

学 位 論 文 要 旨	
氏 名	北地 秀基
題 目	ブタ体外成熟卵子の効率的な体外受精系の確立に関する研究 (Studies on Establishment of Effective <i>In Vitro</i> Fertilization System of <i>In Vitro</i> -Matured Pig Oocytes)
<p>卵巣の卵胞から取り出されたブタ未成熟卵子は、体外において減数分裂を再開して第2減数分裂中期に到達し得る。また、そのようにして得られた成熟卵子は、体外において新鮮精子および凍結融解精子の侵入を受けることが可能である。しかしながら従来では、多精子受精が頻発するため正常な受精である単一精子受精卵を得ることは極めて難しく、このことが体外成熟、体外受精および体外培養技術を用いたブタ未成熟卵子からの胚盤胞作出を妨げる最も大きな障害の一つとなっている。そこで本研究では、ブタ体外成熟卵子の効率的な体外受精系を確立することを目的とした。</p> <p>最初の実験では、多精子受精の頻度を下げるために、1 rpm で回転させている 200 <math>\mu</math>L の PCR チューブ内で体外成熟卵子およびクラウン系ミニブタから採取した新鮮精子を共培養した。一部の卵子はコントロールとして、静置した同チューブ内で媒精した。その結果、精子侵入卵の割合は回転培養処理の有無の影響を受けなかったが、体外受精時にチューブを回転処理すると単一精子受精卵の割合は増加し、多精子受精卵の割合は低下した。以上の結果から、このような媒精法は体外におけるブタ正常受精卵の作出に有用であることが示された。</p> <p>緑茶から抽出されたポリフェノール属は抗酸化作用を持つことが知られており、その添加は哺乳動物の細胞および臓器の保存に有効であると報告されている。そこで次の実験では、緑茶ポリフェノール属がブタ凍結融解精子の正常性維持に及ぼす影響について検討した。射出精液を種々の濃度 (0, 0.01, 0.05, 0.1 および 0.2% [w/v]) の緑茶ポリフェノール属を添加した Mulberry III 液で希釈し、15°C 下で一晩保存した後に凍結した。得られた凍結精子を 40°C 下で急速融解した後、性状の評価を行った。その結果、0.01% の緑茶ポリフェノール属を添加した溶液中で保存した精子は、緑茶ポリフェノール属無添加溶液中で保存した精子と比較して、有意に高い生存性および先体正常性を示した。しかしながら、ミトコンドリア正常性については、これら二つの区間において差はみられなかった。0.01% の緑茶ポリフェノール属を精子保存液に添加することにより、上記の回転培養処理方法を用いて媒精した卵子においては単一精子受精が増加し、多精子受精が抑制された結果、体外培養後の胚盤胞形成率が増加した。以上の結果から、凍結前に 0.01% の緑茶ポリフェノール属を添加した溶液中で保存することにより、凍結融解による損傷からブタ精子を保護し得ることが明らかとなった。また、このような処理は、胚盤胞期まで体外発生し得るブタ正常受精卵の作出に有用であることが示された。</p> <p>本研究の結果、ブタ体外成熟卵子の新しい体外受精系が確立された。この系は、体外におけるブタ胚盤胞作出効率の向上に貢献し得ると考えられる。</p>	