

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 29 年 6 月 13 日現在

機関番号：16401

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26292170

研究課題名(和文) 温度センサーチャンネル制御による生殖細胞と胚の低温/高温傷害の克服

研究課題名(英文) A trial to overcome the injury caused by chilling/heat stress in oocytes/embryos by controlling temperature-sensitive channel activities

研究代表者

枝重 圭祐 (EDASHIGE, Keisuke)

高知大学・教育研究部総合科学系・教授

研究者番号：30175228

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,700,000円

研究成果の概要(和文)：低温感受性TRPチャンネルがブタの卵子/胚の低温傷害に関与しているかどうかを調べた。ブタの卵子/胚では17℃以下を感知するCa<sup>2+</sup>チャンネルであるTRPA1のmRNAが発現しており、15℃で低温処理すると細胞内Ca<sup>2+</sup>濃度が上昇し、生存性は大きく低下した。TRPA1の特異的阻害剤であるAP-18で前処理すると、ブタ卵子の低温処理による細胞内Ca<sup>2+</sup>濃度の上昇と生存性の低下のいずれも強く抑制された。したがって、ブタの卵子/胚の低温傷害にはTRPA1が関与し、それを阻害することにより低温傷害が回避できることがわかった。本研究の成果はブタの卵子/胚の凍結保存法の開発に役立つと考えられる。

研究成果の概要(英文)：In this study, we examined whether a low-temperature sensitive transient receptor potential (TRP) channel was involved in the chilling injury of pig oocytes/embryos. The mRNA of TRPA1, which is sensitive to the temperature at lower than 17°C, was expressed in pig oocytes and embryos at various stages. Exposure of oocytes/embryos to 15°C for 15 min markedly decreased their viability. Exposure of oocytes to 15°C increased intracellular Ca<sup>2+</sup> immediately. The pretreatment of oocytes with AP-18, a specific inhibitor for TRPA1, suppressed the increase in their intracellular Ca<sup>2+</sup> and the decrease in their viability by the exposure to 15°C. These results indicate that TRPA1 is involved in the chilling injury of pig oocytes/embryos, and that the injury can be circumvented by suppressing TRPA1 activity. Our findings would be useful for developing a cryopreservation method for pig oocytes/embryos.

研究分野：家畜繁殖学

キーワード：低温傷害 TRPチャンネル ブタ卵子 ブタ胚 ウシ胚 高温傷害

## 1. 研究開始当初の背景

ブタの卵子/胚は低温に対する感受性が高く、凍結保存法は確立していない。その傷害メカニズムも不明である。卵子/胚では細胞内の脂肪顆粒が低温傷害に關与していることが知られている[1]。脂肪顆粒の除去や超急速ガラス化法の適用がブタの卵子/胚の凍結保存に一定の成果を上げているが、実用レベルに達していない。低温傷害を簡便に回避できれば、これらの細胞の凍結保存が実用化できると考えられる。また、近年気温上昇により国内でも暑熱によるウシの繁殖障害が多発し、畜産経営に悪影響を与えている。暑熱による繁殖障害の原因の一つは、体温上昇による初期胚の高温傷害が考えられる。しかし、牛舎全体の冷却は経営上困難である。産業レベルで低温/高温による傷害を回避するためには、新たなアプローチが必要である。

耐凍性が低いブタの卵子/胚は 15 以下の低温に数分間暴露されると数時間以内に死滅する。細胞分裂に關わる紡錘体の異常による傷害としては速過ぎ、相分離による細胞膜のバリアー能低下で死滅するには遅過ぎる。申請者は、この傷害にはこのような従来考えられてきたメカニズムとは異なる、未知の生理的プロセスが關与していると考えた。

生物は、外界の変化を即座にキャッチするセンサーを發達させてきた。温度感受性 Transient Receptor Potential チャンネル(以下 TRP)もそのひとつで、温度を感知して細胞内に  $Ca^{2+}$ 等の陽イオンを流入させ、神経細胞を活性化させる[2]。温度を感受する TRP には、それぞれ守備範囲とする温度域がある[3]。TRPA1 は 17 以下で活性化し、TRPM8 は 25 ~ 26 で活性化する。TRPV1 は 43 以上で作動する。TRPV3、TRPV4、TRPM2、TRPM4、TRPM5 は体温付近で作動する。

Mattioli らは、ブタ卵子を 15 で数分間処理すると細胞内  $Ca^{2+}$ の上昇とアポトーシスが誘起され、その原因はリアノジン受容体を介した小胞体からの  $Ca^{2+}$ の放出であることを示唆した[4]。細胞膜上の TRP は小胞体上のリアノジン受容体と物理的に結合し、 $Ca^{2+}$ シグナルを制御することが知られている。もし、この温度センサーチャンネルの活性化が細胞内情報伝達の最も上流に位置するならば、このチャンネルを制御することによって、ブタにおいては脂肪顆粒の除去や超急速ガラス化法を必要としない、新しい凍結保存法につながると考えられる。また、ウシ胚に應用すれば暑熱による繁殖障害を軽減できると考えられる。

## 2. 研究の目的

本研究は、ブタの卵子/胚の低温傷害とウシの高温による繁殖障害に温度感受性 TRP チ

ャンネルが關与しているかどうか、さらに TRP チャンネルの機能を制御することによって、ブタの卵子/胚の低温傷害を軽減できるかどうかを明らかにすることを目的とした。

## 3. 研究の方法

### (1)ブタ/ウシの卵子/胚とウシ子宮内膜における温度感受性 TRP チャンネルの発現

ブタ/ウシの卵子/胚における温度感受性 TRP チャンネルの mRNA の発現の有無をしらべ、さらにそれらが  $Ca^{2+}$ チャンネルとして機能が検出できるほど豊富に発現しているかどうかをしらべた。すなわち、ブタとウシの TRP チャンネルの cDNA 配列を基に作製したプライマーを用いて、ブタ/ウシ卵子、体外受精で作製したブタ/ウシ胚の cDNA をテンプレートとしてリアルタイム PCR を行い、mRNA の発現をしらべた。次に、ブタ卵子では  $Ca^{2+}$ 蛍光指示薬である fluo-4 を注入し、37 から 25 または 15 まで急速に冷却して、細胞内  $Ca^{2+}$ 濃度が上昇するかどうかをしらべた。ウシでは子宮上皮細胞と間質細胞を採取し、温度感受性 TRP チャンネルの mRNA の発現をしらべ、さらにこれらの細胞を  $Ca^{2+}$ 蛍光指示薬である fluo-8 とインキュベーションして取り込ませ、TRPV1 のアゴニストであるカプサイシンで処理し、細胞内  $Ca^{2+}$ 濃度が上昇するかどうかをしらべた。

### (2)温度感受性 TRP チャンネルのブタの卵子/胚の低温感受への關与

低温感受性の TRPA1 の double stranded (ds)RNA をブタ卵核胞期卵子(未成熟卵子)に注入し、12 時間培養して成熟途上卵子を、48 時間培養して極体を放出した成熟卵子を作製した。そして、一部の卵子に fluo-4 を注入し、37 から 15 まで急速に冷却して細胞内  $Ca^{2+}$ 濃度が上昇するかどうかをしらべ、TRPA1 の発現が抑制されているかどうかを確認した。それから、残りの卵子を 37 から 15 まで急速冷却して 15 分間保持(低温処理)し、成熟途上卵子では 36 時間培養して生存率と成熟率をしらべた、成熟卵子では 24 時間培養して生存率をしらべた。また、一部の試験では TRPA1 の特異的阻害剤である AP-18 でブタ卵子を前処理してから同様に低温処理し、培養後の生存率や成熟率をしらべた。体外受精由来のブタ胚では、前核期卵に TRPA1 の dsRNA を注入して培養し、2 細胞期に発生した胚を上記と同様に低温処理し、さらに培養して生存率と胚盤胞への発生率をしらべた。

## 4. 研究成果

### (1)ブタの卵子/胚における低温感受性 TRP チャンネルの発現

ブタ未成熟卵子では、17 以下を感知する TRPA1 の mRNA が発現していた。成熟途上卵子と成熟卵子でも同様に発現していた。27 以下を感知する TRPM8 は成熟卵子で発現していた。胚では、いずれの発生段階でも TRPA1 と TRPM8 のいずれの mRNA も発現していた。

ブタの未成熟卵子、成熟途上卵子および成熟卵子のいずれも 15 で低温処理を行うと、低温処理開始約 2 分後に細胞内  $Ca^{2+}$  濃度が上昇した。しかし、25 で低温処理しても明瞭な細胞内  $Ca^{2+}$  濃度の上昇は見られなかった。

ブタの卵子を 15 で低温処理するといずれの成熟段階でも生存率が低下した。未成熟卵子と成熟途上卵子ではほとんど成熟しなかった。また、ブタ 2 細胞期胚を 15 で低温処理すると生存率が大きく低下し、胚盤胞まで発育する胚はなかった。

以上の結果から、ブタの卵子/胚では、いずれの発育段階でも TRPA1 が十分に発現していると考えられた。一方、TRPM8 はいずれの成熟段階の卵子でもあまり発現していないと考えられた。

## (2) ブタの卵子/胚の低温傷害における

### TRPA1 の直接的に関与

TRPA1 の dsRNA を注入して作製した成熟途上卵子を 15 で低温処理した場合、注入しなかった卵子と比べて生存率と成熟率のいずれも有意に向上した。dsRNA を注入して作製した成熟卵子を低温処理した場合も生存率が有意に向上した。TRPA1 の dsRNA を注入したブタ前核期卵子を発生培養して作製した 2 細胞期胚を 15 で低温処理した場合も、注入しなかった胚と比べて生存率と胚盤胞への発生率が大きく向上した。したがって、ブタの卵子/胚の低温傷害に TRPA1 が直接関与していることがわかった。

## (3) ブタ卵子の低温傷害の回避

ブタの未成熟卵子、成熟途上卵子および成熟卵子を TRPA1 の特異的阻害剤である AP-18 で前処理し、15 で低温処理して培養した。未成熟卵子と成熟途上卵子のいずれも前処理しなかった卵子と比べて生存率と成熟率のいずれも大きく向上した。また成熟卵子の場合も生存率が有意に向上した。したがって、ブタ卵子の低温傷害は、TRPA1 の阻害剤で回避できることがわかった。またブタ胚でも低温傷害を回避可能だと考えられる。

## (4) ウシの卵子/胚と子宮における温度感受性 TRP チャンネル

ウシの成熟卵子と初期胚では、体温付近で作動する TRP チャンネルの mRNA が検出されたが、高温を感知する TRPV1 のようなチャンネルの mRNA は検出されなかった。また、ウ

シ胚盤胞を 43 で高温処理しても傷害は見られなかった。したがって、ウシの高温による繁殖障害にはウシ胚で発現する温度感受性 TRP チャンネルは関与していないと考えられた。

培養ウシ子宮間質細胞に Fluo-8 を取り込ませて TRPV1 を活性化するカプサイシンで処理すると、細胞内  $Ca^{2+}$  が上昇した。一方、培養ウシ子宮上皮細胞では上昇しなかった。したがって、ウシの体温上昇は子宮内環境の変化を引き起こす可能性があると考えられた。

## (5) まとめ

ブタの卵子/胚では低温傷害に TRPA1 が直接関与しており、その傷害は TRPA1 の阻害剤で回避できることがわかった。この知見は今後のブタの卵子/胚の凍結保存法の開発に役立つと考えられる。一方、ウシの高温による繁殖障害には胚で発現している温度感受性 TRP チャンネルは関与していないと考えられた。しかし、ウシの体温上昇が高温感受性 TRP チャンネルを介した子宮内環境の変化を引き起こしている可能性があると考えられた。

## <引用文献>

- H. Nagashima, et al. Cryopreservation of porcine embryos. *Nature*, 374, 416, 1995.
- D.E. Clapham. Hot and cold TRP ion channels. *Science*, 295, 2228-2229, 2002.
- S. Ramsey, et al. An introduction to TRP channels. *Annu. Rev. Physiol.*, 68, 619-647, 2006.
- M. Mattioli et al. Cold-induced calcium elevation triggers DNA fragmentation in immature pig oocytes. *Mol. Reprod. Dev.*, 65, 589-297, 2003.

## 5. 主な発表論文等

### 〔雑誌論文〕(計 16 件)

- K. Edashige. The movement of water and cryoprotectants across the plasma membrane of mammalian oocytes and embryos and its relevance to vitrification. *J. Reprod. Dev.*, 262, 317-321, 2016. 査読有. Doi: 10.1262/jrd.2016-048
- T. Takahashi, K. Sasaki, T. Somfai, T. Nagai, N. Manabe, K. Edashige. N, N-Dimethylglycine decreases oxidative stress and improves *in vitro* development of bovine embryos. *J. Reprod. Dev.*, 62, 209-212, 2016. 査読有. Doi: 10.1262/jrd.2015-149

- A. Shinohara, E. Uchida, H. Shichijo, S. H. Sakamoto, T. Morita, C. Koshimoto. Microbial diversity in forestomach and caecum contents of the greater long-tailed hamster *Tscherskia triton* (Rodentia: Cricetidae). *Mamal. Biol.*, 81, 46-52, 2016. 査読有. Doi: 10.1016/j.mambio.2014.10.007
- S.H. Sakamoto, S.N. Suzuki, C. Koshimoto, Y. Okubo, T. Eto, R.O. Suzuki. Trap distance affects the efficiency and robustness in monitoring the abundance and composition of forest-floor rodents. *J. Forest. Res.*, 20, 151-159, 2015. 査読有. Doi: 10.1007/s10310-014-0447-0
- S. Sugawara, T. Ito, S. Sato, Y. Sato, A. Sasaki, T. Fukuda, K. Yamanaka, M. Sakatani, M. Takahashi, M. Kobayashi. Generation of aminoterminally truncated, stable types of bioactive bovine and porcine fibroblast growth factor 4 in *Escherichia coli*. *Biotechnol. Appl. Biochem.*, 62, 164-172, 2015. 査読有. Doi: 10.1002/bab.1251
- M. Sakatani, K. Yamanaka, A.Z. Balboula, N. Takenouchi, M. Takahashi. Heat stress during in vitro fertilization decreases fertilization success by disrupting anti-polyspermy systems of the oocytes. *Mol. Reprod. Dev.*, 82 36-47, 2015. 査読有. Doi: 10.1002/mrd.22441
- T. Eto, R. Hayashi, Y. Okubo, A. Kashimura, C. Koshimoto, S.H. Sakamoto, T. Morita. Magnitude of food overabundance affects expression of daily torpor. *Physiol. Behav.*, 139, 519-523, 2015. 査読有. Doi: 10.1016/j.physbeh.2014.12.007
- C. Maneewan, A. Mekbungwan, K. Yamauchi, K. Edashige. Assessment of mixed minerals by observing intestinal epithelial cell alterations in piglets. *Am. J. Anim. Sci. Vet. Sci.*, 9, 137-143, 2014. 査読有. Doi: 10.3844/ajavsp.2014.137.143
- K. Nishijima, S. Yamaguchi, M. Tanaka, Y. Sakai, C. Koshimoto, M. Morimoto, T. Watanabe, J. Fan, S. Kitajima. Effects of cholesterol-loaded cyclodextrins on the rate and the quality of motility in frozen and thawed rabbit sperm. *Exp. Anim.*, 63, 149-154, 2014. 査読有. Doi: 10.1538/expanim.63.149
- A. Shinohara, S. Kawada, N.T. Son, C. Kohimoto, H. Endo, D.N. Can, H. Suzuki. Molecular phylogeny of east and southeast asian fossorial moles (*Eulipotyphla, Talpidae*). *J. Mamalogy*, 95, 455-466, 2014. 査読有. Doi: 10.1644/13-mamm-a-135
- T. Eto, S.H. Sakamoto, Y. Okubo, C. Koshimoto, A. Kashimura, T. Morita. Huddling facilitates expression of daily torpor in the large Japanese field mouse *Apodemus speciosus*. *Physiol. Behav.*, 133, 22-29, 2014. 査読有. Doi: 10.1016/j.physbeh.2014.04.051
- K. Nishijima, M. Tanaka, Y. Sakai, C. Koshimoto, M. Morimoto, T. Watanabe, J. Fan, S. Kitajima. Effects of type III antifreeze protein on sperm and embryo cryopreservation in rabbit. *Cryobiology*, 69, 22-25, 2014. 査読有. Doi: 10.1016/j.cryobiol.2014.04.014
- K. Yamagami, N. Yamauchi, K. Kubota, S. Nishimura, V.S. Chowdhury, K. Yamanaka, M. Takahashi, S. Tabata, M.A. Hattori. Expression and regulation of Foxa2 in the rat uterus during early pregnancy. *J. Reprod. Dev.*, 60, 468-475, 2014. 査読有. Doi: 10.1262/jrd.2014-086
- K. Kozai, T. Hojo, S. Tokuyama, A.Z. Szostek, M. Takahashi, M. Sakatani, Y. Nambo, D.J. Skarzynski, K. Okuda. Expression of aldo-keto reductase 1C23 in the equine corpus luteum in different luteal phases. *J. Reprod. Dev.*, 60, 150-154, 2014. 査読有. Doi: 10.1262/jrd.2013-120
- H. Takahashi, M. Tsunazaki, T. Hamano, M. Takahashi, K. Okuda, S. Inumaru, A. Okano, M. Geshi, M. Hirako. Biological Activity of recombinant bovine interferon produced by a silkworm-baculovirus gene expression system. *J. Vet. Med. Sci.*, 76, 447-451, 2014. 査読有. Doi: 10.1292/jvms.12-0403
- S. Akagi, K. Matsukawa, S. Takahashi. Factors affecting the development of somatic cell nuclear transfer embryos in cattle. *J. Reprod. Dev.*, 60, 329-335, 2014. 査読有. Doi: 10.1262/jrd.2014-057

〔学会発表〕(計 19 件)

岩原悠樹, 横堀誠也, 倍味那々子, 本田宙, 越本知大, 松川和嗣, 葛西孫三郎, 枝重圭祐. 平衡ガラス化法によるマウス

卵巣の凍結保存のこころみ. 第 109 回日本繁殖生物学会大会. 2016 年 9 月 11 日~15 日. 麻布大学 8 号館 (神奈川県相模原市中央区)

田村慎之介, 細川真実, 河野葵, 枝重圭祐, 松川和嗣. L-アスコルビン酸 2 リン酸の培地への添加がウシ体外受精胚の割球分離後の発生に及ぼす影響. 第 109 回日本繁殖生物学会大会. 2016 年 9 月 11 日~15 日. 麻布大学 8 号館 (神奈川県相模原市中央区)

T. Shirozu, T. Suzuki, H. Iwano, T. Ogiso, H. Bai, M. Kawahara, K. Kimura, M. Takahashi. The effect of knock down of IFNAR by RNAi on expression of interferon- induced genes in bovine endometrial epithelial cells. The 17th Asian-Australian Association of Animal Production Societies Animal Science Congress, Kyushu Sangyo University, Higashi-ku, Fukuoka, August 22-25, 2016.

M. Takahashi. Role of cysteine protease on the quality and developmental competence of bovine oocyte. The 17th Asian-Australian Association of Animal Production Societies Animal Science Congress, Kyushu Sangyo University, Higashi-ku, Fukuoka, August 22-25, 2016.

K. Edashige, Y. Iwahara, S. Nariai, Y. Nishiya, M. Kitayama, S. Niimi, S. Seki, C. Koshimoto, K. Matsukawa, M. Kasai. Cold-sensitive ion channels are involved in chilling injury of pig oocytes. 53rd Annual Meeting of the Society for Cryobiology, Fairmont Chateau Laurier, Ottawa, Canada, July 23-27, 2016.

K. Edashige. Equilibrium vitrification, a new novel cryopreservation method. 第 42 回日本低温医学会総会. 2015 年 11 月 26 日~27 日. ホテル日航金沢 金沢アートホール (石川県金沢市)

枝重圭祐. 卵子および胚の低温生物学的特性とガラス化凍結保存に関する研究. 第 108 回日本繁殖生物学会大会. 2015 年 9 月 17 日~20 日. 宮崎大学木花キャンパス (宮崎県宮崎市)

福嶋和貴, 近藤詩織, 平川猛, 岩原悠樹, 横堀誠也, 越本知大, 松川和嗣, 葛西孫三郎, 枝重圭祐. 平衡ガラス化法によるマウス卵子の凍結保存の試み. 第 108 回日本繁殖生物学会大会. 2015 年 9 月 17 日~20 日. 宮崎大学木花キャンパス (宮崎県宮崎市)

岩原悠樹, 北山みずほ, 新見沙織, 福嶋和貴, 横堀誠也, 越本知大, 松川和嗣, 葛西孫三郎, 枝重圭祐. 温度感受性 TRP チャンネルの哺乳動物卵子における低温傷害への関与. 第 108 回日本繁殖生物学会大会. 2015 年 9 月 17 日~20 日. 宮崎大学木花キャンパス (宮崎県宮崎市)

岩野弘暉, 小木曾貴季, 白水貴大, 川原学, 枝重圭祐, 高橋昌志. 発情周期別ウシ子宮内膜における TRP チャンネルの発現動態. 日本畜産学会第 120 回大会. 2015 年 9 月 11 日~12 日. 酪農学園大学 (北海道江別市)

細川真美, 竹中由布, 枝重圭祐, 松川和嗣. アスコルビン酸 2 リン酸は暑熱ストレスに暴露されたウシ体外受精胚の作出率を改善する. 日本畜産学会第 120 回大会. 2015 年 9 月 11 日~12 日. 酪農学園大学 (北海道江別市)

田村慎之介, 小西裕子, 枝重圭祐, 赤木悟史, 松川和嗣. 長期保存フリーズドライ体細胞を用いたウシ核移植胚の作出. 日本畜産学会第 120 回大会. 2015 年 9 月 11 日~12 日. 酪農学園大学 (北海道江別市)

枝重圭祐. ガラス化凍結保存後の胚の生存性に関わる要因. 第 22 回日本胚移植研究会. 2015 年 8 月 27 日~28 日. 高知大学物部キャンパス (高知県南国市)

枝重圭祐. 平衡ガラス化法による受精卵の凍結保存. 第 60 回低温生物工学会大会. 2015 年 5 月 30 日~31 日. 東京工科大学八王子キャンパス (東京都八王子市)

枝重圭祐. 哺乳動物胚の細胞膜透過性 - 凍結保存における重要性 -. 第 60 回日本生殖医学会学術講演会. 2015 年 4 月 26 日~29 日. パシフィコ横浜 (神奈川県横浜市)

新見沙織, 北山みずほ, 菊地和弘, 越本知大, 松川和嗣, 葛西孫三郎, 枝重圭祐. 温度感受性 TRP チャンネルのブタ胚における低温傷害への関与. 第 107 回日本繁殖生物学会大会. 2014 年 8 月 21 日~24 日. 帯広畜産大学 (北海道帯広市)

尾崎耕, 郡七海, 竹中由布, 枝重圭祐, 葛西孫三郎, 松川和嗣. 凍結乾燥したウシ線維芽細胞の特性および核移植後の発生能. 第 107 回日本繁殖生物学会大会. 2014 年 8 月 21 日~24 日. 帯広畜産大学 (北海道帯広市)

枝重圭祐. 哺乳動物胚の凍結保存. ワークショップ 1: 配偶子・胚凍結保存技術の最前線のこれから. 第 32 回日本受精着床学会総会. 2014 年 7 月 31 日~8 月 1 日. ハイアットリージェンシー東京 (東京都新宿区)

K. Edashige, M. Hamasaki, M. Takeshita, M. Kitayama, T. Hirakawa, C. Koshimoto, K. Matsukawa, M. Kasai. A trial to improve the tolerance to cryo-preservation of zebrafish oocytes by enhancing the expression of aquaporin 3. SSR 2017, Annual Meeting of Society for the Study of Reproduction, DeVos Place, Grand Rapids, Michigan, USA, July 19-23, 2014.

〔図書〕(計4件)

枝重圭祐. 凍結理論, 生殖補助医療 (ART)胚培養の理論と実際, 生殖細胞の保存 (第8章), 日本卵子学会編, 近代出版, 2017, 8

越本知大. 実験動物としてのアカネズミ-新しい研究資源としての可能性, 日本のネズミ 多様性と進化 (第7章), 本川雅治編, 東京大学出版, 2016, 18

K. Edashige, M. Kasai. The movement of water and cryoprotectants in mammalian oocytes and embryos: Membrane permeability and aquaporins. In "Vitrification in assisted reproduction, 2nd Edition, (M.J. Tucker, J. Liebermann. eds.)" CRC Press, Boca Raton, 2015, 8

S. Akagi, K. Matsukawa, C.A. Onishi. Nuclear transfer technology in cattle, sheep, and swine. In "Transgenic Animal Technology, 3rd Edition, (C.A. Pinkert)", Elsevier, 2014. 12

6. 研究組織

(1)研究代表者

枝重 圭祐 (EDASHIGE Keisuke)  
高知大学・教育研究部総合科学系・教授  
研究者番号：3 0 1 7 5 2 2 8

(2)研究分担者

高橋 昌志 (TAKAHASHI Masashi)  
北海道大学・大学院農学院・教授  
研究者番号：1 0 3 4 3 9 6 4

越本 知大 (KOSHIMOTO Chihiro)  
宮崎大学・フロンティア科学実験総合センター・教授  
研究者番号：7 0 2 9 5 2 1 0

松川 和嗣 (MATSUKAWA Kazutsugu)  
高知大学・教育研究部総合科学系・准教授  
研究者番号：0 0 5 3 2 1 6 0