

令和元年6月3日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究(A)

研究期間：2015～2018

課題番号：15H05573

研究課題名(和文) 遺伝子組換え動物を用いた哺乳類生殖細胞特異的GPIアンカータンパク質の機能解析

研究課題名(英文) Analysis of mammalian germ cell-specific GPI-anchored proteins using genetically modified animals

研究代表者

藤原 祥高 (Fujihara, Yoshitaka)

大阪大学・微生物病研究所・招へい准教授

研究者番号：70578848

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 18,000,000円

研究成果の概要(和文)：不妊・不育は我が国の社会問題のひとつであるが、研究代表者はこれまで遺伝子組換え動物を用いて男性不妊の原因遺伝子を探索・解析してきた。本研究では、現在主流になった遺伝子改変技術CRISPR/Cas9により効率良く遺伝子組換え動物を作出し解析することで、生殖に必須な遺伝子を新たに見つけることに成功した。また、副プロジェクトとしてCRISPR/Cas9を駆使することで、点変異やノックインなどの従来難しかったゲノム編集を導入した動物の作製にも成功した。これらの技術は、ヒト遺伝性疾患のモデル動物作製に大いに役立つと考えられる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、新たなゲノム編集技術CRISPR/Cas9を駆使して遺伝子組換えマウスを効率良く作製・解析することで、哺乳類の生殖に必須な遺伝子を複数同定することに成功した。その中でも特筆すべきは、研究代表者がこれまで着目してきた生殖細胞特異的に発現する膜タンパク質の一種GPIアンカータンパク質を網羅的に解析した結果、LYPD4が精子受精能に関与する新たな因子であることを明らかにした。今回発見した因子の全てがヒトにも保存されていることから、男性不妊の診断マーカーや避妊薬開発のターゲットとしての可能性を秘めている。

研究成果の概要(英文)：Infertility is a global issue. To address it, I focused on finding and analyzing genes essential for male fertility using genetically modified (GM) animals. In this study, I generated CRISPR/Cas9-mediated GM mice and found several essential factors regulating the sperm fertilizing ability. In addition, I have established an efficient CRISPR/Cas9-mediated method to introduce point mutations and knock-ins that were previously produced at low efficiency. These genome-editing technologies are quite useful to make model animals of human genetic diseases.

研究分野：生殖・発生工学

キーワード：生殖細胞 GPIアンカータンパク質 遺伝子組換えマウス CRISPR/Cas9 受精

様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

近年、不妊・不育症は我が国の大きな社会問題となっており、その原因の究明並びに診断・治療法の確立が急務となっている。本研究では不妊にフォーカスを絞り、哺乳類生殖細胞の成り立ちについて分子生物学的アプローチで解析を行う。研究代表者はこれまでに遺伝子組換え動物を用いて、精子の形態形成 (*Development*. 2012)、精子の受精能獲得機構 (*Mol Biol Cell*. 2012)、そして精子と卵の膜融合 (*J Cell Sci*. 2010) に関する雄性生殖細胞の分子メカニズムの一端を明らかにしてきた。最近では、精子受精能に必須の生殖細胞特異的 GPI(glycosylphosphatidylinositol) アンカータンパク質 TEX101 (*PNAS*. 2013) と相互作用する GPI アンカータンパク質 LY6K の遺伝子欠損マウスの解析から、*Tex101* を含む 12 種類 (*Ace, Adam1a, Adam2, Calr3, Clgn, Inpp5b, Pdilt, Pmis2, Prss37, Rnase10, Tex101, Tpst2*) の遺伝子欠損マウスにおいて異常 (消失など) を示した精子膜タンパク質 ADAM3 が、同じ表現型を示す LY6K 欠損マウス精子には存在することを明らかにした (*Biol Reprod*. 2014)。これらの解析から精子受精能を司るマスター因子 X が ADAM3 以外に存在することが強く示唆された。また、ADAM3 の消失が原因で雄性不妊を示す遺伝子群のほとんどがヒトにも保存されているのに対して、肝心のヒト *ADAM3* が偽遺伝子であることも好材料であった。さらに、上記以外の生殖細胞特異的な発現を示す GPI アンカータンパク質にも着目し、個体レベルでの生理機能を明らかにするために遺伝子組換え動物を作製し解析を行った。これまでの研究から、精子受精能におけるマスター因子 X は精子上に存在し、かつヒトにも保存されていると予想され、その因子が精子の子宮-輸卵管結合部の通過や精子と卵透明帯との結合を制御していると考えられた。そのような状況下で、研究代表者が解析を進めていた GPI アンカータンパク質 LYPD4 がマスター因子 X の候補として浮上した。LYPD4 は精子頭部に局在し、先体反応により消失することが分かった。そして、研究代表者が作製した LYPD4 欠損マウスは雄性不妊を示し、ADAM3 欠損マウスと同様の表現型であった。本研究では、LYPD4 欠損マウスの解析を通して「精子受精能における GPI アンカータンパク質の役割」を明らかにすることを目的に実施した。

また、生殖細胞特異的な GPI アンカータンパク質は精子だけでなく、卵子受精能においても必須であることが報告されている。その根拠として、GPI アンカー合成酵素 PIG-A を卵子特異的に欠損させると、卵子は精子との融合能を失い雌は不妊になった (*Alfieri et al. J Cell Sci*. 2003)。そして、最近 GPI アンカータンパク質 IZUMO1R (JUNO) が卵子側の融合因子であることが報告された (*Bianchi et al. Nature*. 2014)。これらの報告から、雌側でも GPI アンカータンパク質が受精に必須の役割を担っていることが分かった。本研究では、もう一つのテーマ「卵子受精能における GPI アンカータンパク質の機能解析」として、遺伝子改変マウスを用いた生体レベルでの解析を計画した。

2. 研究の目的

生殖細胞は、遺伝情報を次世代へと伝えることのできる唯一の細胞であり、哺乳類では精子と卵子がその役割を担っている。研究代表者はこれまでに雄の生殖細胞特異的 GPI アンカータンパク質 (TEX101, LY6K) が精子受精能において必須の因子であることを明らかにしてきた。本研究では、研究代表者が新たに発見した精子上に存在する GPI アンカータンパク質 LYPD4 の生理的機能を明らかにするとともに、雌雄の生殖細胞で発現する GPI アンカータンパク質を含む膜タンパク質に焦点を絞って遺伝子改変マウスを用いた個体レベルの解析を行った。

3. 研究の方法

本研究では、LYPD4 を含む精子受精能に関与する GPI アンカータンパク質と雌の生殖細胞で発現する GPI アンカータンパク質に着目して、KO マウスを用いた生体レベルでの解析を行った。その際、申請者らが開発した CRISPR/Cas9 共発現プラスミド DNA を環状のまま、受精卵へ注入することで KO マウス作製を数ヶ月で実施した。CRISPR/Cas9 システムは単純な遺伝子欠損だけでなく、タグや外来遺伝子のノックインなどオンデマンド変異も導入できることから、ゲノム編集マウスを用いた分子メカニズム解析を計画した。雄側では蛍光精子を持つ Tg マウスや精子-卵透明帯結合能検定を行い、雌側では初期胚解析を組み込むことで表現型同定の効率化を図り、生殖 GPI アンカータンパク質を含む膜タンパク質の役割を明らかにすることを目指した。

4. 研究成果

(1) 男性不妊症原因遺伝子 *SPATA16* 点変異マウスの開発と機能解析

現在主流となったゲノム編集技術 CRISPR/Cas9 システムを用いることで、従来よりも容易に遺伝子組換え動物を作製できるようになった。研究代表者は、この CRISPR/Cas9 とこれまで培ってきたマウス ES 細胞を用いた遺伝子改変技術を組み合わせることで、両アリ

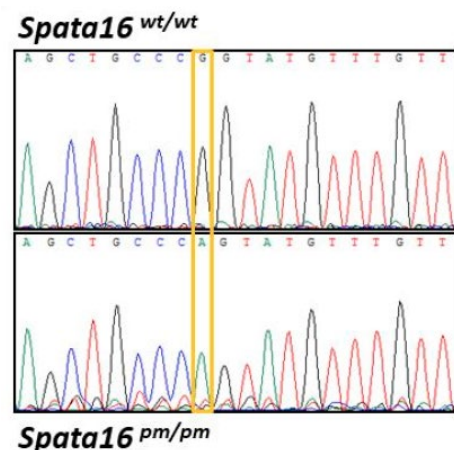


図1. *Spata16*点変異(R284Q)マウスの作製。851番目の塩基を G から A に改変することに成功した。(論文#8)

ル変異や 100kb 以上の大きなゲノム領域欠損を効率良くできることを報告した (*Sci Rep.* 2016)。次に、男性不妊症のひとつである巨大円形精子症の原因遺伝子として報告のあった *SPATA16* の点変異 (848G→A, R283Q) モデルマウスの作製を試みた。マウスゲノムを調べたところ、当該塩基及びアミノ酸 (851G→A, R284Q) は保存されていたので、CRISPR/Cas9 システムを利用して点変異マウスを作製した。目的の点変異が導入できていることをシーケンスにより確認し (図 1)、ホモ型点変異を持つ成熟雄マウスの生殖能力を交配試験により調べた。その結果、残念ながら、ヒトで報告されているような不妊の表現型は見られず、点変異雄マウスの生殖能力は正常であることが分かった。その一方で、報告のあった不妊患者では点変異によりエクソン 4 番のスキップ異常が示唆されていたため、エクソン 4 番周辺を 781 塩基欠損させ、エクソン 4 番だけを強制的にスキップするようなインフレーム変異を持つマウスを作製し生殖能力を調べた。その結果、ホモ型インフレーム変異を持つ雄マウスは不妊になり、その原因が精子形成後期の異常であることが分かった (図 2)。以上より、マウス *Spata16* 遺伝子の点変異 (R284Q) は生殖には必須ではなかったが、*Spata16* 遺伝子は精子形成に必須の役割を持つことを明らかにした。

図 2. *Spata16* 遺伝子のエクソン 4 番スキップマウスの表現型解析。
 (上) 精子形成後期の異常により精巣重量が有意に減少し不妊になった。
 (下) 精巣上体尾部からは完成精子がほとんど見つからず、精巣内で異常停止した円形精子細胞が回収された。(論文#8)

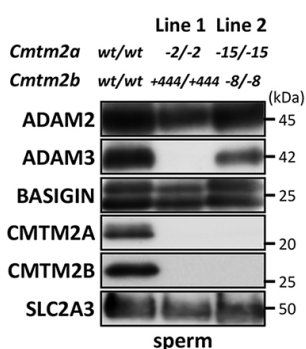
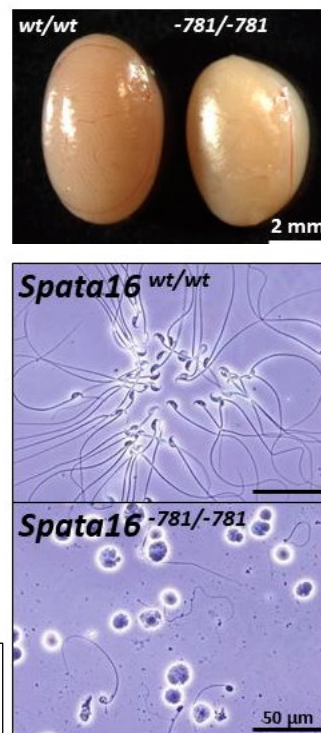


図 3. *Cmtm2a/b* 変異マウス精子のウェスタンブロット解析。作製した 2 ラインにおいて ADAM3 の異常 (消失・減少) が見られた。(論文#2)

(2) ゲノム編集マウスを用いた精巣特異的 *Cmtm* 遺伝子クラスターの機能解析

研究代表者は、精巣特異的な発現を示す膜タンパク質にフォーカスを絞り研究を進めていて、今回は *CMTM* (CKLF-like MARVEL transmembrane domain containing) 遺伝子クラスターに着目した。この遺伝子クラスターの発現を調べたところ、*Cmtm1*, *Cmtm2a*, *Cmtm2b* がマウス精巣で特異的な発現を示すことが分かった。そこで CRISPR/Cas9 システムにより遺伝子欠損マウスを作製し、生殖での表現型を調べた。その際、ヒトでは *CMTM2* 遺伝子ひとつしか保存されていないことから、マウスオーソログである *Cmtm2a* と *Cmtm2b* の両方に変異を導入することにした。その結果、*Cmtm1* 変異マウスは正常であったが、*Cmtm2a/b* 変異マウスは不妊であることが分かった。次に、*Cmtm2a/b* 変異マウスの不妊原因を調べたところ、精子受精能に必須の膜タンパク質 ADAM3 に異常があることが分かった (図 3)。CMTM2A/B はどちらも精子膜上に局在することから、ADAM3 との関係性を調べる目的で *Adam3-Flag* トランスジェニックマウスを作製し免疫沈降法により調べた。しかし、この系を用

いて ADAM3 と CMTM2A/B との関連を明らかにすることはできなかった。これらの関連の有無を証明することが今後の課題である。

(3) 卵子 GPI アンカータンパク質 *IZUMO1R* (*JUNO*) 遺伝子欠損マウスの開発と機能解析

JUNO は、精子側融合因子である一回膜貫通型タンパク質 *IZUMO1* の卵子側パートナーとして同定された (Bianchi et al. *Nature.* 2014)。しかし、実際にどの部分で互いに結合しているのかは不明であった。そこで、結晶構造解析と *Juno* 欠損 (KO) マウスから採取した KO 卵子に候補部位に点変異を導入した *Juno* mRNA を用いたレスキュー実験を組み合わせることで、*JUNO* の *IZUMO1* 結合部位を調べた。その結果、*JUNO* の 62 番目のトリプトファンが *IZUMO1* との結合に重要であることが分かった (図 4)。今後は、受精後数時間で起こる *JUNO* の卵細胞膜からの消失メカニズムについて迫りたいと計画している。

(4) 遺伝子組換えマウスを用いた精子 GPI アンカータンパク質 *LYPD4* の機能解析

研究代表者が研究開始当初に発見した新規 GPI アンカータンパク質 *LYPD4* は、精子頭部の先体膜に存在し先体反応により精子上から消失することが免疫染色の観察から分かった。そして、*LYPD4*-KO マウス精子の子宮・輸卵管結合部通過不全により、

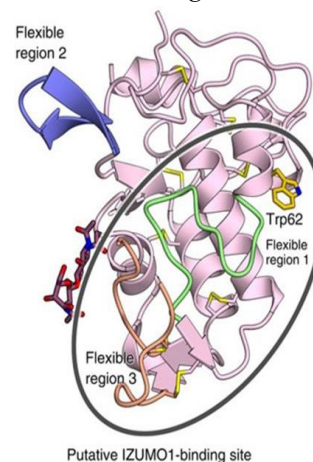


図 4. 受精膜融合に必須な *JUNO* の *IZUMO1* 結合ドメインの立体構造解析。*JUNO* の 62 番目トリプトファンを介して *IZUMO1* と直接結合していることが分かった。(論文#14)

LYPD4-KO マウスは不妊になることが明らかになった。そこで、これまで最重要因子として考えられていた精子膜タンパク質 ADAM3 の存在を調べた結果、驚くべき事に LYPD4-KO 精子には ADAM3 が存在していることがウエスタンブロット解析より判明した (図 5)。さらに、ADAM3-KO や関連 KO マウス精子を用いて LYPD4 の存在を調べたところ、KO マウス精子と野生型精子との間に大きな違いは見られなかった。これらの結果を総合すると、LYPD4 は精子に存在する新規の GPI アンカータンパク質であり、ADAM3 と相互作用することなく別経路で精子の子宮-輸卵管結合部の通過や卵透明帯との結合を制御する因子であることが明らかになった。ヒト精巣においても LYPD4 の発現が確認されていることから、今後はヒト LYPD4 の役割や研究代表者が報告しているその他の膜タンパク質 (CMTM2 や LY6K など) との関連について明らかにすることが課題である。以上、本研究の代表的な 4 つの成果について簡潔にまとめた。マスター因子 X の発見には至らなかったが、それに繋がる可能性のある因子群を同定することができた。その他には、本研究を基課題として国際共同研究加速基金 (国際共同研究強化) のサポートを受けて、「DNA エンコードライブラリーを用いた精子膜タンパク質を標的とした男性避妊薬の開発」というテーマで 2019 年度まで研究を実施している。現在、本課題で得られたいくつかの膜タンパク質のリコンビナントタンパク質の作製に成功したので、これから共同研究先の米国ベイラー医科大学において小分子化合物スクリーニングを行う計画である。まずは、標的タンパク質に結合する化合物の同定を目指したい。

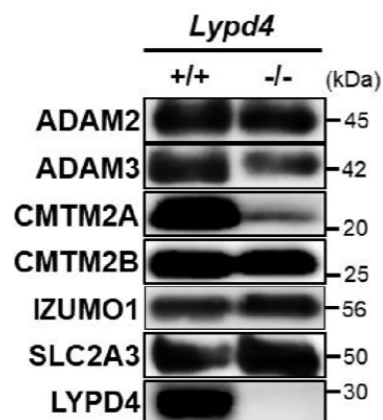


図 5. LYPD4-KO マウス精子を用いたウエスタンブロット解析。KO 精子では野生型に比べて、ADAM3 と CMTM2A の減少が見られたが、消失はしていなかった。(現在投稿中)

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 23 件)

1. Noda T, [Fujihara Y](#), Matsumura T, Oura S, Kobayashi S, Ikawa M. Seminal vesicle secretory protein 7, PATE4, is not required for sperm function but for copulatory plug formation to ensure fecundity. *Biol Reprod.* 2019, 100, 1035-45
2. [Fujihara Y](#), Oji A, Kojima-Kita K, Larasati T, Ikawa M. Co-expression of sperm membrane proteins CMTM2A and CMTM2B is essential for ADAM3 localization and male fertility in mice. *J Cell Sci.* 2018, 131, 221481
3. Sakamoto S, Thumkeo D, Ohta H, Zhang Z, Huang S, Kanchanawong P, Fuu T, Watanabe S, Shimada K, [Fujihara Y](#), Yoshida S, Ikawa M, Watanabe N, Saitou M, Narumiya S. mDia1/3 generate cortical F-actin meshwork in Sertoli cells that is continuous with contractile F-actin bundles and indispensable for spermatogenesis and male fertility. *PLoS Biol.* 2018, 16, e2004874
4. Tanaka T, Shimizu S, Ueno M, [Fujihara Y](#), Ikawa M, Miyata S. MARCKSL1 Regulates Spine Formation in the Amygdala and Controls the Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Axis and Anxiety-Like Behaviors. *EBioMedicine.* 2018, 30, 62-73
5. Kurahara LH, Hiraishi K, Hu Y, Koga K, Onitsuka M, Doi M, Aoyagi K, Takedatsu H, Kojima D, [Fujihara Y](#), Jian Y, Inoue R. Activation of Myofibroblast TRPA1 by Steroids and Pirfenidone Ameliorates Fibrosis in Experimental Crohn's Disease. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol.* 2018, 5, 299-318
6. Higa M, Oka M, [Fujihara Y](#), Masuda K, Yoneda Y, Kishimoto T. Regulation of inflammatory responses by dynamic subcellular localization of RNA-binding protein Arid5a. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2018, 115, E1214-20
7. [Fujihara Y](#), Miyata H, Ikawa M. Factors controlling sperm migration through the oviduct revealed by gene-modified mouse models. *Exp Anim.* 2018, 67, 91-104
8. [Fujihara Y](#), Oji A, Larasati T, Kojima-Kita K, Ikawa M. Human Globozoospermia-Related Gene Spata16 Is Required for Sperm Formation Revealed by CRISPR/Cas9-Mediated Mouse Models. *Int J Mol Sci.* 2017, 18, E2208
9. Hasan Z, Koizumi SI, Sasaki D, Yamada H, Arakaki N, [Fujihara Y](#), Okitsu S, Shirahata H, Ishikawa H. JunB is essential for IL-23-dependent pathogenicity of Th17 cells. *Nat Commun.* 2017, 8, 15628
10. Fujitani M, Zhang S, Fujiki R, [Fujihara Y](#), Yamashita T. A chromosome 16p13.11 microduplication causes hyperactivity through dysregulation of miR-484/protocadherin-19 signaling. *Mol Psychiatry.* 2017, 22, 364-74
11. Lee GH, Fujita M, Takaoka K, Murakami Y, [Fujihara Y](#), Kanzawa N, Murakami KI, Kajikawa E, Takada Y, Saito K, Ikawa M, Hamada H, Maeda Y, Kinoshita T. A GPI processing phospholipase A2, PGAP6, modulates Nodal signaling in embryos by shedding CRIPTO. *J Cell Biol.* 2016, 215, 705-18

12. Oji A, Noda T, [Fujihara Y](#), Miyata H, Kim YJ, Muto M, Nozawa K, Matsumura T, Isotani A, Ikawa M. CRISPR/Cas9 mediated genome editing in ES cells and its application for chimeric analysis in mice. *Sci Rep*. 2016, 6, 31666
13. Kobayashi S, Hosoi Y, Shiura H, Yamagata K, Takahashi S, [Fujihara Y](#), Kohda T, Okabe M, Ishino F. Live imaging of X chromosome reactivation dynamics in early mouse development can discriminate naïve from primed pluripotent stem cells. *Development*. 2016, 143, 2958-64
14. Kato K, Satouh Y, Nishimasu H, Kurabayashi A, Morita J, [Fujihara Y](#), Oji A, Ishitani R, Ikawa M, Nureki O. Structural and functional insights into IZUMO1 recognition by JUNO in mammalian fertilization. *Nat Commun*. 2016, 7, 12198
15. Miyata H*, Castaneda JM*, [Fujihara Y](#)*, Yu Z*, Archambeault DR, Isotani A, Kiyozumi D, Kriseman ML, Mashiko D, Matsumura T, Matzuk RM, Mori M, Noda T, Oji A, Okabe M, Prunskaitė-Hyyryläinen R, Ramirez-Solis R, Satouh Y, Zhang Q, Ikawa M, Matzuk MM. Genome engineering uncovers 54 evolutionarily conserved and testis-enriched genes that are not required for male fertility in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2016, 113, 7704-10
16. Yamazaki D, Miyata H, Funato Y, [Fujihara Y](#), Ikawa M, Miki H. The Mg²⁺ transporter CNNM4 regulates sperm Ca²⁺ homeostasis and is essential for reproduction. *J Cell Sci*. 2016, 129, 1940-9
17. [Fujihara Y](#), Ikawa M. GPI-AP release in cellular, developmental, and reproductive biology. *J Lipid Res*. 2016, 57, 538-45
18. Muto M*, [Fujihara Y](#)*, Tobita T, Kiyozumi D, Ikawa M. Lentiviral Vector-Mediated Complementation Restored Fetal Viability but Not Placental Hyperplasia in Plac1-Deficient Mice. *Biol Reprod*. 2016, 94, 6
19. Miyata H, Satouh Y, Mashiko D, Muto M, Nozawa K, Shiba K, [Fujihara Y](#), Isotani A, Inaba K, Ikawa M. Sperm calcineurin inhibition prevents mouse fertility with implications for male contraceptive. *Science*. 2015, 350, 442-5
20. Tokuhiko K, Satouh Y, Nozawa K, Isotani A, [Fujihara Y](#), Hirashima Y, Matsumura H, Takumi K, Miyano T, Okabe M, Benham AM, Ikawa M. Calreticulin is required for development of the cumulus oocyte complex and female fertility. *Sci Rep*. 2015, 5, 14254
21. Ono R, Ishii M, [Fujihara Y](#), Kitazawa M, Usami T, Kaneko-Ishino T, Kanno J, Ikawa M, Ishino F. Double strand break repair by capture of retrotransposon sequences and reverse-transcribed spliced mRNA sequences in mouse zygotes. *Sci Rep*. 2015, 5, 12281
22. 藤原祥高、佐藤裕公、伊川正人、生殖不全の表現型解析、実験医学別冊マウス表現型解析スタンダード、査読無、2016、216-27
23. 藤原祥高、伊川正人、マウスでのゲノム編集、ゲノム編集成功の秘訣 Q&A、査読無、2015、106-23

[学会発表] (計 14 件)

1. [Yoshitaka Fujihara](#), Asami Oji, Tamara Larasati, Kanako Kojima-Kita, and Masahito Ikawa, Human globozoospermia-related gene Spata16 is required for sperm formation revealed by CRISPR/Cas9-mediated mouse models. 66th Annual Meeting of the Society for Reproductive Investigation, 2019
2. 藤原祥高、ゲノム編集動物作製法の開発と雄性不妊モデルマウスの機能解析、第 19 回日本生殖工学会学術講演会、2019 年
3. [Yoshitaka Fujihara](#), Asami Oji, Tamara Larasati, Kanako Kojima-Kita, and Masahito Ikawa, Human globozoospermia-related gene Spata16 is required for sperm formation revealed by CRISPR/Cas9-mediated mouse models. 51th Annual Meeting of the Society for the Study of Reproduction, 2018
4. 藤原祥高、大字亜沙美、北加奈子、Tamara Larasati、伊川正人、遺伝子改変マウスを用いた精巣特異的 Cmtm 遺伝子群の機能解析、第 65 回日本実験動物学会総会、2018 年
5. [Yoshitaka Fujihara](#), Asami Oji, Tamara Larasati, Kanako Kojima-Kita, and Masahito Ikawa, Human globozoospermia-related gene Spata16 is essential for spermiogenesis in mice. 2017 年度生命科学系学会合同年次大会 (第 40 回日本分子生物学会年会), 2017 年
6. 藤原祥高、遺伝子改変技術を用いた雄性不妊モデルマウスの開発と機能解析、第 14 回熊本大学生命資源研究・支援センターシンポジウム、2017 年
7. [Yoshitaka Fujihara](#), Asami Oji, Tamara Larasati, Kanako Kojima-Kita, and Masahito Ikawa, Human globozoospermia-related gene Spata16 is essential for spermiogenesis in mice. Fourth World Congress of Reproductive Biology, 2017
8. 藤原祥高、遺伝子改変マウスを用いた雄性生殖細胞特異的な膜タンパク質の機能解析、奈良先端科学技術大学院大学バイオサイエンス研究科セミナー、2017 年
9. 藤原祥高、遺伝子改変マウスを用いた雄性不妊モデルマウスの開発と機能解析、第 64 回、日本実験動物学会総会、2017 年
10. [Yoshitaka Fujihara](#), Asami Oji, Tamara Larasati, Kanako Kita, and Masahito Ikawa, Generation of point mutant mouse model responsible for human globozoospermia by CRISPR/Cas9 system. 第 64 回日本実験動物学会総会、2017 年

11. Yoshitaka Fujihara, Masaru Okabe, Masahito Ikawa, GPI-anchored protein complex, TEX101 and LY6K, is required for sperm fertilizing ability in mice. 国際シンポジウム生殖細胞のエピゲノムダイナミクスとその制御、2016年
12. 藤原祥高、雄性生殖細胞特異的 GPI アンカータンパク質の機能解析と新規遺伝子改変マウスを作製法の開発、神戸大学重点研究チーム「資源動物のシグナル伝達制御に関する研究」ワークショップ「生殖細胞研究の最先端技術」、2015年
13. Yoshitaka Fujihara, Masaru Okabe, Masahito Ikawa, GPI-anchored protein complex, TEX101 and LY6K, is required for sperm fertilizing ability in mice. 第10回研究所ネットワーク国際シンポジウム、2015年
14. 藤原祥高、岡部勝、伊川正人、雄性生殖細胞特異的な発現を示す GPI アンカータンパク質複合体 LY6K/TEX101 の精子受精能における役割、第62回日本実験動物学会総会、2015年

〔図書〕（計 0件）

〔産業財産権〕

○出願状況（計 0件）

○取得状況（計 0件）

〔その他〕

ホームページ等

Researchmap: https://researchmap.jp/Yoshitaka_Fujihara/

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8332-3507>

6. 研究組織

(1) 研究分担者：該当なし

(2) 研究協力者：該当なし

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。