

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 13 日現在

機関番号：12501

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2010～2012

課題番号：22390033

研究課題名（和文）精子機能タンパク質発現のライブイメージングと不妊発症に関する細胞生物学的研究

研究課題名（英文）Cellular and molecular study on live imaging of expression of sperm functional proteins and its relation to infertility

研究代表者

年森 清隆（TOSHIMORI KIYOTAKA）

千葉大学・大学院医学研究院・教授

研究者番号：20094097

研究成果の概要（和文）：

Eqtn-EGFP-TGマウスとODF2-EGFP-TGマウスが完成し、授精過程の変化をライブイメージングした。超顕微鏡STEDを用いて、Eqtn-EGFP-TG精子の80-100nm程度の先体膜系を検出可能であることを世界で初めて撮影し、ライブセルイメージング応用の可能性が得られた。エクアトリンのスレオニン138から分岐する糖鎖が伸張するためには糖転移酵素Galnt3が関与することを発見した。球形頭部精子症を示す不妊患者精子のMN13分子配備状況を解析し、ヒト卵活性不全に至る機序を発表した。

研究成果の概要（英文）：

We have established Eqtn-EGFP-TG mouse and ODF2-EGFP-TG mouse lines, and tried to take live-image of the molecular change from the acrosome reaction throughout to egg activation. A whole cell imaging (80-100nm acrosomal membrane complex) of Eqtn-EGFP-TG sperm was obtained by new microscopy STED system without sectioning, which suggested a possibility of live cell imaging during fertilization. Galnt3 transferase is required for O-glycosylation of carbohydrate chain branching from threonine 138 of equatorin molecule. We clarified the distribution abnormality of egg activation related MN13 molecule in the infertile patient who have round-head sperm (globozoospermia), by comparing the expression with that of the model mouse GOPC-/- spermatozoa. Based on these analyses, we proposed the mechanism leading to egg activation failure in human sperm.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	10,900,000	3,270,000	14,170,000
2011年度	1,900,000	570,000	2,470,000
2012年度	2,000,000	600,000	2,600,000
総計	14,800,000	4,440,000	19,240,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・解剖学一般（含組織学・発生学）

キーワード：精子、受精、エクアトリン、ライブセルイメージング、遺伝子改変マウス

1. 研究開始当初の背景

受精現象については古くから国内外で無数の研究がなされ、多くの仮説が提唱された。先体反応や膜融合に関わるタンパク質の gene knockout (KO) や transgenic (TG)マウスを用いた研究から、これまでの仮説が成立し

ないことが明らかになり、受精の分子ストーリーは混沌としている。その中で現在、膜融合に関わるタンパク質は、遺伝子ノックアウトマウスで証明されているものは精子 Izumo1 と卵子 CD9 のみであるが、これらの分子のみでは全てを説明することができな

いことがわかっており、新たな観点からの解析が必要とされている。

2. 研究の目的

精子の機能分子は精子形成過程で精細胞の機能ドメインや膜に組み込まれた後、雄生殖管内で成熟し、雌生殖管内でさらに変化して先体反応/膜融合や卵活性の受精現象に関わる。本研究では精子機能タンパク質 (MN9/equatorin (Eqtn), Izumo1, CD9, PLC ζ , MN13, ODF2) の精子形成から受精過程における蛍光 timelapse imaging/三次元を含む可視化と微細構造の対比解析を進展させ、遺伝子改変マウスを用いて不妊発症のメカニズムを明らかにする。そして、最終的にはこれらの情報を臨床に還元することが目的である。

3. 研究の方法

1) 精子形成から受精過程における精子タンパク質の発現状況を、EGFP-TG マウスと間接蛍光抗体法による live cell imaging を行い、その結果と免疫電子顕微鏡法を含めた微細形態レベルに対応する分子ストーリーとして解析する。2) 精子機能に関連するタンパク質のそれぞれについて、生理学的、生化学的、分子遺伝学的、物理化学的あるいは薬理学的解析を行う。

4. 研究成果

Eqtn-EGFP-TG マウスと ODF2-EGFP-TG マウスが完成し、授精過程におけるライブイメージングを進めた。精子機能タンパク質の機能発現を解析する過程でCD9が精子にもあること (sperm CD9) を発見し、精巣内発現から先体反応過程そして膜融合過程に至るまでの現象をwild精子のみならず、CD9-GFP-TG+/+ および-/卵, CD9-GFP-TG精子およびwildを用いて明らかにした(Cell Tissue Res, 2010)。先体タンパク質エクアトリンについては、先体反応/膜融合から卵活性に至る分子変化の cascade を画像化し発表した (Reproduction, 2010, Cell Tissue Res, 2013)。エクアトリン138番アミノ酸スレオニンから分岐する糖鎖 (MN9抗体のエピトープとなっている部分) がO-グリコシレーションされて伸張するためには糖転移酵素Galnt3が関与していること、そしてその欠損マウスは乏精子症・無力精子症・奇形精子症になることを共同して明らかにした (Histochem and Cell Biol. 2013)。PLC ζ との関連で解析していたMN13分子については、球形頭部精子症を示す不妊症患者精子におけるMN13分子配備状況を解析した。その結果を球形頭部精子症モデルマウスであるGOPC-/マウスの精子と精巣におけるMN13分子配備不全に関わる解析結果と比較した。その結果からヒト授精過程における卵活性不全に至る機序を発表した (Hum Reprod, 2010)。

エクアトリンと共沈してくるタンパク質をLC-MS/MSと *in silico* で解析した結果、細胞骨格系タンパク質を含む候補があった。

Eqtn-EGFP-TG マウスが完成したため、その解析を進めた。ODF2-EGFP-TGマウスが完成しており、DF2についても解析を進めた。また、解析中に先体タンパク質であるMC121が精子鞭毛とヒト赤血球共通の抗原としてGalNAc β 1,3-linked paraglobosideをもつことを明らかにした (Biochem Biophys Res Commun, 2011)。

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 18 件)

- 1) **Ito C, Yamatoya K**, Yoshida K, Fujimura L, Hatano M, Miyado K, **Toshimori K**. Integration of the mouse sperm fertilization-related protein equatorin into the acrosome during spermatogenesis as revealed by super-resolution and immunoelectron microscopy. *Cell Tissue Res.* 2013. In press. doi: 10.1007/s00441-013-1650-y 査読有
- 2) Mizuno Y, Ninomiya Y, Nakachi Y, Iseki M, Iwasa H, Akita M, Tsukui T, Shimozawa N, **Ito C, Toshimori K**, Nishimura M, Hara H, Maeba R, Okazaki T, Alodaib AN, Amoudi MA, Jacob M, Alkuraya FS, Horai Y, Watanabe M, Motegi H, Wakana S, Noda T, Kurochkin IV, Mizuno Y, Schönbach C, Okazaki Y. Tysnd1 deficiency in mice interferes with the peroxisomal location of PTS2 enzymes, causing lipid metabolic abnormalities and male infertility. *PLoS genet.* 9(2): e1003286. 2013. doi: 10.1111/and.12030 査読有
- 3) Miyazaki T, Mori M, Yoshida CA, **Ito C, Yamatoya K**, Moriishi T, Kawai Y, Komori H, Kawane T, Izumi S, **Toshimori K**, Komori T. Galnt3 deficiency disrupts acrosome formation and leads to oligoasthenoteratozoospermia. *Histochem and Cell Biol.* 139(2): 339-354. 2013. doi: 10.1007/s00418-012-1031-3 査読有
- 4) Toyama Y, Chen C, **Yamatoya K, Maekawa M, Ito C, Toshimori K**. Unique structures of organelles observed in primary spermatocytes after micro-injection of protein solutions such as immunoglobulin into the lumen of the seminiferous tubules in mice and rats. *Andrologia.* 2012. In press. doi: 10.1371/journal.pgen.1003286 査読有
- 5) Sato Y, Goshō M, **Toshimori K**. Usefulness of statistics for establishing evidence-based reproductive medicine. *Reprod Med Biol.* 11(1): 49-58. 2012. Review doi: 10.1007/s12522-011-0106-5 査読有
- 6) **Toshimori K**. Dynamics of the mammalian sperm membrane modification leading to

- fertilization: a cytological study. *J Electron Microsc.* 60 Suppl 1: S31-42. 2011. Review doi: 10.1093/jmicro/dfr036. 査読有
- 7) Sato B, Katagiri YU, Miyado K, Okino N, Ito M, Akutsu H, Okita H, Umezawa A, Fujimoto J, **Toshimori K**, Kiyokawa N. 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. 2011. doi: 10.1186/1471-213X-11-22. 査読有
- 8) Takiguchi H, Murayama E, Kaneko T, Kurio H, **Toshimori K**, Iida H. Characterization and subcellular localization of Tektin 3 in rat spermatozoa. *Mol Reprod Dev.* 78(8):611-620. 2011. doi: 10.1002/mrd.21352. 査読有
- 9) **Yamatoya K**, **Ito C**, Araki M, Furuse R, **Toshimori K**. One-step collagenase method for zona pellucida removal in unfertilized egg: easy and gentle method for large-scale preparation. *Reprod Med Biol.* 10(2):97-103. 2011. doi: 10.1007/s12522-011-0075-8 査読有
- 10) Hattori H, Nakajo Y, **Ito C**, **Toyama Y**, **Toshimori K**, Kyono K. Birth of a healthy infant after intracytoplasmic sperm injection using pentoxifylline-activated sperm from a patient with Kartagener's syndrome. *Fertili Steril.* 95(7): 2431e9-e11. 2011. doi: 10.1016/j.fertnstert.2011.03.074. 査読有
- 11) Katagiri YU, Sato B, **Yamatoya K**, Taki T, Goto-Inoue N, Setou M, Okita H, Fujimoto J, **Ito C**, **Toshimori K**, Kiyokawa N. 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. 2011. doi: 10.1016/j.bbrc.2011.02.019. 査読有
- 12) **Maekawa M**, **Ito C**, Toyama Y, Suzuki-Toyota F, Fujita E, Momoi T, **Toshimori K**. Localization of RA175 (Cadml), 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. 2011. doi: 10.1111/j.1439-0272.2010.01049.x. 査読有
- 13) **伊藤千鶴**, 阿久津英憲, 京野廣一, 宇都宮隆史, **年森清隆** 良質精子の条件: 精子頭部扁平化および perinuclear theca 構成物質 MN13 と関連する卵活性化能 *産婦人科の実験* 59(12):2069-2075. 2010. 査読有
- 14) **Ito C**, **Yamatoya K**, Yoshida K, Kyono K, Yao R, Noda T, **Toshimori K**. Appearance of oocyte-activation related substance during spermatogenesis in mouse and human. *Hum Reprod.* 25(11):2734-2744.2010. doi: 10.1093/humrep/deq216. 査読有
- 15) Suzuki-Toyota F, **Ito C**, **Maekawa M**, **Toyama Y**, **Toshimori K**. Adhesion between the plasma membrane and the mitochondria in relation to migration of the cytoplasmic droplet during epididymal maturation in guinea pig spermatozoa. *Cell Tissue Res.* 341(3):429-440. 2010. doi: 10.1007/s00441-010-1012-6. 査読有
- 16) **Ito C**, **Yamatoya K**, Yoshida K, **Maekawa M**, Miyado K, **Toshimori K**. Tetraspanin family protein CD9 in the mouse sperm: unique localization, appearance, behavior and fate during fertilization. *Cell Tissue Res.* 340(3):583-594. 2010. doi: 10.1007/s00441-010-0967-7. 査読有
- 17) Yoshida K, **Ito C**, **Yamatoya K**, **Maekawa M**, Toyama Y, Suzuki-Toyota F, **Toshimori K**. A model of the acrosome reaction progression via the acrosomal membrane-anchored protein equatorin. *Reproduction.* 139(3): 533-544. 2010. doi: 10.1530/REP-09-0434. 査読有
- 18) Yano R, Matsuyama T, Kaneko T, Kurio H, Murayama E, **Toshimori K** Iida H. Bactericidal / permeability-increasing protein (BPI) is associated with the acrosome region of rodent epididymal spermatozoa. *J Androl.* 31(2):201-214. 2010. doi: 10.2164/jandrol.109.007880. 査読有
- [学会発表] (計 37 件)
- 1) **年森清隆**, **伊藤千鶴**, **大和屋健二**, 陳城, **前川真見子** EQT-EGFP transgenic mouse を用いた time laps imaging と微細構造の対比による先体膜タンパク質 equatorin の挙動解析 第 118 回日本解剖学会総会・全国学術集会 (ポスター) サンポート高松・かがわ国際会議場 (香川県) 2013 年 3 月 30 日
- 2) **伊藤千鶴**, **大和屋健二**, 陳城, **前川真見子**, **神村今日子**, **武藤透**, **年森清隆** 抗 equatorin 抗体はヒト先体マーカーとして有効である 第 118 回日本解剖学会総会・全国学術集会 (ポスター) サンポート高松・かがわ国際会議場 (香川県) 2013 年 3 月 30 日
- 3) **大和屋健二**, **伊藤千鶴**, 大澤光次郎, 陳城, **前川真見子**, 岩間厚志, 幡野雅彦, **年森清隆** 精子先体赤道部は、先体反応の過程で IZUMO1 の flip-flop による N 末端の露出の後、脆くなる 第 118 回日本解剖学会総会・全国学術集会 (ポスター) サンポート高松・かがわ国際会議場 (香川県) 2013 年 3 月 30 日
- 4) **Toshimori K**, **Ito C**. Correlation between sperm head morphology and oocyte activation ability. **The 63rd Congress of Korean Society for Reproductive Medicine (KSRM)**

2012. (Symposium) Seoul Women's University. Seoul (Korea) 2012.12.1.
- 5) **Toshimori K, Yamatoya K, Ito C.** Subcellular and molecular events during mouse acrosome reaction mediated by fertilization-related protein equatorin. **International Symposium on the Mechanisms of Sexual Reproduction in Animal and Plants. Joint Meeting of the 2nd Allo-authentication Meeting and the 5th Egg-Coat Meeting (MCBEEC).** (Symposium) Hotel Nagoya Garden Palace. Nagoya (Japan) 2012.11.12-16.
- 6) **Ito C, Yamatoya K, Toshimori K.** Equatorin (EQT) as a human sperm acrosome biomarker for the fertilization process. **International Symposium on the Mechanisms of Sexual Reproduction in Animal and Plants. Joint Meeting of the 2nd Allo-authentication Meeting and the 5th Egg-Coat Meeting (MCBEEC).** (Poster) Hotel Nagoya Garden Palace. Nagoya (Japan) 2012.11.12-16.
- 7) **Yamatoya K, Ito C, Osawa M, Chen C, Maekawa M, Iwama A, Hatano M, Toshimori K.** Categorization of acrosome reaction and isolation of those sperm for biochemical analyses. **International Symposium on the Mechanisms of Sexual Reproduction in Animal and Plants. Joint Meeting of the 2nd Allo-authentication Meeting and the 5th Egg-Coat Meeting (MCBEEC).** (Poster) Hotel Nagoya Garden Palace. Nagoya (Japan) 2012.11.12-16.
- 8) **年森清隆** 精子膜に起こる配偶子認識と融合に関する超微形態および分子レベルの解明 **新学術領域研究 動植物に共通するアロ認証機構の解明 第5回領域会議** 下田東急ホテル (静岡県) 2012年6月13日
- 9) **年森清隆** 生殖細胞の分化と受精/初期発生: 制御機構と不妊症治療への応用研究 **第88回千葉医学会学術大会(招待講演)** 千葉大学医学部附属病院 第一講堂 (千葉県) 2012年6月12日
- 10) **伊藤千鶴, 大和屋健二, 陳城, 前川眞見子, 年森清隆** B-1 Live cell/molecular imaging 先体膜タンパク質 Equatorin を指標したマウス先体形成の解析 Acrosomal biogenesis by tracking acrosomal membrane protein Equatorin in mice. **日本顕微鏡学会 第68回学術講演会(口演)** つくば国際会議場 (茨城県) 2012年5月14日
- 11) **大和屋健二, 伊藤千鶴, 陳城, 前川眞見子, 年森清隆** 初期の先体反応における精子の形態とタンパク質の解析 Analyses of morphology and proteins of sperm in early stage acrosome reaction. **日本顕微鏡学会 第68回学術講演会 (ポスター)** つくば国際会議場 (茨城県) 2012年5月14日
- 12) **Ito C, Yamatoya K, Toshimori K.** Unique integration of fertilization-related protein Equatorin (EQT) into the acrosomal membrane during spermatogenesis. **第117回日本解剖学会総会・全国学術集会 (Symposium)** 山梨大学甲府キャンパス、ベルクラシック甲府 (山梨県) 2012年3月28日
- 13) **Toshimori K, Ito C, Yamatoya K, Maekawa M, Toyama Y.** Fertilization analyzed by live imaging in the mouse. **第117回日本解剖学会総会・全国学術集会 (講演)** 山梨大学甲府キャンパス、ベルクラシック甲府 (山梨県) 2012年3月26日
- 14) **Yamatoya K, Ito C, Cheng C, Maekawa M, Toyama Y, Toshimori K.** Separation of early stage acrosome reacted sperm and analysis of the proteins. **第117回日本解剖学会総会・全国学術集会 (ポスター)** 山梨大学甲府キャンパス、ベルクラシック甲府 (山梨県) 2012年3月28日
- 15) 片桐洋子、佐藤伴、**大和屋健二**、井上菜穂子、**伊藤千鶴**、**年森清隆** GalNAc beta 1,3-linked paragloboside carries the epitope of a sperm maturation-related glycoprotein that is recognized by the monoclonal antibody MC121. **新学術領域研究 動植物に共通するアロ認証機構の解明 第4回領域会議 (ポスター)** 筑波大学総合研究棟 A (茨城県) 2012年1月11日
- 16) **伊藤千鶴, 大和屋健二, 年森清隆** 精子核周囲物質 MN13 と卵活性化能 **日本アンドロロジー学会 第30回学術大会 第17回精子形成・精巣毒性研究会 (シンポジウム)** 都市センターホテル コスモスホール (東京都) 2011年7月22日
- 17) **大和屋健二, 伊藤千鶴, 年森清隆** 先体反応開始まで先体を安定化させる膜タンパク質の解析 **日本アンドロロジー学会 第30回学術大会 第17回精子形成・精巣毒性研究会 (口演)** 都市センターホテル コスモスホール (東京都) 2011年7月22日
- 18) **大和屋健二, 伊藤千鶴, 年森清隆** 先体反応開始に関わる膜タンパク質の解析 **新学術領域研究 動植物に共通するアロ認証機構の解明 第3回領域会議(ポスター)** 関西セミナーハウス (京都府) 2011年6月30日
- 19) **Toshimori K, Ito C.** Role of the acrosome and perinuclear theca substances for sperm head formation. **The 67th Annual Meeting of the Japanese Society of Microscopy.** (Symposium) Fukuoka (Japan) 2011.5.16-18.
- 20) **Ito C, Yamatoya K, Yoshida K, Fujimura L,**

- Hatano M, Miyado K, Toshimori K. Analysis of fertilization-related protein Equatorin with transgenic mice. **The 67th Annual Meeting of the Japanese Society of Microscopy**. (Poster) Fukuoka (Japan) 2011.5.16-18.
- 21) Toshimori K, Ito C. Sperm acrosome superstructure analyzed by superresolution confocal laser scanning microscope. **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) 2011.3.28-30.
- 22) Ito C, Yamatoya K, Yoshida K, Hatano M, Miyado K, Toyama Y, Maekawa M, Chen C, Toshimori K. Integration mechanism of a fertilization-related protein equatorin into the acrosomal membrane using transgenic mice. **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) 2011.3.28-30.
- 23) Yamatoya K, Ito C, Chen C, Maekawa M, Toyama Y, Toshimori K. Analysis of acrosomal proteins during acrosome reaction progression. **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) 2011.3.28-30.
- 24) 伊藤千鶴、吉田恵一、大和屋健二、幡野雅彦、宮戸健二、年森清隆 トランスジェニックマウスを用いた先体膜タンパク質 equatorin の局在解析 **新学術領域研究 動植物に共通するアロ認証機構の解明 第2回領域会議**(ポスター) 下呂温泉 山形屋 (岐阜県) 2011年1月12日
- 25) 片桐洋子、佐藤伴、瀧孝雄、井上菜穂子、伊藤千鶴、大多喜肇、年森清隆、清河信敬 The epitope of monoclonal antibody MC121 recognizing mouse sperm maturation glycoprotein resides in a neolacto-series glycosphingolipid, GalNAc β 1-3-linked paragloboside. **第33回日本分子生物学会年会 第83回日本生化学学会大会合同大会** (ポスター) 神戸国際展示場 (兵庫県) 2010年12月9日
- 26) 大和屋健二、伊藤千鶴、年森清隆 マウスにおける大量透明帯裸化卵子のワンステップ調整法 **第55回日本生殖医学会総会 学術講演会** (ポスター) あわぎんホール (徳島県) 2010年11月12日
- 27) Toshimori K, Ito C, Yamatoya K. Sperm CD9; tetraspanin family protein CD9 expression in the testis and its fate during fertilization. **International Symposium on Morphological Sciences**. (Symposium) Taormina (Italy) 2010.9.20
- 28) Ito C, Yamatoya K, Toshimori K. Fertilization-related protein equatorin; unique integration into the acrosomal membrane during spermatogenesis and its failure in *GOPC* deficient mice. **International Symposium on Morphological Sciences**. (Symposium) Taormina (Italy) 2010.9.20
- 29) 年森清隆 哺乳動物の配偶子接着・融合における分子誘導における分子認証システム **新学術領域研究 動植物に共通するアロ認証機構の解明 第1回領域会議**(口演) 名古屋大学 野依記念学術交流館 (愛知県) 2010年7月15日
- 30) 伊藤千鶴、阿久津英憲、八尾良司、京野廣一、野田哲生、年森清隆 卵活性化能は精子頭部の扁平化と perinuclear theca 構成物質の存在に関連する **新学術領域研究 動植物に共通するアロ認証機構の解明 第1回領域会議** (ポスター) 名古屋大学 野依記念学術交流館 (愛知県) 2010年7月14日
- 31) Yamatoya K, Yoshida K, Ito C, Maekawa M, Yanagida M, Araki Y, Miyado K, Toyama Y, Suzuki-Toyota F, Toshimori K. Further characterization of acrosomal protein Equatorin: エクアトリンのシアル酸修飾 **新学術領域研究 動植物に共通するアロ認証機構の解明 第1回領域会議** (ポスター) 名古屋大学 野依記念学術交流館 (愛知県) 2010年7月14日
- 32) Yoshida K, Ito C, Yamatoya K, Maekawa M, Toyama Y, Suzuki-Toyota F, Miyado K, Toshimori K. Evaluation of the acrosome reaction progression via the acrosomal membrane anchored protein equatorin. **新学術領域研究 動植物に共通するアロ認証機構の解明 第1回領域会議** (ポスター) 名古屋大学 野依記念学術交流館 (愛知県) 2010年7月14日
- 33) Yoshida K, Ito C, Yamatoya K, Maekawa M, Toyama Y, Suzuki-Toyota F, Toshimori K. Evaluation of the acrosome reaction progression via the acrosomal membrane anchored protein equatorin. **11th International Symposium on Spermatology Okinawa 2010** (Poster). Okinawa convention center, Okinawa (Japan). 2010.6.27
- 34) Toshimori K, Ito C, Yamatoya K, Yoshida K, Maekawa M, Miyado K, Toyama Y. Tetraspanin family protein CD9 in the mouse sperm: unique localization, appearance, behavior and fate during fertilization. **11th International Symposium on Spermatology**

Okinawa 2010 (Poster). Okinawa convention center, Okinawa (Japan). 2010.6.25

35) **Ito C, Yamatoya K**, Yoshida K, Akutsu H, Yao R, Kyono K, Suzuki-Toyota F, Toyama Y, **Maekawa M**, Noda T, **Toshimori K**. Oocyte-activation ability correlates with presence of perinuclear theca substance MN13, whose organization is associated with acrosome formation. **11th International Symposium on Spermatology Okinawa 2010** (Poster). Okinawa convention center, Okinawa (Japan). 2010.6.25

36) **Yamatoya K**, Yoshida K, **Ito C, Maekawa M**, Yanagida M, Araki Y, Miyado K, Toyama Y, Suzuki-Toyota F, **Toshimori K**. Further characterization of acrosomal protein Equatorin. **11th International Symposium on Spermatology Okinawa 2010** (Poster). Okinawa convention center, Okinawa (Japan). 2010.6.25

37) Katagiri Y, Sato B, **Ito C, Toshimori K**, Kiyokawa N. The epitope of monoclonal antibody MC121 recognizing a sperm-maturation antigen, 54k sialoglycoprotein is carried by glycosphingolipids. **11th International Symposium on Spermatology Okinawa 2010** (Poster). Okinawa convention center, Okinawa (Japan). 2010.6.25

[図書] (計4件)

- 1) **年森清隆**, 川内博人 第2版 人体の正常構造と機能(縮刷版).VI.生殖器. 坂井建雄、河原克雄編、総ページ数: 904 ページ、2012年1月11日出版。日本医事新報社
- 2) **年森清隆**、**伊藤千鶴** 卵子学 第XVI章-73 卵子の受精能 受精障害の検出 779-787 京都大学学術出版会 2011年9月10日発行
- 3) **年森清隆**、**伊藤千鶴** 生命の誕生に向けて(第二版) -生殖補助医療(ART) 胚培養の理論と実際 V 受精の基礎と臨床 105-125 日本哺乳動物卵子学会編 近代出版 2011年3月1日発行
- 4) **年森清隆**、**伊藤千鶴**、内山安男、相磯貞和(監訳) Ross 組織学 (Histology. A text and atlas, with correlated cell and molecular biology. fifth edition.) 22章 男性生殖器系 728-771 (翻訳) 南江堂 2010年6月1日出版

[産業財産権]

○取得状況(計1件)

名称: 精子機能の検査方法

発明者: 年森清隆

権利者: 同上

種類: 特許

番号: 5092149号

取得年月日: 2012年9月28日

国内外の別: 国内

[その他]

(1)ホームページ

<http://www.m.chiba-u.ac.jp/class/devbiol/>

(2)報道関連情報

①新しい検査法に基づく精子の機能診断法、選別保存法の開発と生殖医療応用 2012年4月11日 産経新聞

②新しい精子の機能診断法、選別保存法の開発と生殖医療応用 千葉日報 2012年4月11日

③VB コンペ受賞者決定 日刊工業新聞 2012年4月11日

報道内容 URL

http://www.vbl.chiba-u.jp/public_relations/index.html

(3)受賞歴

①年森清隆 なのはなコンペ2012 ベンチャー志向先端研究部門 なのはな賞(教員版)受賞 2012年4月9日

②年森清隆 なのはなコンペ2012 ベンチャー志向先端研究部門 双葉電子記念財団助成金 ちばぎんひまわり賞受賞 2012年4月9日

6. 研究組織

(1)研究代表者

年森 清隆 (TOSHIMORI KIYOTAKA)

千葉大学・大学院医学研究院・教授

研究者番号: 20094097

(2)研究分担者

伊藤 千鶴 (ITO CHIZURU)

千葉大学・大学院医学研究院・講師

研究者番号: 80347054

(3)連携研究者

前川 眞見子 (MAEKAWA MAMIKO)

千葉大学・大学院医学研究院・助教

研究者番号: 20181571

大和屋 健二 (YAMATOYA KENJI)

千葉大学・大学院医学研究院・特任研究員

研究者番号: 80447309

(平成24年度より研究協力者)

神村 今日子 (KAMIMURA KYOKO)

千葉大学・大学院医学研究院・技術専門職員

研究者番号: 20422264

武藤 透 (MUTOH TOHRU)

千葉大学・大学院医学研究院・技術専門職員

研究者番号: 30422265