

マウス精子表面のレクチン結合の組織化学的観察

大輪真司¹・新村末雄^{2*}

(平成22年3月1日受付)

要 約

各種時間培養したマウス精子を用いて体外受精を行い、精子の受精能保有時間を調べるとともに、精巣上体の頭部、体部および尾部のマウス精子ならびに精巣上体尾部より採取して各種時間培養したマウス精子について、パーオキシターゼを標識した各種レクチンを用いてそれらの結合能を組織化学的に観察し、精巣上体の移動ならびに受精能の獲得と消失に伴うマウス精子表面の複合糖質の変化を検討した。

受精率は、培養後1時間の精子を用いた場合には92.6%であったが、培養時間の経過に伴って有意に低下し、培養後6および12時間の精子を用いた場合には29.3および0%になった。このことから、精巣上体尾部より採取したマウス精子の受精能は、培養1時間以降低下し、培養後12時間では完全に消失することが考えられた。

精巣上体頭部より採取した精子において、*Dolichos biflorus* agglutinin (DBA) の結合はみられなかったが、先体帽表面には *Griffonia simplicifolia* agglutinin I (GS-I)、*Ulex europaeus* agglutinin I (UEA-I) および *Bauhinia purpurea* agglutinin (BPA) の結合が、先体帽と赤道部の表面には *Griffonia simplicifolia* agglutinin II (GS-II)、*Triticum vulgare* agglutinin (WGA)、*Canavalia ensiformis* agglutinin (Con A)、*Glycine max* agglutinin (SBA) および *Arachis hypogaea* agglutinin (PNA) の結合がそれぞれみられた。精巣上体の尾部に移動する過程で、先体帽表面には DBA の結合が、赤道部表面には GS-I と UEA-I の結合が、先体後領域の表面には DBA、SBA と PNA の結合がそれぞれ出現したが、SBA の結合は赤道部の表面からは消失した。一方、培養後0.5および1時間の精子において、先体帽表面からは DBA の結合が、赤道部表面からは GS-I、UEA-I および Con A の結合が、先体後領域の表面からは PNA の結合がそれぞれ消失し、先体後領域の表面には Con A の結合が出現した。また、培養後6および12時間の精子において、先体帽表面からは UEA-I および BPA の結合が、赤道部表面からは GS-II と WGA の結合が、先体後領域の表面からは Con A の結合がそれぞれ消失し、赤道部表面には Con A の結合が出現した。

新大農研報, 63(1):1-7, 2010

キーワード：マウス精子、受精能、レクチン結合、細胞表面の複合糖質

哺乳動物の精子は、射精後一定時間は受精能力を保有しているが、それ以降受精能は漸次低下することが知られている (Marcus と Arthur, 1960; Bishop, 1969; Blandau, 1969)。マウス精子の受精能保有時間は、射精後6時間であると報告されているが (Marcus と Arthur, 1960; Bishop, 1969; Blandau, 1969)、これらの報告はすべて雌性生殖道内で受精能保有時間を調べたもので、これまでに *in vitro* での受精能保有時間を調べた報告はみられない。

一方、マウス精子表面の複合糖質が各種レクチンを用いて検出されている (Lee ら, 1987; Liu ら, 1991; Kawakami ら, 2002; Baker ら, 2004)。すなわち、精巣上体を移動中の精子では、N-アセチルグルコサミンおよびN-アセチルノイラミン酸を含む複合糖質が先体帽表面で増加すること、また、受精能獲得後の精子では、N-アセチルグルコサミンを含む複合糖質が先体帽表面に、フコースを含む複合糖質が赤道部表面に、それぞれ出現するとともに、フコースを含む複合糖質が先体帽および先体後領域の表面から、マンノースとグルコースを含む複合糖質が赤道部表面から、N-アセチルグルコサミンを含む複合糖質が先体後領域の表面から、それぞれ消失することが調べられている (Liu ら, 1991; Kawakami ら, 2002; Baker ら, 2004)。また、射出直後の精子では、頭部の表面全体にはフコースを含む複合糖質が、先体帽および先体後領域の表面にはN-アセチルガラクトサミンおよびマンノースを含む複合糖質が、先体帽表面にはガラクトースを含む複合糖質がそれぞれ存在している

が、これらの複合糖質は、*in vitro* での受精能の獲得に伴う変化は示さなかったといわれている (Lee ら, 1987)。このように、精巣上体の移動および受精能の獲得に伴う精子表面の複合糖質の変化は調べられているが、受精能の消失に伴う精子表面の複合糖質の変化はこれまでに調べられていない。さらに、精巣上体の移動ならびに受精能の獲得と消失に伴う精子表面の複合糖質の変化を同一研究者が調べた報告はこれまでにみられない。

本研究は、精巣上体尾部より採取して各種時間培養したマウス精子を用いて媒精し、*in vitro* における精子の受精能保有時間を確かめるとともに、精巣上体の各部位から採取した精子ならびに精巣上体尾部より採取して各種時間培養した精子について、パーオキシターゼを標識した各種レクチンを用いてそれらの結合能を組織化学的に観察し、精巣上体の移動ならびに受精能の獲得と消失に伴う精子表面の複合糖質の変化を観察したものである。

材料および方法

体外受精

供試動物として、8ないし10週齢のICR系の成熟マウスを使用した。マウスの飼育は24℃に調節した室内で行い、点灯は午前4時から午後6時までの14時間とした。これらの雌マウスに、PMSG (ピーメックス, 三共エール薬品) とhCG (ゴナトロピン, 帝国臓器) それぞれ5単位を48時間間隔で腹

¹ 新潟大学大学院自然科学研究科

² 新潟大学農学部

*代表著者: niimura@agr.niigata-u.ac.jp

腔内に注射して過排卵を誘起した。マウスにおいて、排卵はhCG注射後13時間に起こることが知られているので (Gate, 1971)、本研究の卵子の時間は排卵後の時間に換算して記載した。

一方精子は、雄マウスの精巣上体尾部より採取し、精子濃度が 5.0×10^5 個/ml になるように TYH 液 (豊田ら, 1971) で希釈した。これらの精子は、37℃で CO₂ 5%、空気 95% の気相下で 1、6 および 12 時間培養した。一方、未受精卵子は雌マウスの卵管膨大部から排卵後 2 時間に採取した。体外受精は、各種時間培養した上記濃度の精子懸濁液 100 μ l のドロップに未受精卵子を移し、37℃で CO₂ 5%、空気 95% の気相下で 6 時間培養して行った。

媒精後に卵子を顕微鏡下で観察し、細胞質に 2 個の前核がみられるものを単精子受精卵子、前核が 3 個以上みられるものを多精子受精卵子と判定した。

精子表面のレクチン結合の観察

精巣上体の移動に伴うマウス精子表面のレクチン結合の変化を観察するために、雄マウスから精巣上体を採取した。採取した精巣上体を、頭部、体部および尾部に分割し、それぞれ TYH 液中で切開して精子を取り出した。この精子懸濁液を、800 \times g で 5 分間遠心分離し、精子を洗浄するとともに、最終精子濃度が 1.0×10^7 個/ml になるように TYH 液で希釈した。次いで、この精子懸濁液をスライドガラスに塗抹し、室温で乾燥後、ブアン液に固定した。

一方、培養時間の経過に伴う精子表面のレクチン結合の変化を観察するために、精巣上体尾部から取り出した精子を TYH 液に懸濁し、最終濃度が 1.0×10^7 個/ml になるように TYH 液で希釈した。この精子懸濁液を、37℃で CO₂ 5%、空気 95% の気相下で、0.5、1.0、6.0 および 12.0 時間それぞれ培養した。培養後、精子懸濁液をスライドガラスに塗抹し、室温で乾燥後、ブアン液に固定した。

レクチン結合の観察は、これらの塗抹精子について、パーオキシダーゼを標識したレクチンを用いて直接法で行った。すなわち、塗抹標本を 0.1% のウシ血清アルブミン (BSA, Sigma Chemical Co., MO, USA) を含むリン酸緩衝塩類溶液 (PBS,

pH7.4) (Dulbecco と Vogt, 1954) (BSA-PBS) に室温で 30 分間浸漬した後、塗抹標本を PBS で洗浄し、BSA-PBS 1 ml 中に 100 μ g のレクチンを含む液に室温で 30 分間浸漬した。本研究で使用したレクチンの種類は、GS-I、UEA-I、BPA、DBA、GS-II、WGA、Con A、SBA および PNA である。なお、レクチンはいずれも E-Y ラボラトリーズ (USA) から購入したものである。レクチンを含む液に浸漬した塗抹標本は、PBS で洗浄し、0.02% のジアミノベンチジン (DAB, 半井化学) を含む PBS (DAB-PBS) に室温で 10 分間浸漬した後、さらに、5% H₂O₂ を 100 μ l 含む 100ml の DAB-PBS に室温で 10 分間浸漬した。一方対照として、レクチンを含む BSA-PBS のかわりに BSA-PBS のみで処理した塗抹標本を用いた。

統計処理

受精に関する数値の統計処理には χ^2 検定法を用いた。

結果

受精成績

精巣上体尾部より採取して 1、6 および 12 時間培養した精子を用いた体外受精の成績は表 1 に示した通りである。すなわち、培養後 1 時間の精子を用いて媒精すると、92.6% (52/56) の卵子が受精しており、未受精卵子はわずかに 7.4% みられるのみであった。また、受精卵子の 86.5% は単精子受精卵子 (図 1a)、13.5% は多精子受精卵子であった。6 時間培養した精子で媒精すると、受精率は、培養後 1 時間の精子を用いた受精成績に比べて有意に低下し、29.3% (12/41) になった。また、受精卵子の 91.7% が単精子受精卵子で、多精子受精卵子は 8.3% みられるのみであった。12 時間培養した精子で媒精すると、受精した卵子はみられず、媒精した 44 個の卵子すべてが未受精卵子 (図 1b) であった。

マウス精子表面のレクチン結合の変化

精巣上体の各部位および精巣上体尾部より採取して各種時間培養した精子の塗抹標本を、パーオキシダーゼを標識した GS-I、UEA-I、BPA、GS-II、DBA、WGA、Con A、SBA お

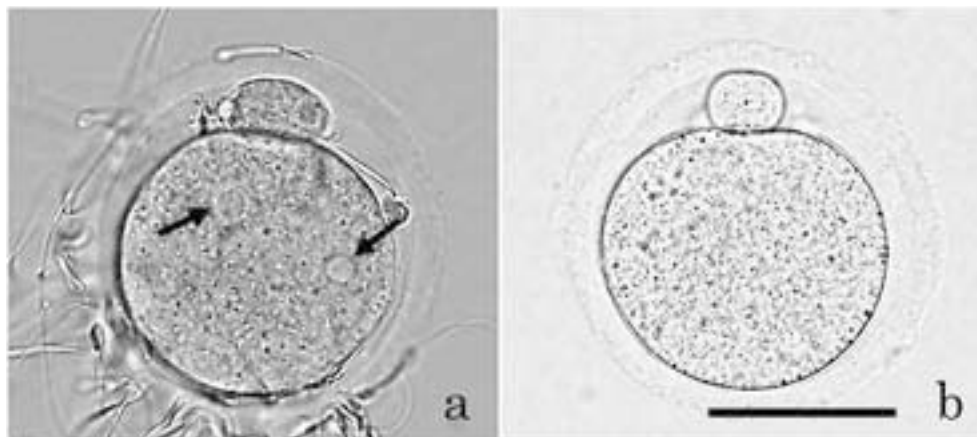


Fig. 1 Fertilized (a) and unfertilized (b) mouse eggs inseminated with sperm cultured for 1 or 12 hours, respectively. Scale bar indicates 50 μ m.

- A monospermic egg with two pronuclei in the cytoplasm.
- No pronuclei are seen in the cytoplasm.

よび PNA で処置して DAB-PBS に浸漬すると、これらのレクチンの結合を示すベンチジンの褐色の反応産物が精子表面に認められた (図 2a-c, 図 3a-c)。また、この反応産物は、レクチンを含まない BSA-PBS で処置した精子表面にはまったくみられなかった (図 2d, 図 3d)。

精巣上体頭部から採取した精子 (図 2a) において、DBA の結合はみられなかったが、先体帽表面には GS-I、UEA-I および BPA の結合が、先体帽と赤道部の表面には GS-II、WGA、Con A、SBA および PNA の結合がそれぞれみられた。精巣上体の尾部に移動する過程で、先体帽の表面には DBA の結合が、赤道部の表面には GS-I と UEA-I の結合が、先体後領域の表面には DBA、SBA と PNA の結合がそれぞれ出現するようになった (図 2b, c)。また、SBA の結合は、赤道部表面からは消失した。

一方、精巣上体尾部より採取して 0.5 ないし 1 時間培養した精子 (図 3a, b) では、先体帽表面から DBA の結合が、赤道

部表面から GS-I、UEA-I および Con A の結合が、先体後領域の表面から PNA の結合がそれぞれ消失したが、先体後領域の表面に Con A の結合が出現した。培養後 6 時間の精子では、赤道部の表面から GS-II の結合が、先体後領域表面から Con A の結合がそれぞれ消失したが、赤道部の表面に Con A の結合が出現した。培養後 12 時間の精子では、いずれの部位にも UEA-I、BPA および DBA の結合はみられなくなるとともに、赤道部の表面から WGA の結合も消失した。

考 察

既述のように、マウス精子の受精能保有時間は、射精後 6 時間であるといわれている (Marcus と Arthur, 1960; Bishop, 1969; Blandau, 1969)。しかし、これらの報告はすべて雌性生殖道内で受精能保有時間を調べたもので、*in vitro* における受精能保有時間については調べられていない。

本研究において、精巣上体尾部より採取したマウス精子を

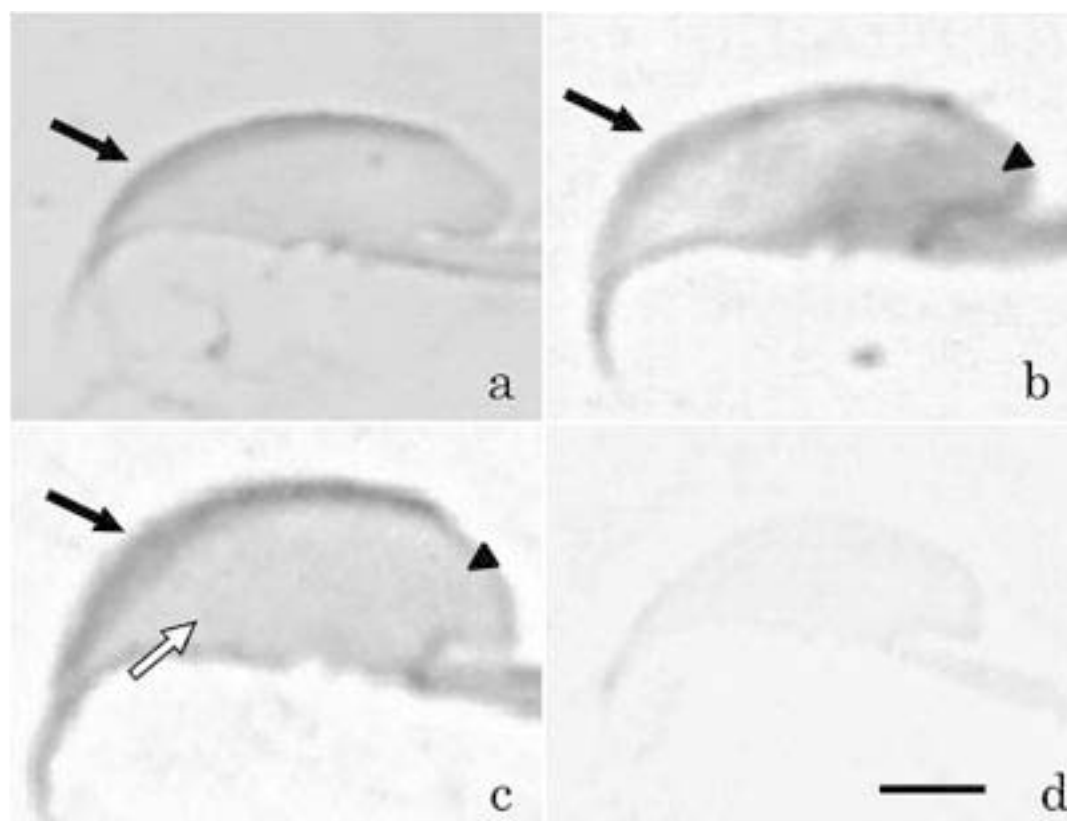


Fig. 2 Lectin-bindings on the surface of epididymal mouse sperm. Scale bar indicates 2 μ m.

- Sperm collected from caput epididymis and treated with BPA. Brown products showing the lectin-bindings are seen on the surface of acrosomal cap (black arrow).
- Sperm collected from corpus epididymis and treated with SBA. Brown products showing the lectin-bindings are seen on the surface of acrosomal cap (black arrow) and post acrosomal region (arrow head).
- Sperm collected from cauda epididymis and treated with PNA. Brown products showing the lectin-bindings are seen on the surface of acrosomal cap (black arrow), equatorial segment (white arrow) and post acrosomal region (arrow head).
- Control sperm collected from cauda epididymis and treated with BSA-PBS. No brown products showing the lectin-bindings are seen on the surface of sperm head.

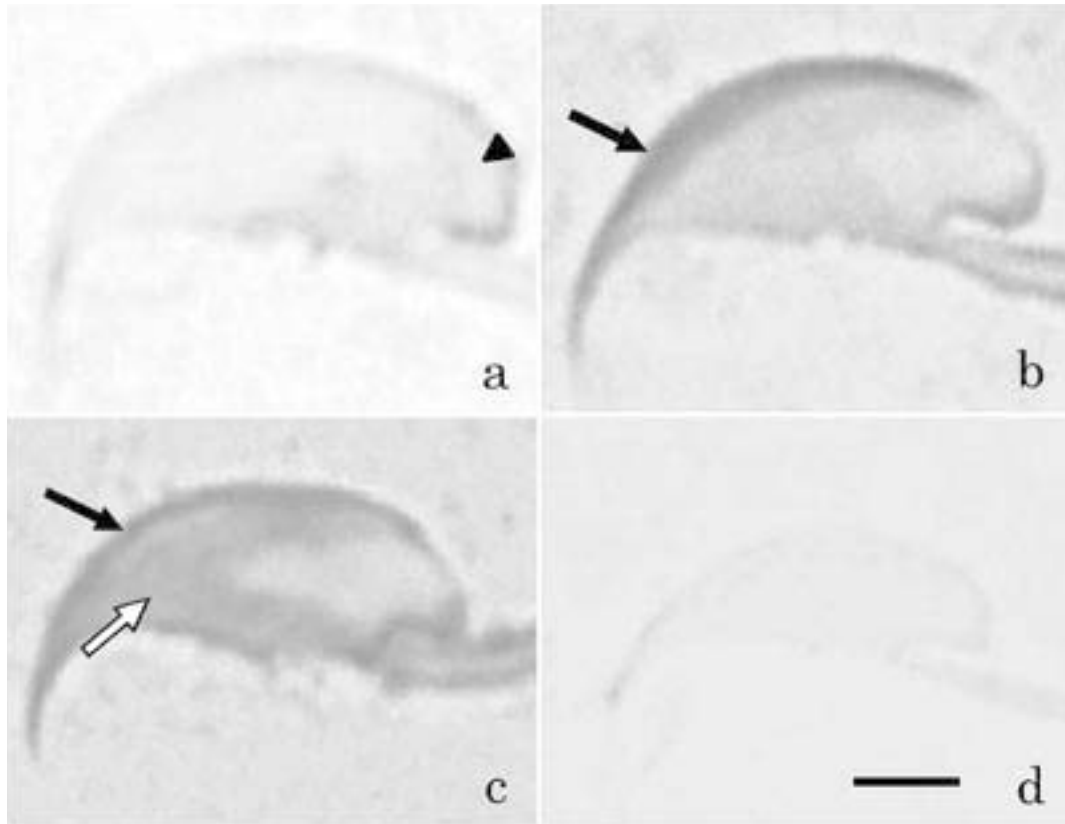


Fig. 3 Lectin-bindings on the surface of mouse sperm cultured for various hours. Scale bar indicates 2 μ m.

- a. Sperm cultured for 1 hour and treated with DBA. Brown products showing the lectin-bindings are seen on the surface of post acrosomal region (arrow head).
- b. Sperm cultured for 1 hour and treated with GS- I. Brown products showing the lectin-bindings are seen on the surface of acrosomal cap (black arrow).
- c. Sperm cultured for 6 hours and treated with Con A. Brown products showing the lectin-bindings are seen on the surface of acrosomal cap (black arrow) and equatorial segment (white arrow).
- d. Control sperm cultured for 12 hours and treated with BSA-PBS. No brown products showing the lectin-bindings are seen on the surface of sperm head.

TYH 液中で各種時間培養した後、排卵後 2 時間の未受精卵子に媒精し、in vitro での受精能保有時間を調べた。その結果、受精率は、培養後 1 時間の精子を用いた場合には 92.6%であったが、その後有意に低下し、培養後 6 および 12 時間の精子を用いた場合にはそれぞれ 29.3 および 0 % となった。本研究の結果は、これまでの射出精子を用いた研究結果 (Marcus と Arthur, 1960; Bishop, 1969; Blandau, 1969) と一致しており、マウス精子の受精能保有時間は、in vivo と in vitro で相違ないことが確かめられた。

一方、精巣上体の移動および受精能獲得に伴うマウス精子表面の複合糖質の変化が多く研究者によってレクチンを用いて観察されている (Lee ら, 1987; Liu ら, 1991; Baker ら, 2004)。しかしこれまでに、受精能の消失に伴う精子表面の複合糖質の変化については調べられていないとともに、精巣上体の移動ならびに受精能の獲得と消失に伴う精子表面の複合糖質の変化を同一研究者が調べた報告もみられない。

本研究において、精巣上体の各部位から採取した精子および

精巣上体尾部から採取して各種時間培養した精子について、パーオキシダーゼで標識した各種レクチンを用いて表面のレクチン結合を観察した。その結果、精巣上体頭部より採取した精子頭部の先体帽表面にはマンノース、N-アセチルグルコサミンおよびフコースを含む複合糖質が、赤道部表面にはマンノースおよび N-アセチルグルコサミンを含む複合糖質が存在しており、精巣上体の頭部から尾部への移動に伴って、精子の先体帽表面には N-アセチルガラクトサミンを含む複合糖質が、赤道部表面にはフコースを含む複合糖質がそれぞれ新たに出現することが示唆された。

精子は、精巣内で形態的に完成後、精巣輸出管を経て精巣上体へ移動し、精巣上体の頭部、体部および尾部を移動する過程で潜在的な受精能を獲得するといわれている。また、精巣上体を移動する過程で、精巣上体液に含まれる受精能獲得抑制因子が精子表面に付着するといわれている (Bedford と Chang, 1962)。Kawakami ら (2002) は、イヌ精子では N-アセチルガラクトサミンおよびガラクトースを含む複合糖質と結合したタ

Table 1. The fertilization rate of mouse eggs with mouse sperm cultured for various hours

Hours after culture	No. of eggs inseminated	No. (%) of eggs fertilized			No. (%) of eggs unfertilized
		Total	Monospermy	Polyspermy	
1	56	52 (92.6) ^a	45 (86.5) ^a	7 (13.5) ^a	4 (7.4) ^c
6	41	12 (29.3) ^b	11 (91.7) ^a	1 (18.3) ^a	29 (70.7) ^b
12	44	0 (0.0) ^c	0 (0.0) ^b	0 (0.0) ^b	44 (100.0) ^a

Eggs used for insemination are collected from oviducts 2 hrs after ovulation.

Valuse with different superscripts in the same column are significantly different ($p < 0.05$).

ンパク質が受精能獲得抑制因子である可能性を示唆している。マウスにおいても、受精能獲得抑制因子がフコースを含む複合糖質を介して精子表面に結合することが示唆されている (Fraser, 1998)。マウス精子を用いた本研究において、フコースに親和性がある UEA-I の結合は、精巣上体の移動に伴って赤道部表面に出現することが確かめられた。これらのことから、精巣上体を移動する過程で、精巣上体液中に存在する受精能獲得抑制因子がフコースを含む複合糖質を介してマウス精子表面に結合し、これが精子の精巣上体内での受精能獲得を抑制していることが考えられた。なお、フコースを含む複合糖質は、射精後精子表面から消失することによって受精能獲得抑制因子も脱落し、精子は受精能を獲得できるようになることが推察された。

一方、受精能の獲得に伴い、精子の先体帽表面からは N-アセチルガラクトサミンを含む複合糖質が、赤道部表面からはマンノースとフコースを含む複合糖質がそれぞれ消失するとともに、先体後領域の表面にはマンノースを含む複合糖質が出現することが示唆された。受精能の獲得に伴い、精子の原形質膜からコレステロールが流失することが報告されている (Visconti ら, 1995)。通常、単糖はタンパク質あるいは脂質と結合した複合糖質の形で細胞表面に存在していると考えられるので、受精能の獲得に伴って精子表面からマンノースとフコースを含む複合糖質が消失することは、コレステロールの流失に伴って生じたものと考えられた。従って、マンノースおよびフコースを含む複合糖質の有無は、マウス精子の受精能獲得の指標になることが考えられた。

受精能の消失に伴い、精子の先体帽表面からは N-アセチルグルコサミンおよびフコースを含む複合糖質が、赤道部表面からは N-アセチルグルコサミンを含む複合糖質が、先体後領域表面からはマンノースを含む複合糖質がそれぞれ消失することが示唆された。従って、受精能の消失に伴い、精子表面から N-アセチルグルコサミンおよびフコースと結合した何らかのタンパク質あるいは脂質が失われたことも推察される。一方、精子には脂質ラフトと呼ばれる膜マイクロドメインが存在しており (Travis ら, 2001; Trevino ら, 2001)、この脂質ラフトにはカルシウムチャネルや G タンパク質といった細胞のシグナル伝達に欠かすことのできない物質が集合しているといわれている (Trevino ら, 2001)。本研究の結果のみでは受精能の消失に伴って精子表面から消失した複合糖質と結合した物質を特定することはできないが、脂質ラフトのような細胞の機能維持に不可欠な物質が流失することによって、精子が機能を失い、受精能を消失したことも考えられた。

引用文献

- Baker, S. S., M. Thomas and C. D. Halper. 2004. Sperm membrane dynamics assessed by changes in lectin fluorescence before and after capacitation. *J. Androl.*, **25**: 715-744.
- Bedford, J. M. and M. C. Chang. 1962. Removal of decapacitation factor from seminal plasma by high-speed centrifugation. *Amer. J. Physiol.*, **202**: 179-181.
- Bishop, D. W. 1969. Sperm physiology in relation to the oviduct. pp. 231-250. In: Hafez, E. S. E. and R. J. Blandau (eds.). *The Mammalian Oviduct*. The Univ. Chicago Press, Chicago and London.
- Blandau, R. J. 1969. Gamete transport: comparative aspects. pp. 129-162. In: Hafez, E. S. E. and R. J. Blandau (eds.). *The Mammalian Oviduct*. The Univ. of Chicago Press, Chicago and London.
- Dulbecco, R. and M. Vogt. 1954. Plaque formation and isolation of pure lines with poliomyelitis viruses. *J. Exp. Med.*, **99**: 167-174.
- Fraser, L. R. 1998. Interactions between a decapacitation factor and mouse spermatozoa appear to involve fucose residues and a GPI-anchored receptor. *Mol. Reprod. Dev.*, **51**: 193-202.
- Gates, A. H. 1971. Maximizing yield and developmental uniformity of eggs. pp. 64-85. In: Daniel, J. C. Jr. (ed.). *Methods in Mammalian Embryology*. Freeman, San Francisco.
- Kawakami, E., Y. Morita, T. Hori and T. Tsutsui. 2002. Lectin binding characteristics and capacitation of canine epididymal spermatozoa. *J. Vet. Med. Sci.*, **64**: 543-549.
- Lee, S. H. and K. Ahuja. 1987. An investigation using lectins of glycocomponents of mouse spermatozoa during capacitation and sperm-zona binding. *J. Reprod. Fert.*, **80**: 65-74.
- Liu, H. W., J. J. Wang, C. F. Chao and C. Muller. 1991. Identification of two maturation-related, wheat-germ-lectin-binding protein on the surface of mouse sperm. *Acta Anat.*, **142**: 165-170.
- Marcus, W. H. B. and W. Arthur. 1960. Spermatogenesis and the structure of mammalian spermatozoa. pp. 1-101. In: Parkes, A. S. (ed.). *Marshall's Physiology of Reproduction*. 3rd ed. Vol. 1. Longmans, Green and Co. Ltd., London and Colchester.
- 豊田 裕・横山峯介・星冬四郎. 1971. マウス卵子の体外受精

- に関する研究. II. 精巢上体精子による受精成績. 家畜繁殖誌, **16**: 147-151.
- Travis, A. J., T. Merdushev, L. A. Vagas, B. H. Jones, M. A. Purdon, R. W. Nipper, J. Galatioto, S. B. Moss, G. R. Hunnicutt and G. S. Kopf. 2001. Expression and localization of caveolin-1, and the presence of membrane rafts, in mouse and guinea pig spermatozoa. *Dev. Biol.*, **240**: 599-610.
- Trevino, C. L., C. J. Serrano, C. Beltran, R. Felix and A. Darszon. 2001. Identification of mouse trp homologs and lipid rafts from spermatogenic cells and sperm. *FEBS Lett.*, **509**: 119-125.
- Visconti, P. E., J. L. Bailey, G. D. Moore, D. Pan, P. Olds-Clarke and G. S. Kopf. 1995. Capacitation of mouse spermatozoa. I . Correlation between the capacitation state and protein tyrosine phosphorylation. *Development*, **121**: 1129-1137.

Histochemical Observations of Lectin-Bindings on the Cell-Surface of Mouse Sperm

Shinji OWA¹ and Sueo NIIMURA^{2*}

(Received March 1, 2010)

Summary

Using mouse sperm cultured for various hours, fertilizability of those was examined in vitro. Lectin-bindings on the surface of head were also histochemically observed in mouse sperm collected from caput, corpus and cauda epididymides and in those cultured for various hours, in order to examine the changes in glycoconjugates on the surface of mouse sperm heads during the movement of epididymis and the course of acquirement and loss of fertilizability.

When fertilizable mouse eggs were inseminated with mouse sperm cultured for 1, 6 and 12 hours, the rates of fertilization were 92.6, 29.3 and 0%, respectively. The results suggest that fertilizability of mouse sperm decreases after 1 hour of culture and disappears at 12 hrs of culture.

In mouse sperm collected from caput epididymis, the bindings of GS- I , UEA- I , BPA, GS- II , WGA, Con A, SBA and PNA, and those of GS- II , WGA, Con A, SBA and PNA were observed on the surface of acrosomal cap and equatorial segment, respectively, but that of DBA was not observed on the surface of any part of head. In the course of movement to cauda epididymis, the binding of DBA, those of GS- I and UEA- I , and those of DBA, SBA and PNA appeared on the surface of acrosomal cap, equatorial segment and post acrosomal region of sperm head, respectively, though that of SBA disappeared from the surface of equatorial segment.

On the other hand, the binding of DBA, those of GS- I , UEA- I and Con A, and that of PNA disappeared from the surface of acrosomal cap, equatorial segment and post acrosomal region of sperm cultured for 0.5 and 1 hours, respectively. As for Con A binding, it appeared on the surface of post acrosomal region of sperm cultured for 0.5 and 1 hours. Furthermore, the bindings of UEA- I and BPA, those of GS- II and WGA, and that of Con A disappeared from the surface of acrosomal cap, equatorial segment and post acrosomal region of sperm cultured for 6 and 12 hours, respectively, though that of Con A appeared on the surface of equatorial segment.

Bull.Facul.Agric.Niigata Univ., 63(1):1-7, 2010

Key words : mouse sperm, fertilizability, lectin-binding, glycoconjugate on the cell-surface

¹ Graduate School of Science and Technology, Niigata University

² Faculty of Agriculture, Niigata University

* Corresponding author: niimura@agr.niigata-u.ac.jp