

最終試験結果の要旨	
学位申請者 氏名	KHIN MAR LAY
審査委員	主査 琉球大学 教授 建本 秀樹
	副査 琉球大学 教授 川本 康博
	副査 鹿児島大学 准教授 三好 和睦
	副査 琉球大学 教授 及川 卓郎
	副査 佐賀大学 准教授 山中 賢一
審査協力者	印
実施年月日	平成 24 年 1 月 18 日
試験方法 (該当のものを○で囲むこと。)	
口答 <input checked="" type="radio"/> 筆答 <input type="radio"/>	
<p>主査および副査は、平成24年1月18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	KHIN MAR LAY
[質問1]	「精子侵入率」と「多精子侵入率」の違いを説明して下さい。
[回答1]	「精子侵入率」とは精子侵入を認める卵の割合を示し、「多精子侵入率」は精子侵入を認める卵において2匹以上の精子が侵入した卵，すなわち異常受精卵の割合を示しています。
[質問2]	この研究では，精子には琉球在来豚アグー精子を使用し，卵には一般経済豚の卵を使用していますが，他の品種豚の精子を使用しても同様の結果は得られますか？
[回答2]	はい，本研究には琉球在来豚アグーの凍結精子を使用していますが，体外受精時の卵透明帯との相互作用に対して精子のブタ品種間による差異は無いと考えています。
[質問3]	本研究で明らかにされた体外成熟に伴った卵透明帯構成糖タンパク質の糖鎖末端の変化は，体内成熟卵においても起こっているのでしょうか？
[回答3]	今回の研究では体内成熟卵は取り扱っていませんが，私自身，その点に関して興味があり，今後，追究してみたいと思っています。
[質問4]	体外成熟培養時にNaClO ₃ 処理で透明帯構成糖タンパク質の硫酸化を阻害した卵による体外受精後の胚発生は検討されましたか？
[回答4]	体外成熟時に透明帯構成糖タンパク質の硫酸化を阻害した卵では単精子受精(正常受精)率が有意に増加したことから，体外での正常胚の作出に繋がるものと考えています。したがって，体外受精後の胚発生に関しても，是非，検討すべき課題と思っています。
[質問5]	透明帯構成糖タンパク質の硫酸化阻害条件下で成熟培養した卵においても未だ40%近い多精子侵入率を認めますが，この多精子侵入率をさらに低下させる技術や処理等を考えていますか？
[回答5]	本研究により卵透明帯構成糖タンパク質の硫酸化が精子の先体反応誘起に深く関与していると云った事実が明らかとなりました。そこで，精子先体反応の制御に関わる硫酸化糖鎖などの物質を体外受精培地へ加えることで，精子侵入率を低下させることなく多精子侵入を抑制する培養系を確立出来るのではないかと推測しています。

[質問6] 本研究では卵成熟に伴う透明帯構成糖タンパク質の変化を明らかにされましたが、今後、精子との融合に関わる卵細胞膜の変化も検討されると、さらに受精現象に関する生理学的解明が進むと思います。

[回答6] ありがとうございます。私も先生の仰るとおりと思います。

[質問7] 培地に添加したtunicamycinやNaClO₃の濃度は、どの様な基準で決定したのですか？

[回答7] まず、様々な濃度添加区による予備試験を行い、卵成熟に悪影響を及ぼさず、なおかつ、N-グリコシル化や硫酸化を確実に阻害する濃度を至適濃度として決定しました。

[質問8] 成熟培地や受精培地のpHを変化させることで人為的に透明帯の酸性化を起こさせることは可能ですか？

[回答8] 卵や精子を培養する際にはpH 7.4~7.6と云った至適pHがあり、強い酸性やアルカリの状態では卵や精子は直ちに死滅してしまいます。したがって、人為的に酸性にした培地で卵を培養することは出来ません。

[質問9] N-グリコシル化を阻害するtunicamycinに、細胞毒性を示すような悪影響はありますか？

[回答9] 私の研究結果では、tunicamycin処理によるN-グリコシル化阻害以外の影響は観察されておらず、至適濃度のtunicamycin処理による細胞毒性は認められませんでした。

[質問10] 卵丘細胞卵子複合体に比べて裸化卵の方が成熟培養44時間の時点において精子侵入率が著しく低く、さらには、裸化卵の方が雄性前核形成率が低い原因として何が考えられますか？

[回答10] 裸化卵では卵丘細胞卵子複合体に比べて透明帯が酸化されやすく、その結果として培養時間の経過に連れて透明帯が次第に硬化します。それが成熟培養44時間後の精子侵入率の低下を引き起こしていると考えます。また、これまでの多くの研究報告が指摘されているように、卵丘細胞を有さない裸化卵では核の成熟に伴った細胞質の成熟が不十分なため、雄性前核形成率が減少すると推察されます。