

氏名	趙 先 勉
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2512号
学位授与の日付	平成15年 3月25日
学位授与の要件	自然科学研究科生物資源科学専攻 (学位規則第4条第1項該当)
学位論文の題目	STUDIES ON IN VITRO FERTILIZATION OF ZONA-FREE PIG OOCYTES BY HOMOLOGOUS AND HETEROLOGOUS SPERMATOZOA (透明帯除去豚卵子の同種および異種精子による体外受精に関する研究)
論文審査委員	教授 丹羽 皓二 教授 奥田 潔 教授 佐藤 勝紀

学 位 論 文 内 容 の 要 旨

家畜における透明帯除去卵子の異種精子による侵入能についてはほとんど知られていないが、家畜における最近の体外受精技術の進歩により実験的にこの現象を調べることが可能になった。本研究では、透明帯除去豚卵子に対する同種精子および異種（ラットと牛）精子の侵入の可否について検討した。豚未熟卵子を体外で44時間成熟培養した後、透明帯を除去し、凍結融解豚精子、ラット精巣上体尾精子、および凍結融解牛精子を用いて種々の条件下で体外受精し、12時間後に精子侵入の状況を調べた。その結果、カフェイン（2.5 mM）を添加した受精培地（mTBM）においては、豚精子は豚透明帯附着卵子および除去卵子の何れにも同じ効率で侵入したが、カフェイン無添加の場合、何れの卵子にも精子侵入は全く認められなかった。ラット精子はmTBM受精培地では透明帯除去豚卵子にほとんど侵入しなかった（1%）が、他の受精培地（mKRB）を用いると 10^6 個/mlの精子濃度において79%の侵入率が得られた。侵入したラット精子核は膨化したが、雄性前核の形成は認められず、侵入卵子の活性化も全く認められなかった。mTBMを用いて牛精子を種々の濃度で授精した結果、0.1よりも1.0および 10.0×10^6 個/mlの精子濃度で高い侵入率が得られた。侵入卵子の58-79%において雄性前核が形成され、すべての侵入卵子が活性化された。一方、ラット精子による受精において、授精後の培養時間の延長により、雄性前核の形成が可能になるか否か調べた結果、前培養時の精子濃度（ 1×10^6 個/ml あるいは 10×10^6 個/ml）や温度（37℃あるいは39℃）の相違にかかわらず授精後12時間では雄性前核の形成は認められなかったが、18-24時間後には認められた。以上の結果から、豚、牛およびラット精子のいずれにおいても透明帯除去卵へ侵入するために受精能獲得が必要であり、卵子を活性化させる能力と雄性前核形成能において種特異性のあることが示唆された。

論文審査結果の要旨

家畜における透明帯除去卵子の異種精子による侵入能についてはほとんど知られていないが、家畜における最近の体外受精技術の進歩により実験的にこの現象を調べることが可能になった。本研究は、透明帯除去豚卵子に対する同種精子および異種精子の侵入の可否を調べる目的で行われたものであり、次のような新しい知見を得ている。

豚未熟卵子を体外で成熟培養した後透明帯を除去し、凍結豚精子、ラット精巣上体尾精子、および凍結牛精子を用いて種々の条件下で体外受精し、12 時間後に精子侵入の状況を調べた。その結果、カフェインを添加した受精培地 (mTBM) においては、豚精子は豚透明帯附着卵子および除去卵子の何れにも同じ効率で侵入したが、カフェイン無添加の場合何れの卵子にも精子侵入は全く認められなかった。ラット精子は mTBM では透明帯除去豚卵子にほとんど侵入しなかったが、他の受精培地 (mKRB) を用いると 10^6 個/ml の精子濃度において 79% の侵入率が得られた。侵入したラット精子核は膨化したが、雄性前核の形成は認められず、侵入卵子の活性化も全く認められなかった。mTBM を用いて牛精子を種々の濃度で授精した結果、一定の精子濃度で高い侵入率が得られ、侵入卵子の 58-79% において雄性前核が形成され、すべての侵入卵が活性化された。一方、ラット精子による受精において、授精後の培養時間の延長により雄性前核の形成が可能になるか否か調べた結果、前培養時の精子濃度や温度の相違にかかわらず授精後 12 時間では雄性前核の形成は認められなかったが、18-24 時間後には認められた。以上の結果から、豚、牛およびラット精子のいずれにおいても透明帯除去卵へ侵入するために受精能獲得が必要であるが、卵子を活性化させる能力と雄性前核形成能において種特異性のあることが示唆された。

これらの知見は、哺乳動物異種間における卵子と精子との相互作用に関する研究の進展に大いに寄与すると考えられる。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。