

氏名	李 庚本
授与した学位	博士
専攻分野の名称	学 術
学位授与番号	博甲第3182号
学位授与の日付	平成18年 3月24日
学位授与の要件	自然科学研究科生命分子科学専攻 (学位規則第4条第1項該当)
学位論文の題目	STUDIES ON FERTILIZATION OF MAMMALIAN OOCYTES FOLLOWING INTRACYTOPLASMIC INJECTION OF HEAT-DRIED SPERM HEADS (加熱乾燥精子による哺乳類卵子の顕微受精に関する研究)
論文審査委員	教授 丹羽 皓二 教授 奥田 潔 教授 近藤 康博

学位論文内容の要旨

本研究では、哺乳類精子の加熱乾燥保存の可能性について検討し、以下のような結果を得た。ウシにおいて、凍結融解精子を50、56、90および120℃の乾燥器内でそれぞれ8、6、1.5時間および20分間加熱乾燥後、4℃あるいは25℃で保存した。再水和後、超音波処理により尾部から分離した精子頭部を成熟卵子に注入し、活性化処理後に培養した。25℃で7-10日間保存した試料を用いた場合、卵子の活性化率および桑実期までの発生率は90および120℃と比較して50および56℃で乾燥した精子の注入において有意に高かったが、いずれの乾燥温度においても桑実期および胚盤胞への発生は困難であった。50℃では、16時間と比較して8および10時間の乾燥でこれらの数値は有意に高くなった。また、50℃で8時間乾燥後、25℃よりも4℃で保存することにより注入卵子の活性化率および発生率は有意に高くなった。しかし、4℃での保存期間が3ヶ月以上になると発生率は有意に低下した。つぎに、ラットにおいて、精巢上体尾部精子を50℃で8時間加熱乾燥後、4℃で空気あるいは窒素ガスの存在下で1週間・6ヶ月間保存した。再水和後、ウシにおけると同様に尾部から分離した精子頭部を成熟卵子に注入した。1週間保存した乾燥精子では、注入卵子の活性化率および4-細胞期までの分割率において保存ガスの相違による差は認められなかったが、いずれの保存ガスにおいても桑実期および胚盤胞への発生は困難であった。しかし、注入卵子に活性化処理を加えることにより胚盤胞までの発生が可能になった。3および6ヶ月間保存した乾燥精子では、分割率および胚発生率のいずれにおいても空気よりも窒素ガス保存において有意に高かった。また、窒素ガスで1週間および1ヶ月間保存した乾燥精子に由来する2-細胞期胚の移植により、それぞれ1匹の生存産子が得られた。

論文審査結果の要旨

本研究では、哺乳類精子の加熱乾燥保存の可能性について検討し、以下のような新しい知見を得ている。

ウシにおいて、凍結融解精子を50、56、90および120℃の乾燥器内でそれぞれ8、6、1.5時間および20分間加熱乾燥後、4℃あるいは25℃で保存した。再水和後、超音波処理により尾部から分離した精子頭部を成熟卵子に注入し、活性化処理後に培養した。25℃で7-10日間保存した乾燥精子を用いた場合、卵子の活性化率および桑実期までの発生率は90および120℃と比較して50および56℃で乾燥した精子の注入において有意に高かったが、いずれの乾燥温度においても桑実期および胚盤胞への発生は困難であった。50℃では、16時間と比較して8および10時間の乾燥でこれらの数値は有意に高かった。また、50℃で8時間乾燥後、25℃よりも4℃で保存することにより注入卵子の活性化率および発生率は有意に高くなった。しかし、4℃での保存期間が3ヶ月以上になると発生率は有意に低下した。つぎに、ラットにおいて、精巣上体尾部精子を50℃で8時間加熱乾燥後、4℃で空気あるいは窒素ガスの存在下で1週間-6ヶ月間保存した。再水和後、ウシにおけると同様に尾部から分離した精子頭部を成熟卵子に注入した。1週間保存した乾燥精子では、注入卵子の活性化率および4-細胞期までの分割率において保存ガスの相違による差は認められなかったが、いずれの保存ガスにおいても桑実期および胚盤胞への発生は困難であった。しかし、注入卵子に活性化処理を加えることにより胚盤胞までの発生が可能になった。3および6ヶ月間保存した乾燥精子では、分割率および胚発生率のいずれにおいても空気よりも窒素ガス保存において有意に高かった。また、窒素ガスで1週間および1ヶ月間保存した乾燥精子に由来する2-細胞期胚の移植により、それぞれ1匹の生存産子が得られた。

これらの知見は哺乳類精子の新しい保存方法に関する研究の進展に寄与するのみならず、哺乳類における発生工学的研究への応用などの実用面においても有用なものである。本学位審査委員会は本論文の内容および参考論文を総合的に審査し、本論文が、博士（学術）の学位に値するものと判定した。