

学位論文審査結果の要旨

学位申請者 氏 名	北地 秀基		
審査委員	主査	鹿児島大学	准教授 三好 和睦
	副査	鹿児島大学	准教授 大久津 昌治
	副査	琉球大学	教授 建本 秀樹
	副査	鹿児島大学	教授 佐藤 正宏
	副査	鹿児島大学	教授 上西 由翁
審査協力者	印		
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>家畜において体外成熟卵子の効率的な体外受精系を確立することは、受精過程の制御機構を解明するような基礎研究に必須であるばかりでなく、食肉センターで屠殺された個体の卵巣等から大量に得られる未成熟卵子を用いて、安価に受精卵子を作出するためにも重要である。ウシにおいては、体外受精を用いた未成熟卵子からの受精卵子の作出が実用化されており、効率的な子畜生産に大きく貢献している。ブタにおいても卵巣の卵胞から取り出された未成熟卵子は、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。しかしながら従来の体外受精系では、多精子受精が頻発するため正常受精卵子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を用いたブタ未成熟卵子からの胚盤胞の作出を妨げる最も大きな障害の一つとなっていた。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ために、精子の保存時および媒精時における種々の処理が精子の性状、卵子の受精状況および受精卵子の発生状況に及ぼす影響について調べた。</p>			

本研究から得られた成果は、以下のように要約される。

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 μ 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、精子侵入卵子の割合は回転培養処理の有無の影響を受けなかったが、多精子受精卵子の割合は体外受精時にチューブを回転処理すると低下した。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子の作出に有用であることが示された。

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、その添加は液状保存された哺乳動物精子の運動性および生存性の向上に有用であることが報告されている。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見られなかった。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法を用いて媒精した卵子においては多精子受精が抑制され、その結果、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になった。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子の作出に有用であることが示された。

以上の結果から、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思われる。

本研究の成果は、ブタ卵子における受精機構の解明やブタ受精卵子を用いた応用研究における材料供給のために有用であるばかりでなく、優良な形質を持つブタの増産にも大いに寄与すると考えられる。よって、審査委員一同、本論文が博士 (農学) の学位論文として十分価値があるものと判定した。