

平成 21 年 5 月 18 日現在

研究種目：基盤研究 (B)

研究期間：2006～2008

課題番号：18390022

研究課題名 (和文) 受精に関与する新規ユビキチン化酵素の研究

研究課題名 (英文) Studies on the novel ubiquitinating enzymes involved in fertilization

研究代表者

澤田 均 (SAWADA HITOSHI)

名古屋大学・大学院理学研究科・教授

研究者番号：60158946

研究成果の概要：

受精は、生物が種を保存する上で不可欠なプロセスである。受精を成立させるためには、精子は糖タンパク質性の卵保護層（卵黄膜）に精子通過口を開ける必要があり、この溶解物質はライシンと呼ばれている。新口動物におけるライシンは精子プロテアーゼであると考えられているが、その詳細は不明である。我々は、ホヤにおいて、精子の新規ユビキチン-プロテアソーム系がライシンとして細胞外で機能することを見いだした。今回は、カタユウレイボヤを用いて、そのユビキチン化酵素の探索を行い、精子/精巣で特異的に発現する本酵素を同定することに成功した。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006年度	9,300,000	2,790,000	12,090,000
2007年度	3,000,000	900,000	3,900,000
2008年度	3,000,000	900,000	3,900,000
年度			
年度			
総計	15,300,000	4,590,000	19,890,000

研究分野：生化学

科研費の分科・細目：薬学・生物系薬学

キーワード：受精、精子、ユビキチン、プロテアソーム、ユビキチン化酵素、ホヤ

1. 研究開始当初の背景

有性生殖は、生物が種を保存する上で、最も重要な生命現象であり、これにより子孫に遺伝的多様性がもたらされる。この有性生殖の中核をなすのが受精である。

受精は、精子と卵が細胞間相互認識を行い、細胞膜の融合と核の合体により完了する現象で、個体発生の引き金となる。卵細胞は、糖タンパク質で構成される強固な卵保護層（海産動物では卵黄膜、哺乳類では透明帯と呼ばれる）で覆われており、これは種特異的な配偶子認識や多精拒否、さらに卵および胚

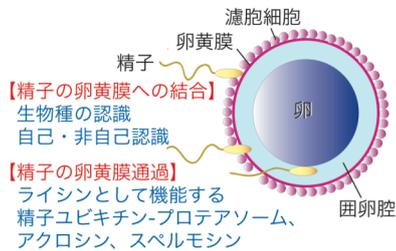
の保護の役割を果たしている。卵には卵保護層があるため、受精を成立させるためには、精子は精子側の溶解物質（ライシン）により、卵保護層に精子通過口を開けることが必要不可欠となる。

哺乳類では、精子先体胞中のトリプシン様酵素であるアクロシンがライシンであると長年信じられてきたが、そのノックアウトマウスにおいても、受精が成立することが示され、アクロシンはライシンとして機能していないと考えられるようになった。

そこで我々は、精子と卵の大量調製が可能

で受精実験の容易な海産無脊椎動物の中から、脊椎動物に近い原索動物マボヤを材料として取り上げ、ライシンとして機能する精子プロテアーゼの探索を行ってきた。ホヤは一般に雌雄同体で、精子と卵を同時に放出するが、マボヤやカタユレイボヤ等では自家受精はおこらない。それに対して、卵黄膜除去卵では自家受精がおこる。従って、精子は卵黄膜上の精子レセプターに結合後、非自己と識別するとライシン系を活性化させ、卵黄膜に精子通過を開けると考えられる。

マボヤでは、各種阻害剤や抗体による受精阻害実験から、2種類の精子トリプシン様酵素（アクロシンとスペルモシン）と精子プロテアソームが受精（特に、精子の卵黄膜への結合から通過過程）に関与すること、また精子プロテアソームが直接のライシンとして機能することを明らかにしてきた。



(図1) マボヤの受精様式

マボヤでは、精子滲出液（アルカリ海水により精子を活性化した際に細胞外に放出される物質）中に 700kDa のユビキチン化酵素複合体が存在し、それが卵黄膜の主要成分で自己非自己識別候補分子でもある HrVC70 のユビキチン化を引き起こす。次いで、それが精子プロテアソームによって分解されて、精子の卵黄膜通過が可能となる、という作業仮説をたてている。しかし、この「自己非自己認識—ライシン系」の分子の実体に関しては未解決の問題が多く残されている。そこで本研究では、細胞外で機能する新しいユビキチン化酵素の探索を中心として、それ以外にもこの系に関与する分子を広範に解析した。

2. 研究の目的

本研究課題では、従来細胞内でしか機能しないと考えられてきたユビキチン化機構の概念を打ち破り、新しい角度から受精に関与する細胞外ユビキチン化機構を解明することを最終目的としている。

そのためには、ホヤ類におけるライシン系をさまざまな角度から解析し、広範に理解することも重要であると思われる。そこで本研究では、(1) ユビキチン化の基質となるマボヤ卵黄膜成分 HrVC70 と相互作用するタンパク質の探索、(2) ユビキチン化酵素あるいは

その関連成分の精製の試み、(3) ユビキチン連結酵素 E2 とユビキチンリガーゼ E3 の候補分子の、カタユレイボヤデータベースからの探索、(4) カタユレイボヤ精子表面で発現しているタンパク質の網羅的解析とそこからのユビキチン化酵素系 (E1, E2, E3) の探索、(5) カタユレイボヤの HrVC70 オルソログの探索とそれと相互作用する精子タンパク質の同定、(6) 卵黄膜のユビキチン化に先行しておこる自己非自己識別の機構解析、に焦点をあてて、検討を行った。また、(7) ウニのライシン系との比較についても知見が得られたので、併せて報告する。

3. 研究の方法

(1) HrVC70 をベクトルとして、マボヤ生殖巣 cDNA ライブラリーから酵母ツーハイブリッド法 (Y2H) により HrVC70 と相互作用するタンパク質を探索した。また、ここで同定されたタンパク質を発現させて、タンパク質間相互作用も検討した。

さらに、卵との相互作用に重要な役割を果たすと考えられている精子ラフト画分を調製し、その画分に HrVC70 と相互作用するタンパク質が存在するか否かも検討した。

(2) マボヤの精子滲出液中に、HrVC70 をユビキチン化する酵素が存在することを報告しているが、その構造解析は行われていない。そこで本研究では、その酵素あるいはその活性と関わりのある成分を DEAE-セルロースイオン交換クロマトグラフィーとユビキチン-アガロースアフィニティクロマトグラフィーにより精製することを試みた。

(3) 受精時に機能するユビキチン連結酵素 E2 およびユビキチンリガーゼ E3 を探索する目的で、カタユレイボヤゲノムデータベースから精巢特異的に発現する遺伝子モデルを調べた。次いで、重要と思われる分子に関しては、抗体を作製し、精子における局在性解析や受精における役割について解析した。

(4) 精子と卵の相互作用に関わる精子側のタンパク質の多くは、精子膜ラフト画分に存在する。従って、この画分を調製し、SDS-PAGE 後、ゲル内トリプシン消化を行い、その消化断片を LC/MS/MS にかけて、消化断片の同定を行った。候補分子に関しては、GST 融合タンパク質として大腸菌で発現させ、その抗体を作製して局在性解析を行った。

(5) カタユレイボヤの卵黄膜のプロテオーム解析を行い、HrVC70 のカタユレイボヤオルソログが卵黄膜に存在するか否かを解析した。なお卵黄膜は、カタユレイボヤ卵

を破碎後、ナイロンメッシュで濾過し、メッシュ上にトラップされた卵黄膜を海水で十分洗浄することにより調製した。また、この濾液を卵由来の物質と考え、コントロールとして用いた。卵黄膜標品を SDS-PAGE 後、2 mm 間隔でゲルを切断し、ゲル内でトリプシン消化を行い、LC/MS/MS 分析を行った。

また、HrVC70 オルソログと相互作用する精子タンパク質の同定も行った。

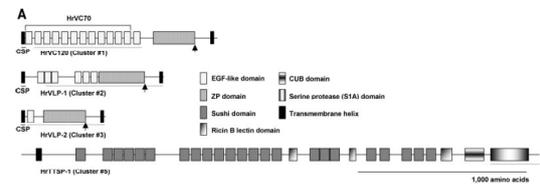
(6) カタユレイボヤは自家受精しないが、卵を酸性海水で処理すると自家受精できるようになる。この自殖 F1 同士で交配実験を行い、自己と見なして多家不稔性を示すのか、非自己と見なして稔性を示すかを調べ、自家不和合性に関わる遺伝子領域のポジショナルクローニングを行った。具体的には、自殖 F1 同士で交配すると、一方向性不稔（ある個体[遺伝子型:A/a]の精子を別の個体[遺伝子型:a/a]の卵に媒精すると受精するが、逆の組み合わせでは受精しないという現象）が見られるが、この場合、個体 A/a の精子には A 精子と a 精子の 2 種類が存在し、卵には A と a の両方の遺伝子産物が発現していると考えると、一方向性不稔現象が説明できることを T. H. Morgan が提唱している。本研究では、この現象を検証し、14 染色体上の約 70 の遺伝子マーカーについて、ホモかヘテロかを調べ、候補遺伝子領域の絞り込みを行った。

(7) バフンウニ、アカウニ、ムラサキウニを用いて、ユビキチン-プロテアソーム系がライシンとして機能するか否かを、各種阻害剤を用いて検討した。また、卵ゼリーあるいはカルシウムイオノフォア処理で誘発される精子先体反応に及ぼすプロテアーゼ阻害剤の影響も検討した。さらに、卵ゼリー処理上清画分を先体内容物とし、そこにプロテアソームが存在するか否かも検討した。

4. 研究成果

(1) Y2H 法により、HrVC70 と相互作用するタンパク質として、HrVLP-1 (VC70-like protein), HrVLP-2、さらに HrTTSP-1 (高分子量膜貫通型プロテアーゼ) が同定された (図 2) (文献④)。これらの融合タンパク質は、HrVC70 とタンパク質間で相互作用することができ、受精の場でも何らかの機能を果たすと推測される。In situ ハイブリダイゼーションの結果、HrVLP-1 と HrVLP-2 は卵巣で、HrTTSP-1 は精巣で発現していることが示された。HrVLP-1 と HrVLP-2 はいずれも卵黄膜の構成成分である可能性が高い。一方、HrTTSP-1 は sushi ドメインを有しており、免疫系（あるいは自己非自己認識）に関わる可能性も考えられるが、その機能に関しては不明である。

ただし、後述するように、このタンパク質のプロセシング産物は精子滲出液中に存在し、ユビキチンと相互作用することが示されたことから、ユビキチン化反応への関わりも考えられる。



(図 2) Y2H 法で同定された HrVC70 と相互作用するタンパク質の構造。

上から、HrVC120 (HrVC70 前駆体)、HrVLP-1、HrVLP-2、HrTTSP-1 を示す。HrVLP は EGF ドメインと ZP ドメインを含み、HrTTSP-1 は 23 個の sushi ドメインを持つ。

精子ラフト画分には配偶子間相互作用に関わる分子が集合しているという報告がある。そこで、マボヤ精子からこの画分を調製し、HrVC70 と相互作用するタンパク質を探した。その結果、ファーウエスタン解析により、HrUrabin と名付けたタンパク質が HrVC70 の結合パートナーであることが判明した。この分子は、CRISP (Cys-rich secretory protein) に属する GPI アンカー結合型糖タンパク質で、N 結合型糖鎖は活性発現に必須であった。ただし、この分子には多型が見られないことから、HrVC70 の分子多型を認識する能力はないと思われる (文献⑥)。

(2) マボヤ精子滲出液の DEAE-セルロース吸着画分をユビキチン-アガロースカラムにかけ、その吸着画分を SDS-PAGE で解析した。その結果、分子量 40kDa に主要なバンドを与えた。そこで、このバンドを切り出し、N 末端配列分析を行ったところ、HrTTSP-1 の内部配列 (Leu-1263 を N 末端とする配列) と一致することが判明した。従って、HrTTSP-1 がプロセシングされて、40kDa タンパク質が産生されたと考えられる。本タンパク質は、ユビキチン-アガロースに吸着し DTT で溶出されるが、ATP 非存在下でも吸着することから、ユビキチンにチオエステル結合を介して結合しているのではなく、HrTTSP-1 分子内の SS 結合がユビキチンへの結合に重要であると考えられる。予備的知見ではあるが、本タンパク質は、ユビキチンと HrVC70 の両者に結合する活性を有しており、HrVC70 をユビキチン化する際にユビキチンを基質近くに引き寄せる足場タンパク質として機能している可能性が考えられる。

(3) 当初、精子滲出液中のユビキチン化酵素を精製する予定であったが、放射標識したユビキチンを用いない限り、ユビキチン化タンパク質を検出できず、活性としては極めて低

いことが判明した。そこで、マボヤではなくカタユウレイボヤを用い、ゲノム情報を利用して受精時に機能するユビキチン化酵素の探索を試みた。

E3 に関しては、RING ドメインや HECT ドメインを有する遺伝子モデルを探索し、その中から精巣で特異的に発現しているものを2つ選別した。そして、その cDNA クローンの単離とヌクレオチド配列を決定した。

1つは、Ci0100130063 という遺伝子モデルで、N 末端側から、TPR ドメイン、RING ドメイン、Lon ドメインを併せ持つ 85.9kDa のタンパク質である。もう一方は、Ci9199137400 という遺伝子モデルで、N 末端側から FERM ドメインと RING ドメインを併せ持つ 57.4kDa のタンパク質である。これらのタンパク質を大腸菌で発現させて抗体を作製し、ウエスタンブロッティングを行った。カタユウレイボヤ精子抽出液を用いて調べると、いずれも 60kDa 付近に主要バンドを与えたが、それ以外にもバンドが検出された。一方、マボヤ精子を用いて調べると、Ci0100130063 は 60kDa、Ci9199137400 は 50kDa に見かけ上単一のバンドを与えた。これらの cDNA クローニングを行っていないが、カタユウレイボヤの E3 様分子のオルソログである可能性が考えられる。

E2 に関しても、その遺伝子モデル約 30 種類を選び出し、その発現場所を、EST 解析データを基に調べた。そして、精巣特異的に発現する酵素 (Ci0100152677) を見いだした。この遺伝子は、卵巣、心臓、筋肉、神経、内臓、血球では発現がみられず、精巣特異的に発現されることがノーザン解析により示された。また、卵巣で発現されず精巣で発現されることは、*in situ* ハイブリダイゼーションによっても確認された。この分子は、ユビキチンとチオエステル結合することから、ユビキチン様タンパク質ではなく、ユビキチンを基質とする E2 である。このタンパク質を大腸菌で発現させて抗体を作製し、ウエスタンブロッティングを行ったところ、このタンパク質が 30kDa の分子種として精子で存在することが示された。免疫染色を行ったところ、精子頭部と尾部に存在することが認められたが、予め細胞表面に存在することを示す結果は得られなかった。従って、受精時の精子活性化に伴って細胞膜表面に露出されるか細胞外に放出される可能性について、今後さらに検討する必要がある。一方、本酵素は、精子形成等に関わる可能性も考えられる。

(4) 精子ラフト画分を LC/MS/MS 分析にかけたところ、1 種類の E1、1 種類の E2、8 種類の E3 が、この画分に含まれることが示された (表 1)。これらのタンパク質に対する抗体を作製し、精子における発現を検討した

が、少なくとも、CiUbc13 に関しては精子での発現が確認され、尾部に局在することが示された。ここで検出されたタンパク質は、膜ラフト画分に存在するタンパク質なので、細胞外で機能する可能性が考えられるが、少なくとも細胞膜非透過性 NHS-LC-biotin を用いて細胞膜表面タンパク質の標識を行う実験では、細胞膜での局在は確認されなかった。

表 1 カタユウレイボヤ精子ラフト画分中の E1/E2/E3 様タンパク質

E1-3	Tentative name	Characteristics	Molecular mass (kDa)
E1	CiUba1	E1-like protein	121
E2	CiUbc13	E2-like protein	18
E3	CiRNF170	RING finger	31
E3	CiRNF13	RING finger	50
E3	CiMULAN	RING finger	40
E3	CiCullin3	Cullin	89
E3	CiSkp1	Adapter protein	12
E3	CiFb-kel	F-box protein	50
E3	CiFbox1	F-box protein	22
E3	CiKLHL6	BTB-domain	64

(5) カタユウレイボヤの卵黄膜標品に含まれる主要成分は CiVC100 (脂質輸送タンパク質の断片) で、その次に多いタンパク質は、CiVC57 であった。CiVC57 は EGF 様ドメインと ZP ドメインの両者を持つタンパク質で、構造的に HrVC120 (HrVC70 前駆体) のオルソログであると思われる。卵黄膜には、CiVC57 以外にも EGF 様ドメインと ZP ドメインを併せ持つタンパク質が多く含まれることが今回判明した。次のセクションで述べる自己非自己識別候補分子 (v-Themis-A/B) もこの卵黄膜標品中に含まれることが確認された (文献⑩)。

CiVC57 と相互作用するタンパク質は、マボヤ精子ラフト画分中の HrUra1in のオルソログである CiUra1in であることが明らかになった。一方、ファーウエスタン解析により、CiVC100 と相互作用する 70kDa の精子タンパク質を検出することにも成功した。

(6) ライシン系に先行しておこるアロ認識 (自己非自己識別) に直接関わる分子をポジショナルクローニングの手法により同定することを試みた。その結果、第 2 染色体と第 7 染色体のある領域に絞り込むことに成功した。第 2 染色体のその領域がコードするタンパク質のうち、卵黄膜に存在するタンパク質はフィブリノーゲン様タンパク質の 1 種類 (v-Themis-A と命名) だけで、非常に多型の富むことが示された (文献⑩)。またこの領域の遺伝子がコードするタンパク質のうち、精巣で発現しているタンパク質で、多型が見られるのも 1 種類 (s-Themis-A と命名)

で、しかもこの s-Themis-A 遺伝子の第 1 イン
トロン内に v-Themis-A 遺伝子が逆向きに配
置されていることも示された。同様の遺伝子
ペアは第 7 染色体にも見られ、卵黄膜側分子
を v-Themis-B、精子側分子を s-Themis-B と命
名した。いずれも多型に富むタンパク質で、
両ペアにおいて、自己と認識した時のみ、精
子が自己の卵黄膜であること認識し、卵黄膜
から離脱すると考えられる (文献⑨)。

(7) ウニでは、精子キモトリプシン様酵素が
ライシンとして機能すると報告されていた
が、キモスタチン等の強力なキモトリプシン
阻害剤がウニの受精を低濃度で阻害しない
ことことから、その機能に疑問が投げかけら
れていた。そこで、ホヤと同様にプロテアソ
ームがライシンとして機能しているのでは
ないかと考え、受精阻害実験を行ったところ、
MG132 や MG115 といったプロテアソーム阻
害剤が受精を濃度依存的に強く阻害するこ
とが判明した。また、卵ゼリーで先体反応を
起こした精子においても卵黄膜通過段階を
阻害することや、精子を卵ゼリーで処理した
上清 (先体内容物) 中にもプロテアソームが
存在することがウエスタンブロット解析に
より証明された。さらに、各種プロテアーゼ
インヒビターの受精阻害効果は、プロテアソ
ームの Z-Leu-Leu-Glu-MCA 活性 (PGPH 活性)
に対する阻害パターンと一致することが判
明し、精子プロテアソームの PGPH 活性が受
精、特に精子の卵黄膜通過に関与することが
示唆された。ただし、ウニの場合には、哺乳
類と同様に、卵黄膜は最初からユビキチン化
されている。ホヤでは精子プロテアソームは
ライシンとして機能することを明らかにし
てきたが、ウニでは、先体反応への関わりが
古くから指摘されていた。そこで先体反応が
プロテアソームに特異的な阻害剤 MG132 で
阻害されるか否かを解析した。その結果、卵
ゼリーで誘導した先体反応は MG132 で阻害
されるが、カルシウムイオノフォアで誘導し
た先体反応は阻害されないことがわかった。
このことは、受精時に卵ゼリー刺激から細胞
内カルシウム上昇に至るまでのシグナル伝
達経路にプロテアソームが関与すると考え
られる (文献②③)。

ホヤや哺乳類との比較という観点から考
えると、卵黄膜成分のユビキチン化の段階には
差が見られるものの、精子プロテアソームが
ライシンとして、卵保護層 (卵黄膜、卵透明
帯) の分解に関わる点においては、新口動物
に共通してみられる現象であると考えられ
る。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者に
は下線)

[雑誌論文] (計 10 件)

- ① 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. (査読あり)
- ② Harada, Y., Takagaki, Y., Sunagawa, M., Saito, T., Yamada, L., Taniguchi, H., and Shoguchi, E., and Sawada, H. (2008). Mechanism of self-sterility in a hermaphroditic chordate. *Science* 320 (5875), 548-550. (査読あり)
- ③ Harada, Y., and Sawada, H. (2008). Allorecognition mechanisms during ascidian fertilization. *Int. J. Dev. Biol.* 52 (5-6), 637-645. (査読あり)
- ④ Hirohashi, N., Kamei, N., Kubo, H., Sawada, H., Matsumoto, M., and Hoshi, M. (2008). Egg and sperm recognition systems during fertilization. *Dev. Growth Differ.* 50 (Suppl 1), S222-S238. (査読あり)
- ⑤ Urayama, S., Harada, Y., Nakagawa, Y., Ban, S., Akasaka, M., Kawasaki, N., and Sawada, H. (2008). Ascidian sperm glycosylphosphatidylinositol-anchored CRISP-like protein as a binding partner for an allorecognizable sperm receptor on the vitelline coat. *J. Biol. Chem.* 283 (31), 21725-21733. (査読あり)
- ⑥ 原田淑人、澤田 均 (2008). 雌雄同体の脊索動物であるホヤの自家不稔性のメカニズム. *細胞工学* 27 (9), 906-907 (査読なし)
- ⑦ Harada, Y., and Sawada, H. (2007). Proteins interacting with the ascidian vitelline-coat sperm receptor HrVC70 as revealed by yeast two-hybrid screening. *Mol. Reprod. Dev.* 74 (9), 1478-1487. (査読あり)
- ⑧ Yokota, N., and Sawada, H. (2007). Sperm proteasomes are responsible for the acrosome reaction and sperm penetration of the vitelline envelope during fertilization of the sea urchin *Pseudocentrotus depressus*. *Dev. Biol.* 308 (1), 222-231. (査読あり)
- ⑨ Yokota, N., and Sawada, H. (2007). Effects of proteasome inhibitors on fertilization of the sea urchin *Anthocidaris crassispina*. *Biol. Pharm. Bull.* 30 (7), 1332-1335. (査読あり)
- ⑩ Takagi Sawada, M., Tamura T., Mitani, Y., Kaya, M., Ito, G., Hashimoto, H., and Sawada, H. (2006). Participation of proteasome-associating complex PC500 in starfish oocyte maturation as revealed by monoclonal antibodies. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 349 (2), 694-700. (査読あり)

[学会発表] (計 16 件)

- ① 兵藤仁美、山下美鈴、河野菜摘子、康 宇鎮、兼城 歩、澤田 均、馬場 忠. マウス受精での精子プロテアソームの機能解析. 日本分子生物学会年会・日本生化学会大会・合同年会 (神戸、2008 年 12 月 9-12 日)
- ② 片岡陽平、澤田 均. マボヤプロテアソームの多型と細胞外ソーティング機構. 日本分子生物学会年会・日本生化学会大会・合同年会 (神戸、2008 年 12 月 9-12 日)
- ③ Hitoshi Sawada, Yohei Kataoka, Naoto Yokota. Extracellular roles of sperm proteasomes in deuterostome fertilization. Zomes-V (5TH International Symposium on the COP9 signalosome, Proteasome and eIF3) (横浜、2008 年 11 月 11-14 日)
- ④ 赤坂茉莉、原田淑人、澤田 均. マボヤ精子プロテアーゼ Acrosin と Spermisin の相互作用分子の探索. 日本動物学会 (福岡、2008 年 9 月 5-7 日)
- ⑤ 横田直人、原田淑人、澤田 均. カタユウレイボヤ精巣で発現しているユビキチン結合酵素 E2 の解析. 日本動物学会 (福岡、2008 年 9 月 5-7 日)
- ⑥ 齋藤貴子、山田力志、谷口寿章、原田淑人、澤田 均. カタユウレイボヤ卵黄膜のプロテオーム解析と自己非自己識別分子の同定. 日本動物学会 (福岡、2008 年 9 月 5-7 日)
- ⑦ 赤坂茉莉、中川洋子、原田淑人、澤田 均. マボヤの精子-卵相互作用に関する精子 GPI 結合型タンパク質 HrUrafin と精子プロテアーゼ HrSpermisin の相互作用に関する解析. 日本分子生物学会年会・日本生化学会大会・合同年会 (横浜、2007 年 12 月 11-14 日)
- ⑧ Hitoshi Sawada. Extracellular ubiquitin-proteasome system functioning as a vitelline-coat lysin in ascidians and sea urchins. Okazaki Biology Conference, OBC 6 on "Marine Biology" (岡崎・鳥羽、2007 年 12 月 2-8 日)
- ⑨ 齋藤貴子、山田力志、原田淑人、谷口寿章、澤田 均. LC/MS/MS 解析によるカタユウレイボヤ卵黄膜成分の同定. 日本動物学会 (弘前、2007 年 9 月 20-22 日)
- ⑩ 横田直人、澤田 均. ウニ精子先体胞中のプロテアソームは卵黄膜ライシンとして機能している. 日本動物学会 (弘前、2007 年 9 月 20-22 日)
- ⑪ 赤坂茉莉、原田淑人、澤田 均. ホヤ類の

受精における精子トリプシン様プロテアーゼの機能解析. 日本動物学会 (弘前、2007 年 9 月 20-22 日)

- ⑫ 原田淑人、高垣裕平、砂川昌彦、澤田 均. カタユウレイボヤの自家不和合性に関するアロ認識分子のポジショナルクローニング. 日本動物学会 (弘前、2007 年 9 月 20-22 日)
- ⑬ 澤田 均. 原索動物の受精における自己非自己認識の分子基盤. 日本生体防御学会学術総会 (福岡、2007 年 7 月 26-28 日)
- ⑭ Takako Saito, Yuhei Takagaki, Yoshito Harada, Hitoshi Sawada. Vitelline coat protein CiVC100 is closely related to self-sterility in the ascidian *Ciona intestinalis*. 4th Tunicate Meeting (Villefranche-sur-Mer (France), 2007 年 6 月 23-27 日).
- ⑮ Yoshito Harada, Yuhei Takagaki, Takako Saito, Masahiko Sunagawa, Hitoshi Sawada. Positional cloning of a gene for the allorecognition molecule during fertilization of *C. intestinalis*. 4th Tunicate Meeting Meeting (Villefranche-sur-Mer (France), 2007 年 6 月 23-27 日).
- ⑯ Hitoshi Sawada. Sperm GPI-anchored glycoprotein HrUrafin is a binding partner for an allorecognizable egg-coat sperm-receptor HrVC70 during fertilization of the ascidian *Halocynthia roretzi*. 4th Tunicate Meeting Meeting (Villefranche-sur-Mer (France), 2007 年 6 月 23-27 日).

[図書] (計 1 件)

- ① 澤田 均 (2006). 受精におけるプロテアソーム「精子学 (毛利秀雄・星元紀監修) pp.147-152. (東京大学出版会) (査読あり)

[その他]

研究代表者のホームページ:

<http://www.bio.nagoya-u.ac.jp/~SugashimaMBL/Marine.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

澤田 均 (SAWADA HITOSHI)
名古屋大学・大学院理学研究科・教授
研究者番号: 60158946

(2) 研究分担者

原田 淑人 (HARADA YOSHITO)
名古屋大学・大学院理学研究科・助教
研究者番号: 50362223