

(学位第9号様式)

No. 1

<b>最終試験結果の要旨</b>	
学位申請者 氏名	江頭 潤将
審査委員	主査 佐賀大学 教授 和田康彦
	副査 佐賀大学 准教授 山中賢一
	副査 琉球大学 教授 建本秀樹
	副査 鹿児島大学 教授 三好和睦
	副査 琉球大学 准教授 金野俊洋
審査協力者	印
実施年月日	平成31年1月28日
試験方法 (該当のものを○で囲むこと。) <span style="float: right;">(口答)・筆答</span>	
<p>主査及び副査は、平成31年1月28日の公開審査会において学位申請者に対して、学位申請論文の内容について説明を求め、関連事項について試問を行った。具体的には別紙のような質疑応答がなされ、いずれも満足できる回答を得ることができた。</p> <p>以上の結果から、審査委員会は申請者 江頭 潤将 が博士（農学）の学位を受けるに必要な十分の学力ならびに識見を有すると認めた。</p>	

学位申請者 氏 名	江頭 潤将
<p>【質問1】 暑熱期では冷涼期と比べて、多くの卵丘細胞でアポトーシスが観察されたということだが、暑熱期では冷涼期と比較して閉鎖卵胞から採取されるCOCsの割合が多いため、このような結果になったのではないか？</p> <p>【回答1】 冷涼期においても閉鎖卵胞から採取されたCOCsがあったと考えられるが、冷涼期のCOCsではアポトーシスが全く観察されなかったものが多く、観察されたとしてもアポトーシス陽性細胞の数は各COCsで数個であった。一方、暑熱期では、ほとんどのCOCsにおいて50個以上のアポトーシス陽性細胞が観察されたことから、やはりこれらのアポトーシスを誘導しているのは暑熱ストレスではないかと考えている。しかしながら、暑熱期と冷涼期での成熟率の比較を行うなどしてご指摘の点を今後明確にしたい。</p> <p>【質問2】 どの種雄牛由来の精子を使用するかによって第1卵割の時間が異なるということだが、その理由は種雄牛によって精子の受精能獲得時間が異なるためか？</p> <p>【回答2】 受精能獲得時間が種雄牛によって異なるということも理由の一つであるが、凍結までにかかった時間など凍結精液生産時の条件も影響していると考えられる。</p> <p>【質問3】 種雄牛AとBの間では第一卵割の速度に差があるが、生産した胚の移植後の受胎率に差があるのか？</p> <p>【回答3】 種雄牛ごとに受胎率をみると例数が少なくなるため、はっきりとしたことは言えないが、今回の結果からいうと種雄牛間で受胎率の差はみられなかった。一般的に人工授精の受胎率については種雄牛間で違いがあることが知られているが、体外受精後の胚にも同様の現象が見られるかについてはあまりわかっていない。今後、例数を増やすとともに種雄牛ごとの胚の卵割速度と受胎率との関係を明らかにするとともに、種雄牛間での卵割速度の違いが受胎率に影響を及ぼすのかについて検討したい。</p> <p>【質問4】 今回、体内成熟卵母細胞を採取するためにOPU前に過剰排卵処理を行っているが、この方法では従来の未処理で行うOPUと比較して年間のOPU実施回数が著しく減るのではないか？</p> <p>【回答4】 従来の方法では、週2回の実施が可能だが、今回の方法では月1回の実施に限られるため、年間の実施可能回数はかなり減る。</p>	

【質問5】 OPUの実施回数が減るということは1頭の雌から生産できる子牛の数を考えると、未処理で未成熟卵母細胞を採取して体外成熟を行う従来のOPU方法の方が良いのではないか？

【回答5】 今回の方法では、OPU実施回数が従来法と比較して減るため、1頭の雌から採取できる卵母細胞の総数は少なくなり、結果的に生産できる胚の最大数も減ることになる。一方、実際の生産現場レベルで考えると、OPUにかかる経費等の問題から、同一の雌において日常的にOPUを繰り返して行うことはない。したがって、1回のOPUでいかに高品質な胚を効率的に生産するかが重要であると考えている。そのため、今回の方法は1頭の雌から生産できる胚の最大数が減るといふ欠点を持っている一方で、OPU1回あたりで考えると高い受胎率が望める正常卵割由来の移植胚を効率的に生産できるという利点を持っており、現時点での生産現場で実施されているOPUの状況を念頭においた場合、有効な方法であると考えている。

【質問6】 暑熱期と冷涼期で採取した卵母細胞の受精後の受精率や発生率に違いはみられるのか？

【回答6】 今回の研究では、受精率や発生率に関して季節間で比較を行っていないが、過去の報告で暑熱期に採取された卵母細胞でこれらの率が低下することが報告されている。そのため、今回の研究ではそれらの発生パラメーターではなく、卵母細胞自体の品質を調べることを目的としてミトコンドリアの分布や卵丘細胞におけるアポトーシスの解析を行った。

【質問7】 今回、細胞質成熟の指標として表層顆粒の分布を調べているが、グルタチオンの量を調べた方が良いのではないか？

【回答7】 OPUでは1回に採取できる卵母細胞の数が限られるため、本研究では、グルタチオンではなく個々の卵母細胞で観察が可能な表層顆粒を細胞質成熟の指標として選択した。

【質問8】 卵丘細胞のアポトーシスと卵母細胞のミトコンドリア分布との間に相関は見られるか？

【回答8】 今回用いた検出方法では、アポトーシスとミトコンドリア分布を同時に検出できないためその点に関しては不明だが、今後検出方法を工夫するなどしてこの点を検討したい。

【質問9】 ホルモンに対する反応性や健康状態など供卵牛における個体差というのはあったか？

【回答9】 今回使用した供卵牛の数は決して多くはないため、試験区間で同一個体を反復して使用したり、飼養条件を揃えるために同じ牛群で飼育したりすることでできるだけ個体差を少なくするための工夫を行った。