

機関番号：14501
 研究種目：基盤研究（C）
 研究期間：2008～2010
 課題番号：20580310
 研究課題名（和文） 家畜の雄性不妊症を引き起こす精子の受精機能不全に対する分子標的治療法の開発
 研究課題名（英文） Targeted therapy for defect of fertilizing ability in the spermatozoa from subfertile livestock
 研究代表者
 原山 洋（HARAYAMA HIROSHI）
 神戸大学・大学院農学研究科・准教授
 研究者番号：30281140

研究成果の概要（和文）：家畜繁殖の最初のステップである体内受精が成功するためには、精子は正確なタイミングで受精能力を発現しなければならない。本研究では、家畜の雄性低繁殖症を引き起こす時期尚早な精子の受精能力の発現を分子レベルで抑制するための有効なターゲットを、細胞内情報伝達系や糖代謝制御系の中核分子に見出した。また雄性低繁殖症雄個体由来の精子での構造的脆弱性にタンパク質のチロシンリン酸化不全が関与することを示唆した。

研究成果の概要（英文）：The initial step of animal reproduction is accomplishment of *in vivo* fertilization. For the purpose of successful fertilization, spermatozoa are required to show a precise process in the exertion of their fertilizing ability. In this study, we indicated that pivotal regulators of the intracellular signaling and glucose metabolism are potential targets to suppress precocious fertilization-related events in the spermatozoa. In addition, we also suggested that defective phosphorylation at the tyrosine residues of acrosomal proteins is one of causal factors for unstable structure in the spermatozoa from subfertile male animals.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,900,000	570,000	2,470,000
2009年度	800,000	240,000	1,040,000
2010年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
総計	3,700,000	1,110,000	4,810,000

研究分野： 生殖生物学

科研費の分科・細目： 畜産学・獣医学・応用動物科学

キーワード： 精子，黒毛和種，ブタ，鞭毛超活性化運動，先体反応，細胞内シグナリング，環状アデノシン1リン酸，チロシンリン酸化タンパク質

1. 研究開始当初の背景

安価な食肉が海外から大量に輸入されるようになり危機的な状況を迎える日本の畜産業が今後も発展し続けるには、安全で高付加価値の国産食肉を安定的に供給し続けなければならない。またアジア諸国での急激な人口増加と食糧消費の激増が懸念されるなか、日本国民が安心して生活できるだけの食肉を国内生産で確保することは重要な検討

課題である。しかし国産食肉生産の根幹を支える家畜繁殖技術では最近深刻な問題が表面化している。すなわちウシとブタでの雄性低繁殖症の頻発がある。特にウシでの最近の症状は既往症例と異なり、活力の良好な凍結精子を雌に人工授精してもほとんど受胎しないという深刻なもので、この不妊症がウシの系統維持を脅かす危険な要因となっている。他方、ブタで最も頻発する不妊症は暑

熱・多湿による繁殖機能の低下(夏季不妊症)である。地球温暖化が懸念されるなか、日本での夏季の酷暑化は現実の事象として認識されている。このような夏季の酷暑化が温帯気候で育種改良された我が国のブタの繁殖能力に及ぼす影響は大きく、夏季不妊症が今後さらに長期化することが危惧されている。

私たちは、精子の頭部での受精能獲得・先体反応状態の評価法(CTC 蛍光染色法)が上述のウシ低繁殖症の新規診断法として有効であること、および低繁殖症の一因は人工授精直後の精子での時期尚早な受精能獲得・先体反応であることを示した。また、夏季のブタ精子では低繁殖症のウシの精子と類似した異常受精現象が見られた。

2. 研究の目的

本研究では、低繁殖症雄個体の精子の受精能力を回復させるための分子標的治療法を開発する目的で、(1)治療のターゲットとなりうる精子の候補分子を特性解析により選定した。また(2)候補分子の機能を薬理学的処理により特異的に抑制した精子における受精能力の変化を観察することで、候補分子のターゲットとしての有効性を評価した。

3. 研究の方法

(1) 実験試料

ウシ(黒毛和種)およびブタ(ラージホワイト種)の精巣は、兵庫県立農林水産技術総合センターで飼育された雄個体から食肉処理時または去勢時に採取された。ウシ(黒毛和種)の新鮮射出精子および凍結精子は同センターから研究用試料として提供された。またブタ新鮮射出精子は神戸大学大学院農学研究科で育成中の梅山豚から採取された。

(2) 精子運動性の測定

加温装置(38.5°C)上の精子活力検査板に少量の精子浮遊液をのせ、光学顕微鏡下で精子の運動性を主観的観察法により評価した。

(3) RT-PCR, cDNA クローニングおよび組換えタンパク質の合成

可溶性型アデニル酸シクラーゼ (*ADCY10*), AMP-dependent protein kinase (*AMPK*) 触媒サブユニット II, Sperm acrosome associated 1 (*SPACA 1*) およびカルパイン 2 の雄性生殖細胞での発現状態を調べる目的で、精巣または精子由来の RNA から合成した cDNA を用いて PCR を行った。得られた PCR 産物の塩基配列を明らかにするため、北海道システムサイエンス社に解析を依頼した。また PCR 産物を精製後に pGEX-KG ベクターを含む XL10 cell に組込んで形質転換した。組換え XL10 cell コロニーを大量培養した後に IPTG による発現誘導を行い、菌体から GST 融合タンパク質を抽出した。

(4) ウェスタンブロッティング法

抗ブタ *ADCY10* 抗体と抗ウシ *ADCY10* 抗体は組換えタンパク質 (N 末端領域の組換えタンパク質) を抗原としてマウスに免疫注射することで作製した。抗活性化型 *AMPK* 触媒サブユニット II 抗体 (抗活性化型 *AMPK* 抗体), 抗 *SPACA1* 抗体および抗リン酸化チロシン (pY) 抗体は市販品を使用した。

SDS-PAGE により分離された精子タンパク質が転写された PVDF 膜をウシ胎仔血清 (FCS) 添加 PBS-Tween でブロッキングした。一次抗体を FCS 添加 PBS-Tween で希釈し、PVDF 膜に反応させた。ついで PVDF 膜を HRP 標識二次抗体と反応させた後、ECL キットおよび Hyper film-ECL を用いて、抗体と反応する精子タンパク質を検出した。

(5) 間接蛍光抗体法

パラホルムアルデヒド固定した精子を Triton-X 100 添加 PBS を用いて細胞膜透過処理した後、抗 *ADCY10* 抗体または抗活性化型 *AMPK* 抗体と 4°C で一晩反応させた。ついで精子浮遊液を FITC 標識二次抗体と反応させた後、減光防止剤とともにスライドガラスにのせ、カバーガラスで封入し、蛍光顕微鏡下で観察した。

メタノール固定した精子塗抹標本を抗 *SPACA1* 抗体または抗 pY 抗体と 4°C で一晩反応させた。反応後の精子塗抹標本を FITC または TRITC 標識二次抗体と反応させ、減光防止剤とともにカバーガラスで封入し、蛍光顕微鏡下で観察した。

(6) FITC-PNA/PI 染色法による精子先体の形態観察

パラホルムアルデヒド固定した精子を TritonX-100 添加 PBS で処理した後、FITC 標識 PNA 添加 PBS で染色した。ついで PI 添加 PBS で核染色し、減光防止剤とともにスライドガラスに封入して蛍光顕微鏡下で観察した。1 標本につき 100 個の精子を先体の形態に従い、7 種類の染色パターンに分類した (図 1, パターン I: 正常先体を持つ精子, パターン II: 軽度に損傷した先体を持つ精子, パターン III~VII: 重度に損傷した先体を持つ精子または先体を喪失した精子)。

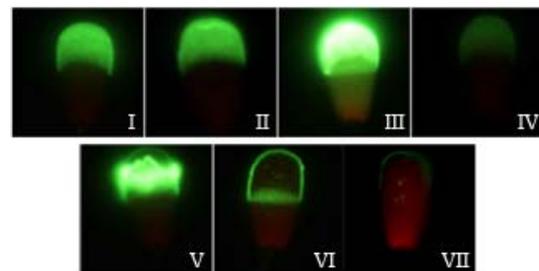


図 1. FITC-PNA/PI 染色法によるウシ精子の先体の形態学的分類

(7) 精子の細胞内カルシウムの動態観察

Pluronic F127 を含む fluo-3/AM 溶液に洗浄精子を再浮遊させ、38.5°C ウォーターバスの中で遮光インキュベートすることで、精子内に fluo-3/AM を導入した。ついで精子を受精能獲得・鞭毛超活性化運動・先体反応の誘起処理に供した後、蛍光顕微鏡下で細胞内カルシウム濃度の変化を観察した。

(8) 受精能獲得・鞭毛超活性化運動・先体反応の誘起処理

洗浄直後または fluo-3/AM を導入後の精子を細胞膜透過性 cAMP アナログ (cBiMPS) または NaHCO₃ を添加した培養液 (PVA 添加 mKRH 液, PVA 添加 mBO-Hepes 液) に再浮遊させて 38.5°C ウォーターバスの中でインキュベートした。

(9) 分子標的治療のターゲット候補分子の薬理的阻害処理

精子浮遊液にカルシウムキレート剤 (EDTA・3Na), 細胞膜透過性カルパイン阻害剤 (CI III および CI VI), 細胞膜透過性 cAMP アンタゴニスト (*Rp*-cAMPS) または細胞膜透過性 AMPK 阻害剤 (Compound C) を添加し、上述の受精能獲得・鞭毛超活性化運動・先体反応の誘起処理に供した。

4. 研究成果

(1) ADCY10

HCO₃⁻ の直接作用を受け、Gタンパク質非依存的に活性化する可溶化型アデニル酸シクラーゼ ADCY10 は精子の受精に必要な cAMP の生産を主体的に担っている。本研究では、ADCY10 mRNA の発現解析、分子クローニング、および ADCY10 タンパク質の精子での分布観察と機能解析をブタおよびウシにおいて行った。

データベース解析で推定した cDNA 配列から CDS をカバーするように設計したプライマーセットを用いて RT-PCR による発現解析を精巣、腎臓および肝臓について行ったところ、すべての実験において精巣でのみ PCR 産物の増幅が観察された。この結果はげっ歯類の場合と同様に家畜の ADCY10 mRNA (全長型) が精巣で特に強く発現されていることを示唆している。また PCR 産物のシーケンス解析で得られた全長型の cDNA 配列をアミノ酸配列 (ブタ: NM_001204392, ウシ: 未登録) に翻訳してデータベース上のヒトの配列 (NM_018417.2, NP_060887.2) と比較したところ、ヒトとの相同性はブタおよびウシのいずれにおいても 79% であった。またインシリコ解析により、家畜の ADCY10 タンパク質の N 末端側に 2 か所のアデニル酸シクラーゼの触媒領域が保存されていること、およびブタおよびウシの ADCY10 遺伝子はそれぞれ第 4 染色体および第 3 染色体に存在すると推定された。

ウシの精巣では断片型 ADCY10 タンパク質 (全長型 ADCY10 タンパク質の N 末端側の約 50 kDa 分に相当) をコードする mRNA のバリエーションも検出された。このバリエーションは mRNA の選択スプライシングにより派生したもので、精子への分化途上にある雄性生殖細胞で主に発現していることが mRNA の発現解析により判明した。なお、抗 ADCY10 (N 末端領域組換えタンパク質) 抗体を用いたウェスタンブロッティングでは 48 kDa のウシ精子タンパク質との特異的な反応が検出されたが、この結果は断片型 ADCY10 mRNA の発現解析の結果と一致している。

ブタおよびウシにおいて抗 ADCY10 抗体をマウスで作製し、洗浄射出精子の間接蛍光抗体法に使用した。結果を図 2 に示す (ブタ精子のみ、ウシ精子は示さず)。ブタおよび

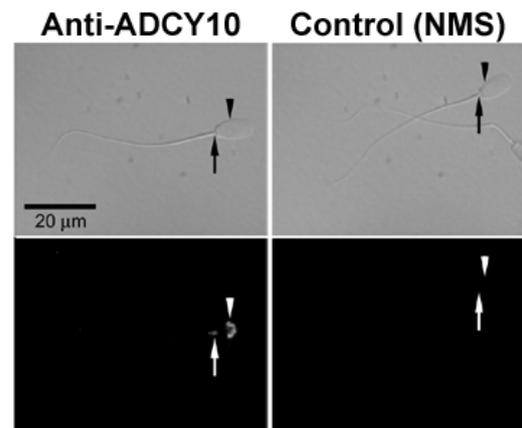


図 2. 間接抗体法によるブタ新鮮射出精子での ADCY10 タンパク質の分布観察 (上段は位相差顕微鏡像, 下段は FITC 蛍光像を示す。写真中の矢印は頸部を, 矢頭は赤道節を示す。NMS: 正常マウス血清)

ウシのいずれの精子においても赤道節と頸部に ADCY10 タンパク質の存在を示す FITC の強い蛍光が観察された。またウシ精子では先体の前縁部と鞭毛にも蛍光が観察された。

精子赤道節で検出された ADCY10 が細胞内 cAMP シグナリング分子として機能しているか否かを明らかにするため、Fluo-3/AM を導入したブタ精子を ADCY10 の活性化剤 NaHCO₃ で 60 分間処理し、蛍光顕微鏡下で細胞内カルシウムの動態を観察した。その結果、10 mM 以上の添加区では精子頭部内で大きなカルシウム濃度の上昇が見られた。また NaHCO₃ を精子浮遊液に添加すると培養液の pH が若干上昇する傾向にあったが、この pH 上昇は細胞内カルシウム濃度に影響しなかった。また 10 mM NaHCO₃ での処理時に、培養液から塩化カルシウムを除去、あるいは培養液に EDTA・3Na または *Rp*-cAMPS を添加すると細胞内カルシウム濃度の上昇は明瞭に

抑制された。これらの結果は、精子頭部内に取り込まれた HCO_3^- が細胞内ADCY10を刺激することでcAMPシグナリングを活性化し、細胞外カルシウムの流入を誘起することを示唆している。また同時に細胞外カルシウムの除去やcAMPアンタゴニストでの処理により精子頭部での受精能力発現を導くカルシウム濃度の上昇を遮断できるとの知見が得られた。

以上の結果から、精子頭部（主に赤道節）のADCY10は受精能力の発現制御に機能すると考えられる。また本研究において、精子頭部に機能的なADCY10が存在することを哺乳類において初めて示したが、この分子は分子標的治療のターゲットになりうると推察される。

(2) カルパイン

細胞内cAMPシグナリングの下流域で機能するカルシウムシグナリングの構成分子カルシウム依存性プロテアーゼ「カルパイン」のmRNAの発現解析、分子クローニング、および機能解析をブタにおいて行った。

ブタ精巢由来のRNAを用いたRT-PCRにより、カルパイン2 SmallサブユニットおよびLargeサブユニットのmRNA発現解析を行ったところ、設計通りの分子サイズのPCR産物が増幅された。また、射出精子に残存するRNAを回収してRT-PCRを行うと、SmallサブユニットのみであったがPCR産物の増幅が可能であった。得られたSmallサブユニットのPCR産物の塩基配列を解析しアミノ酸配列に変換した後、BLASTpを用いて相同性検索を行った結果、ウシカルパイン2 Smallサブユニット様配列(XP_002694832)およびヒトカルパイン2 Smallサブユニット(NP_115706)に対する相同性はいずれも90%以上であった。またアミノ酸配列No. 26~81にはカルシウム結合モチーフであるEF-hand構造が保存されていた。なお既報(Schollmeyer, Biol Reprod 1986; 34: 721-731)において、ブタ精子ではカルパイン2は先体および頸部に分布することが間接蛍光抗体法により示されている。以上の結果から、ブタ精子でのカルパイン2の存在が確認された。

時期尚早な受精能力の発現を防ぐための分子標的治療のターゲットとしてカルパインが有効であるか否かについて検討した。上述の方法に従って、受精能獲得・鞭毛超活性化運動・先体反応の誘起処理を行う際、ブタの精子浮遊液に細胞膜透過性カルパイン阻害剤を添加した。まずFITC-PNA/PI染色法により先体反応に及ぼすCI VIの影響を観察した。cBiMPSおよびCI VI無添加の対照区ではインキュベート180分後に大部分(94%)の精子で先体反応は見られなかったが、cBiMPSの存在下では約半数(42%)で先体反応が誘起された。しかし、cBiMPSとともにCI VIを添

加すると添加濃度依存的に先体反応は有意に抑制された。他方、cBiMPS存在下で180分間インキュベートされた精子試料では高率に鞭毛超活性化運動が誘起されたが(<http://www.research.kobe-u.ac.jp/ans-reprod/Hyp.htm>)、CI III添加区では活発な鞭毛運動を保った状態で鞭毛超活性化運動精子率は有意に低下した。他方、cBiMPS存在下でのインキュベーションにより誘起される先体反応および鞭毛超活性化運動はブタ射出精子およびウシ凍結精子のいずれにおいても培養液からの塩化カルシウムの除去、または培養液へのEDTA・3Naの添加により著しく抑制された。以上の結果から、ブタおよびウシの精子での時期尚早な先体反応および鞭毛超活性化運動の抑制にはカルシウム無添加培養液と細胞膜透過性カルパイン阻害剤の併用によるカルシウムシグナリングの遮断が有効であると考えられる。

Fluo-3/AMで処理したウシ凍結精子を塩化カルシウム無添加培養液に再浮遊された場合、一部の低繁殖症雄個体での精子頭部内カルシウム濃度は正常繁殖能力の精子よりも高かった。この結果から、少なくとも一部の低繁殖症雄ウシでは融解直後の精子において細胞内ストアからのカルシウムの放出が起こっていると考えられる。また同様の現象は卵黄無添加の希釈液で2日間低温液状保存したブタ射出精子でも見られ、30~40%の精子で先体反応様の形態変化が認められたが、保存前にCI VIを添加すると先体反応様の形態変化は抑制される傾向にあった。以上の結果は、家畜の雄性低繁殖症に関係する精子の自発的先体反応を抑制するための最も有効なターゲットがカルシウムシグナリング構成分子であることを示唆している。

(3) AMPK

ATPの供給源である糖代謝系は精子の受精能力発現に必須である。本研究ではこの糖代謝系の制御分子「AMPK」に着目し、そのブタ射出精子での分布と活性化状態を観察した。受精能獲得・鞭毛超活性化運動を誘起する目的でcBiMPS存在下でインキュベートしたブタ射出精子を抗活性化型AMPK抗体を用いたウェスタンブロッティングに供した。その結果、インキュベーション5分後の試料で62 kDaの活性化型AMPKが出現し、その後はインキュベーションとともに68 kDaまでバンドがシフトアップした。またPKA阻害剤H-89を精子浮遊液に同時に添加すると活性化型AMPKの出現は完全に抑制された。また、同抗体を用いた間接蛍光抗体法でインキュベーション180分後の鞭毛超活性化運動精子を観察すると、活性化型AMPKは中片部に局在していた。他方、精子浮遊液に細胞膜透過性AMPK阻害剤(Compound C)を添加すると、運動精子率の有意な低下を引き起こすこと

なく、鞭毛超活性化運動の発現が強く抑制された。以上の結果から、鞭毛での受精能力の発現を抑制するための分子標的治療のターゲットとして AMPK が有効であると考えられる。

(4) SPACA1

低繁殖症の雄ウシ由来の凍結精子を活力検査と FITC-PNA/PI 染色に供したところ、運動性は良好であったが、正常先体を持つ精子の割合は正常繁殖能力の雄個体よりも有意に低かった。従ってウシにおける低繁殖症の一因は先体構造の脆弱さによる精子の低耐凍能であると考えられる。また低耐凍能精子の詳細な観察を実施したところ、凍結前の段階で先体前部のチロシンリン酸化 SPACA1 が著しく減少していた (図 3)。そこで低耐凍能

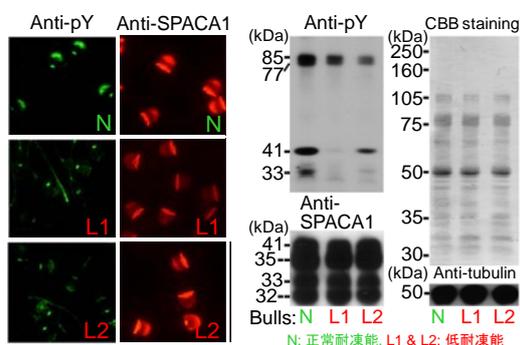


図 3. 耐凍能の異なるウシ新鮮射出精子でのチロシンリン酸化タンパク質および SPACA1 の間接蛍光抗体法およびウェスタンブロッティング法による検出

精子の先体でのチロシンリン酸化 SPACA1 の減少メカニズムについて検討したところ、精巣での mRNA レベルの発現量は精子耐凍能に関わりなくほぼ一定で、mRNA の塩基配列にも低耐凍能と関連する異常は認められなかった。また精子の SPACA1 の含量にも個体差はほとんど見られなかった。従って低耐凍能の雄個体由来の精子の先体前部でチロシンリン酸化 SPACA1 が減少しているのは、SPACA1 でのチロシンリン酸化が正しく行えないことに原因があると推定された。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 3 件)

- ① Murase T, El-Kon I, Harayama H, Mukoujima K, Takasu M, Sakai K. Hyperactivated motility of frozen-thawed spermatozoa from fertile and subfertile Japanese black bulls induced by cyclic adenosine 3',5'-monophosphate analogue, cBiMPS., *J Reprod Dev.* 査読有, 2010, Vol. 56, No. 1, pp.36-40
- ② Tate S, Nakamura K, Suzuki C, Noda T, Lee J, Harayama H. Evidence of the existence of adenylyl cyclase 10 (ADCY10) ortholog

proteins in the heads and connecting pieces of boar spermatozoa, *J Reprod Dev.* 査読有, 2010, Vol. 56, No. 2, pp.271-278

- ③ Harayama H, Nishijima K, Murase T, Sakase M, Fukushima M. Relationship of protein tyrosine phosphorylation state with tolerance to frozen storage and the potential to undergo cyclic AMP-dependent hyperactivation in the spermatozoa of Japanese Black bulls, *Mol Reprod Dev.* 査読有, 2010, Vol. 77, No. 10, pp.910-921

[学会発表] (計 18 件)

- ① 原山 洋, 野田大地, 設楽 修, ブタ精子での cAMP 依存的な鞭毛超活性化運動に及ぼすカルモジュリンアンタゴニストおよびカルパイン阻害剤の影響, 第 136 回日本生殖医学会関西支部集談会・第 42 回関西アンドロロジーカンファレンス, 2011 年 3 月 5 日, 大阪
- ② 原山 洋, 野田大地, 設楽 修, ブタ精子中片部の AMPK は cAMP 依存性ハイパーアクチベーションの発現制御に関与する, 日本アンドロロジー学会第 29 回学術大会, 2010 年 7 月 30 日, 東京
- ③ Noda T, Shidara O. and Harayama H. Identification of cAMP responsive element modulator (CREM) isoforms of the porcine testis, 11th International Symposium on Spermatology, 2010 年 6 月 25 日, 那覇
- ④ Harayama H, Murase T, Sakase M. and Fukushima M. Immunodetection patterns of tyrosine-phosphorylated proteins in the head of frozen-thawed spermatozoa of Japanese Black bulls, 11th International Symposium on Spermatology, 2010 年 6 月 25 日, 那覇
- ⑤ 野田大地, 設楽 修, 原山 洋, ブタ精巣における cAMP 依存性転写調節因子 *CREM τ* の発現, 日本畜産学会第 112 回大会, 2010 年 3 月 28 日, 東京
- ⑥ 綿井佑輔, 野田大地, 坂瀬充洋, 福島護之, 原山 洋, ウシ精巣におけるアデニル酸シクラーゼ 10 (*ADCY10*) mRNAs のスプライスバリエーションの検出, 第 135 回日本生殖医学会関西支部集談会・第 40 回関西アンドロロジーカンファレンス, 2010 年 3 月 13 日, 大阪
- ⑦ 野田大地, 原山 洋, ブタの精子形成関連タンパク質の発現を制御する cAMP シグナリング構成分子の同定, 第 135 回日本生殖医学会関西支部集談会・第 40 回関西アンドロロジーカンファレンス, 2010 年 3 月 13 日, 大阪
- ⑧ Murase T, Mukoujima K, Harayama H, Hoshino Y. and Kato T. Subfertility in Japanese Black bulls and new methods to detect abnormal functionality of

- spermatozoa, International Symposium of Declining Fertility in Dairy Cows in the World; its Causes and Possible Solutions, 2010年1月30日, 宮崎
- ⑨ 原山 洋, 哺乳類精子における部位特異的なcAMPシグナリング, 第8回受精シンポジウム「精子研究の最前線」(日本動物学会第80回大会), 2009年9月18日, 静岡
- ⑩ 野田大地, 設楽 修, 原山 洋, ブタ精巢におけるcAMP依存性転写調節因子(CREM)ファミリーアイソフォームの発現, 日本アンドロロジー学会第28回学術大会, 2009年7月3日, 富山
- ⑪ 中村和美, 鈴木千尋, 田手俊輔, 李 智博, 原山 洋, ブタ精子におけるADCY10の検出, 日本アンドロロジー学会第28回学術大会, 2009年7月3日, 富山
- ⑫ Nakamura K., Suzuki C., Tate S., Lee J. and Harayama H., Detection of soluble adenylyl cyclase (ADCY10) homolog proteins in boar spermatozoa, 34th Annual Meeting of the American Society of Andrology, 2009年4月5日, Philadelphia, PA, USA
- ⑬ 原山 洋, 中村和美, 三宅正史, ブタ精子でのハイパーアクチベーションの発現制御における解糖系の役割, 日本畜産学会第110回大会, 2009年3月27日, 藤沢
- ⑭ 原山 洋, 野田大地, 三宅正史, cAMPアナログ処理により鞭毛超活性化運動が誘起されたブタ精子でのAMPKサブユニットの分子変化, 第134回日本生殖医学会関西支部集談会・第38回関西アンドロロジーカンファレンス, 2009年3月14日, 大阪
- ⑮ 原山 洋, 哺乳類精子の頸部特異的なcAMPシグナリングによるハイパーアクチベーションの制御, 第40回精子研究会シンポジウム, 2009年1月10日, 吹田
- ⑯ 中村和美, 鈴木千尋, 田手俊輔, 原山 洋, ブタ精子頭部での細胞内カルシウム濃度上昇における可溶化型アデニル酸シクラーゼの役割, 日本繁殖生物学会第101回大会, 2008年9月18日, 福岡
- ⑰ 村瀬哲磨, Ismail El-kon, 向島幸司, 原山 洋, 高須正規, 酒井謙司, 低受胎率を示した黒毛和種あるいは正常な個体における凍結-融解精子鞭毛の超活性化運動, 日本繁殖生物学会第101回大会, 2008年9月18日, 福岡
- ⑱ 中村和美, 田手俊輔, 原山 洋, cAMP-Epacシグナリングを介したブタ精子キヤパシテーションの新規制御メカニズム, 日本アンドロロジー学会第27回学術大会, 2008年7月4日, 京都

6. 研究組織

(1) 研究代表者

原山 洋 (HARAYAMA HIROSHI)
神戸大学・大学院農学研究科・准教授
研究者番号：30281140

(2) 研究分担者

三宅正史 (MIYAKE MASASHI)
神戸大学・自然科学系先端融合研究環重点研究部・教授
研究者番号：60093316

村瀬哲磨 (MURASE TETSUMA)
岐阜大学・応用生物科学部・教授
研究者番号：30303514

(3) 連携研究者

福島護之 (FUKUSHIMA MORIYUKI)
兵庫県立農林水産技術総合センター・北部農業技術センター・主任研究員
研究者番号：60463395