
* 有意差を認める($P < 0.05$)。

- (4) 本研究結果から、IVM 後の 10 分間の sulfatase 処理または IVF 時の 5 ng/mL ARSA-BP 処理によって、胚発生能に悪影響を及ぼすことなく、高い精子侵入率を維持したまま多精子受精を効果的に抑制出来ることが明らかとなった。これは sulfatase や ARSA-BP を用いることで、精子-透明帯間の相互作用、特に、透明帯構成糖タンパク質の硫酸化糖鎖と精子 ARSA に着目した、新たな IVF 技術を確立できる可能性を提供する。そこで、今後は sulfatase と ARSA-BP を組み合わせて使用し、精子や卵子の実験環境に左右されない、より安定的に多精子受精を抑制した新たな視点からの IVF 技術を確立できるか否か検討したい。さらに近年、精子先体部分に存在している HSPA2 にヒアルロニダーゼ活性を有する SPAM1 と ARSA とが結合し、受精時の精子と卵子との相互作用に密接に関与していることが報告された (Redgrove et al., 2012)。そこで、精子-透明帯間の相互作用に関わる SPAM1 と ARSA の関連性についても検討し、SPAM1 の精子ヒアルロニダーゼ活性の抑制と卵透明帯構成糖タンパク質の硫酸化糖鎖への結合に関わる ARSA の両面に着目し、その結果としてブタ IVF 時の多精子受精の抑制に対していかなる作用を及ぼすか否かについても追究していく必要があると思われる。

<引用文献>

- Lay KM, Ashizawa K, Nakada T, Tatemoto H. N-glycosylation of zona glycoproteins during meiotic maturation is involved in sperm-zona pellucida interactions of porcine oocytes. *Theriogenology*, 2011a, 75, 1146-1152.
- Lay KM, Oshiro R, Arasaki C, Ashizawa K, Tatemoto H. Role of acidification elicited by sialylation and sulfation of zona glycoproteins during oocyte maturation in porcine sperm-zona pellucida interactions. *J Reprod Dev*, 2011b, 57, 744-751.
- Lay KM, Nakada T, Tatemoto H. The involvement of N-glycosylation of zona glycoproteins during meiotic maturation in sperm-zona pellucida interactions of porcine denuded oocytes. *Anim Sci J*, 2013, 84, 8-14.
- Redgrove KA, Nixon B, Baker MA, Hetherington L, Baker G, Liu DY, Aitken RJ. The molecular chaperone HSPA2 plays a key role in regulating the expression of sperm surface receptors that mediate sperm-egg recognition. *PLoS One*, 2012, 7, e50851.
- Tatemoto H, Terada T. Analysis of zona pellucida modifications due to cortical granule exocytosis in single porcine oocytes, using enhanced chemiluminescence. *Theriogenology*. 1999a, 52, 629-640.
- Tatemoto H, Terada T. Time course analyses of cortical granule exocytosis and zona pellucida modifications after artificial activation in in-vitro matured porcine oocytes. *J. Mamm. Ova Res*. 1999b, 16, 110-117.
- Xu H, Liu F, Srakaew N, Koppisetty C, Nyholm PG, Carmona E, Tanphaichitr N. Sperm arylsulfatase A binds to mZP2 and mZP3 glycoproteins in a nonenzymatic manner. *Reproduction*. 2012, 144, 209-219.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 7件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Khatun H, Ihara Y, Takakura K, Egashira J, Wada Y, Konno K, Tatemoto H, Yamanaka K	4. 巻 142
2. 論文標題 Role of endoplasmic reticulum stress on developmental competency and cryo-tolerance in bovine embryos	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Theriogenology	6. 最初と最後の頁 131-137
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.theriogenology.2019.09.042	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Egashira J, Ihara Y, Khatun H, Wada Y, Konno T, Tatemoto H, Yamanaka K	4. 巻 65
2. 論文標題 Efficient in vitro embryo production using in vivo-matured oocytes from superstimulated Japanese Black cows	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Reproduction and Development	6. 最初と最後の頁 183-190
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1262/jrd.2018-155	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Yamanaka K, Khatun H, Egashira J, Balboula AZ, Tatemoto H, Sakatani M, Takenouchi N, Wada Y, Takahashi M	4. 巻 114
2. 論文標題 Heat-shock-induced cathepsin B activity during IVF and culture compromises the developmental competence of bovine embryos	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Theriogenology	6. 最初と最後の頁 293 ~ 300
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.theriogenology.2018.04.005	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Khatun H, Egashira J, Sakatani M, Takenouchi N, Tatemoto H, Wada Y, Yamanaka K	4. 巻 85
2. 論文標題 Sericin enhances the developmental competence of heat-stressed bovine embryos	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Molecular Reproduction and Development	6. 最初と最後の頁 696 ~ 708
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/mrd.23038	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 江頭潤将, 建本秀樹, 和田康彦, 山中賢一	4. 巻 61
2. 論文標題 暑熱ストレスが経膾採卵により採取されたウシ卵丘 - 卵母細胞複合体の品質に及ぼす影響	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 日本暖地畜産学会報	6. 最初と最後の頁 111 ~ 119
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) https://doi.org/10.11461/jwaras.61.111	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Yamanaka K, Yamashita K, Khatun H, Wada Y, Tatemoto H, Sakatani M, Takenouchi N, Takahashi M, Watanabe S	4. 巻 89
2. 論文標題 Normal DNA methylation status in sperm from a somatic cell cloned bull and their fertilized embryos	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Animal Science Journal	6. 最初と最後の頁 1406 ~ 1414
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/asj.13086	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 建本 秀樹, 船曳 美和, 佐渡山 祐希, 上原 みなみ, 金野 俊洋, 山中 賢一	4. 巻 60
2. 論文標題 沖縄在来ブタアグーの精液輸送時ならびに精子凍結時におけるトコフェロールと アスコルビン酸の同時処理による凍結融解精子性状の改善効果	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 日本暖地畜産学会報	6. 最初と最後の頁 111 ~ 120
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) https://doi.org/10.11461/jwaras.60.111	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計6件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 3件)

1. 発表者名 瀬越真土, 本岡愛美, 平井萌, 上原みなみ, 建本秀樹
2. 発表標題 沖縄在来豚アグー精子凍結時におけるL-カルニチン処理が融解後の精子性状に及ぼす影響
3. 学会等名 第12回日本暖地畜産学会大分大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Egashira J, Tatemoto H, Wada Y, Yamanaka K. Efficient in vitro embryo production system using in vivo-matured oocytes from superstimulated Japanese black cows
2. 発表標題 Efficient in vitro embryo production system using in vivo-matured oocytes from superstimulated Japanese black cows
3. 学会等名 The International Embryo Transfer Society (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Nishi I, Kawase F, Kurane T, Ohta K, Tatemoto H, Konno T
2. 発表標題 Mural trophoctoderm specific activation of adhesion competence in peri-implantation murine blastocyst
3. 学会等名 4th World Congress of Reproductive Biology (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 上原みなみ, 佐渡山佑希, 建本秀樹
2. 発表標題 ブタ卵体外成熟時の透明帯構成糖タンパク質における硫酸化阻害と多精子受精抑制効果との関係
3. 学会等名 第10回日本暖地畜産学会佐賀大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 上原みなみ, 佐渡山佑希, 建本秀樹
2. 発表標題 ブタ卵体外受精時における精子arylsulfatase A阻害による多精子受精抑制効果
3. 学会等名 日本畜産学会第124回大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Tatemoto H, Mitsube R, Tokeshi I, Uehara M, Sadoyama Y, Funabiki M, Konno T
2. 発表標題 Improvement in the post-thaw qualities of Okinawan native Agu pig spermatozoa treated with skim milk and Trolox prior to cryopreservation
3. 学会等名 The 17th AAAP Animal Science Congress (国際学会)
4. 発表年 2016年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----